

## 엽록체의 전자전달과 광음향 신호에 미치는 Simetryne의 영향

全鉉植, 李蕙珠\*, 鮮于洋一\*, 朴仁虎\*, 李鎮範

(東義大學校 生物學科, 東亞大學校 生物學科\*)

## Effect of Simetryne on Chloroplast-Mediated Electron Transport and Photoacoustic Signal

Chun, Hyun Sik, Hae Joo Lee\*, Yangil Sunwoo\*, In Ho Park\* and Chin Bum Lee

(Department of Biology, College of Natural Sciences, Dongeui University, Pusan and

\*Department of Biology, College of Natural Sciences, Dong-A University, Pusan)

### ABSTRACT

The effects of simetryne on light induced electron transport and phosphorylation in isolated spinach (*Spinacia oleracea* L.) chloroplasts were investigated in comparison with sencor and DCMU. Simetryne, like sencor and DCMU, completely, inhibited PS II electron transport and phosphorylation with  $10^{-6}$  M treatment but did not inhibit PSI electron transport. Interference with the electron transport pathway was evidenced by the greater sensitivity of oxygen evolution and uptake than phosphorylation. The following order of decreasing inhibitory effectiveness was exhibited; DCMU > simetryne > sencor.

The photoacoustic technique was also used to monitor the relative photosynthetic activity in the leaves treated with the herbicides (simetryne, sencor or DCMU) *in vivo* and *in vitro*. Photoacoustic measurements on intact leaves provide quantitative information on two related aspects of the photosynthetic process, namely, photochemical energy storage and oxygen evolution. The relative photoacoustic signal of leaves treated with the herbicides showed low level in 21 Hz, but high level in 380 Hz and on isolated chloroplasts (both 21 Hz and 380 Hz) in comparison with that of the untreated leaves. These results suggest that some of photochemical energy is converted into the heat owing to the inhibition of electron transport pathway by the herbicides.

Abbreviations: **Asco**, ascobate; **DCPIP**, 2,6-dichlorophenolindophenol; **HEPES**, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesul fonic acid; **MV**, methylviologen; **p-PD**, p-phc-nylenediamine; **SiMo**, silicomolybdate; **Tricine**, N-tris(hydroxymethyl) aminomethane.

본 연구는 1987년도 문교부 기초과학 육성연구비 지원에 의한

## 緒 論

농작물의 생산성을 높이기 위해서는 내병성등을 갖춘 새로운 품종을 개발하거나, 재배 과정에서 문제가 되는 여러가지 병충해나 환경 스트레스를 제거하는 방법등이 이용되고 있다. 그러나 새로운 품종의 개발은 많은 시간과 엄청난 투자가 필요하기 때문에 일반적으로 여러가지 biocides를 농작물에 살포함으로써 생산의 증가를 도모한다. Biocide중 대부분의 제초제는 엽록체의 발달을 억제하거나 광합성 기능을 저해하는 것으로 알려져 있다 (Trebst, 1979). 이와 같은 제초제들의 대부분은 광계 II의 환원부위에 존재하는 특수한 단백질에 결합함으로써 그 단백질의 형태적 변화를 초래하게 되고, 그 결과 단백질에 결부되어 있는 plastoquinone분자의 midpoint potential이 변화함으로써 광합성 저해가 일어난다고 보고되고 있다 (Bouges-Bocquet, 1973; Velthuys and Amesz, 1974). 그러나 이와는 달리 Velthuys (1981)는 광계 II 제초제가 plastoquinone antagonist—즉 광계 II의 환원부위에서 plastoquinone과 결합부위를 놓고 경쟁적인 관계에 있다고 주장하였다.

본 연구에서는 시금치의 분리엽록체 및 생엽을 이용하여 triazine계통인 simetryne을 sencor 및 DCMU와 비교하여 전자전달능과 광인산화반응에 미치는 영향을 조사하고, 이와 아울러 이들 제초제의 처리에 따른 photoacoustic signal의 변화를 보고자 하였다.

## 材料 및 方法

**재 료.** 시금치 (*Spinacia oleracea* L.)를 시장에서 구입하여, 성숙하고 싱싱한 잎을 골라 사용하였다.

**엽록체 분리.** Lee 등 (1983)의 방법에 따라 시금치 잎 g당 10 ml의 Tricine-KOH완충용액을 이용하여 원심분리에 의해 분리 엽록체를 획득하고, 이를 50 mM HEPES 완충용액 (pH 7.6)에 적당량 희석시켜 광반응계 활성추정액(엽록체 현탁액)으로 사용하였다.

**광반응계 활성 및 광인산화반응 측정.** 각각의 광반응계 활성은 분리 엽록체 현탁액으로 Lee 등 (1983)의 방법에 의하여 Clark-type electrode로  $O_2$  변화량을 측정하였고, HCl 적정에 의해 엽록체 현탁액으로부터 thylakoid channel로 유입된 proton량을 측정하였다 (Nashimura *et al.*, 1962).

**Photoacoustic signal 측정.** Photoacoustic signal을 얻기 위하여, 광원은 He/Ne-laser (632.9 nm)을 사용하였으며, chopper에 의해 주파수를 변조하였다. 이 변조주파수를 시료에 가함으로써 발생하는 sample cell (EG & G 6003)의 photoacoustic signal을 Lock-in amplifier (EG & 5206)를 이용하여 기록기에 기록하였다 (Buschmann and Prehn, 1985).

**엽록소 함량 측정.** 엽록소 함량은 80% acetone으로 추출하여 Holden (1965)의 방법에 따라 구하였다. 흡광도 측정은 Spectronic-88을 사용하였다.

## 結果 및 考察

표 1은 시금치에서 분리한 엽록체의 coupled electron transport 활성에 대해 각 광계에 따라 simetryne의 농도별 처리에 의한 영향을 본 것이다. 전광계 ( $H_2O \rightarrow MV$ ) 및 제 II 광계 ( $H_2O \rightarrow$

**Table 1.** The coupled electron transport activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	54.2±1.74	129.3±6.92	156.7±7.47	216.6±12.80
Simetryne	10 <sup>-10</sup> M	63.1±3.26	121.0±1.93	206.2±15.31
	10 <sup>-9</sup> M	58.0±5.29	110.1±9.62	195.8±16.40
	10 <sup>-8</sup> M	53.0±1.74	95.0±7.50	191.6±7.79
	10 <sup>-7</sup> M	28.1±4.18	90.5±6.39	189.5±7.79
	10 <sup>-6</sup> M	nil	nil	181.2±8.84

**Table 2.** The coupled electron transport activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	54.2±6.07	114.1±4.45	121.6±2.04	189.5±7.79
Sencor	10 <sup>-10</sup> M	59.0±4.90	103.1±2.49	115.0±4.63
	10 <sup>-9</sup> M	61.5±1.40	95.2±5.42	108.6±10.72
	10 <sup>-8</sup> M	60.6±2.67	90.3±7.42	97.1±2.62
	10 <sup>-7</sup> M	39.7±2.80	74.7±1.11	72.7±5.93
	10 <sup>-6</sup> M	nil	nil	nil

SiMo 및 H<sub>2</sub>O→pPD)는 simetryne의 처리농도가 증가함에 따라 활성의 현저한 저해를 보였으나, 제 I 광계 (Asco+DCPIP→MV)의 경우에는 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 특히 10<sup>-7</sup> M 처리의 경우 전광계와 제 II 광계의 활성은 30~50%의 억제를 보였으며 10<sup>-6</sup> M에서는 완전히 전자전달을 차단하였다. Sencor의 경우도 simetryne과 마찬가지로 coupled electron transport 활성에 대해 전광계와 제 II 광계에 대해서는 심한 저해 현상을 나타냈으나, 제 I 광계에서는 전혀 영향을 주지 못하였다 (Table 2). 또한 uncoupler로써 NH<sub>4</sub>Cl를 처리하여 uncoupled electron transport 활성에 대한 simetryne과 sencor의 농도별 영향을 조사한 결과, coupled electron transport 활성에 비해 높은 활성을 나타냈으나 억제 경향은 유사하게 나타났으며, 두 제초제 공히 10<sup>-6</sup> M에서는 전 광계와 제 II 광계에서는 완전히 전자전달이 차단되었다 (Tables 3 and 4). 이상의 결과는 triazine 계통의 제초제인 simetryne과 sencor에 의한 전자 흐름의 억제부위가 제 II 광계에 있음을 보여 주는 것으로써, 일반적으로 urea, triazine, triazinone, anilide 등의 제초제들이 -N=C= 단을 가지며, 이들은 전자의 흐름을 촉진시키는 Q<sub>B</sub> 단백질의 한 소단위 (32 Kd)에 결합함으로써, 광합성에서의 전자의 흐름을 제 II 광계의 1차 수용체와 플라스토퀴논 사이에서 억제하는 것으로 알려져 있음 (Trebst, 1979; Trebst et al., 1983)에 기인한다고 할수 있다. 한편 이들 제초제들의 전자전달 억제에 대한 I<sub>50</sub>=4.0×10<sup>-7</sup> M

**Table 3.** The uncoupled electron transport activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	91.4±6.81	199.6±8.32	185.8±15.72	212.5±5.10
Simetryne	10 <sup>-10</sup> M	89.6±8.97	205.1±5.27	202.2±2.94
	10 <sup>-9</sup> M	81.9±1.09	177.3±12.33	187.5±5.10
	10 <sup>-8</sup> M	77.5±8.61	179.8±9.20	126.1±12.70
	10 <sup>-7</sup> M	44.1±2.72	86.5±5.67	65.9±12.59
	10 <sup>-6</sup> M	nil	nil	nil

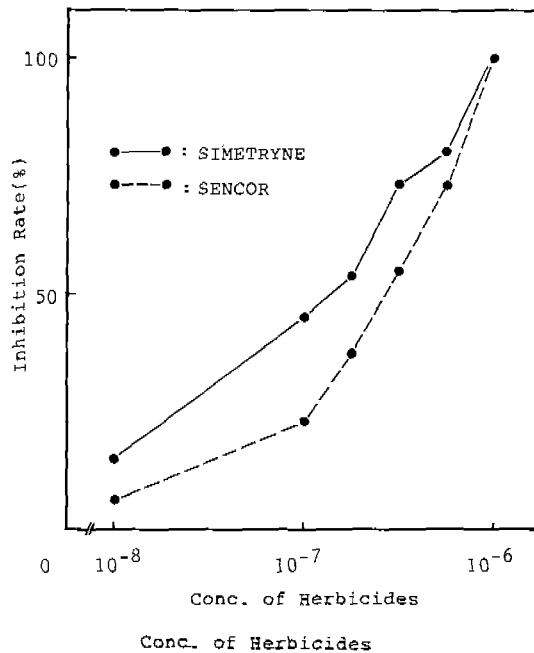
**Table 4.** The uncoupled electron transport activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	82.6±9.35	155.5±16.91	190.6±2.43	270.8±21.24
Sencor	10 <sup>-10</sup> M	85.3±2.80	146.5±3.01	185.8±6.11
	10 <sup>-9</sup> M	80.7±8.31	130.7±5.83	179.7±7.33
	10 <sup>-8</sup> M	76.9±5.73	132.0±9.77	169.4±14.07
	10 <sup>-7</sup> M	46.5±3.56	107.2±8.49	111.1±4.22
	10 <sup>-6</sup> M	nil	nil	nil

인 것으로 나타나 simetryne이 sencor보다 더욱 강력한 억제제임을 보였다 (Fig. 1).

분리 엽록체가 아닌 잎 절편에 24시간 동안 명과 암에서 각 제초제들을 0.1 mM처리한 후, 전자전달 활성능을 비교하여 보면 광하에서의 억제 현상이 암처에서 보다 더욱 심하게 나타났다 (Tables 5 and 6). 또한 광계 I의 경우에도 암처에서는 거의 영향을 받지 않음에 비해 광하에서는 뚜렷한 억제현상을 볼 수 있었다. 이는 24시간 광하에서 잎 절편을 처리할 경우 엽록소의 생성이 대조구에서는 일어나는 반면 처리구에서는 전혀 일어나지 않았으며, 암처의 경우 대조구나 처리구 공히 노화에 따른 엽록소 상실이 비슷하게 나타난 것으로 보아 (자료 미제출), 결국 광하에서 제초제를 처리할 때 엽록소 생성의 억제 및 보조 색소의 파괴에 따른 광에 의한 엽록소의 파괴에 기인하여 전자전달능의 활성이 더욱 심하게 나타난 것으로 사료된다. 한편 이들 세 제초제간의 억제능은 DCMU>simetryne>sencor의 순으로 나타났다.

분리 엽록체에 의한 광인산화반응에 대한 simetryne과 sencor의 농도별 처리에 따른 억제 현상은 그림 2에서 볼 수 있다. 두 제초에 공히 농도가 증가함에 따라 억제 정도가 심하였으며, 전자전달이 완전히 억제되는 10<sup>-6</sup> M (Tables 1 and 2)에서 광인산화반응도 역시 완전히 억제되었다. 그러나 전자전달능의 경우 simetryne이 sencor보다 처리 농도에 따라 강한 억제 현상을 보인 반면, 광인산화반응에서는 거의 비슷한 억제정도를 나타냈다. 한편 coupled electron



**Fig. 1.** Electron transport activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations.

**Table 5.** Electron transport activities of chloroplast isolated from spinach leaf segments incubated in darkness with 0.1 mM treatment of herbicides at 25°C for 24 h

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	38.1±3.50	104.6±7.72	114.8±15.70	154.6±4.97
Simetryne	19.0±1.45	62.2±5.41	52.1±7.82	140.9±4.24
Sencor	26.2±4.39	80.4±8.63	93.5±7.23	139.9±4.49
DCMU	12.9±0.41	68.5±1.59	21.8±2.21	150.7±4.84

**Table 6.** Electron transport activities of chloroplast isolated from spinach leaf segments incubated in light (5,000 lux) with 0.1 mM treatment of herbicides at 25°C for 24 h

Treatment	H <sub>2</sub> O			Axco. + DCPIP
	MV	SiMo + FeCy	p-PD + FeCy	MV
	$\mu$ mole O <sub>2</sub> /mg chl./h			
Control	74.7±9.94	77.9±8.51	126.5±4.18	174.0±4.76
Simetryne	23.6±1.26	34.6±5.02	40.6±3.37	143.0±13.89
Sencor	35.2±4.10	46.2±0.45	70.0±3.63	142.9±13.88
DCMU	13.7±0.35	34.3±1.21	34.8±1.32	128.7±3.50

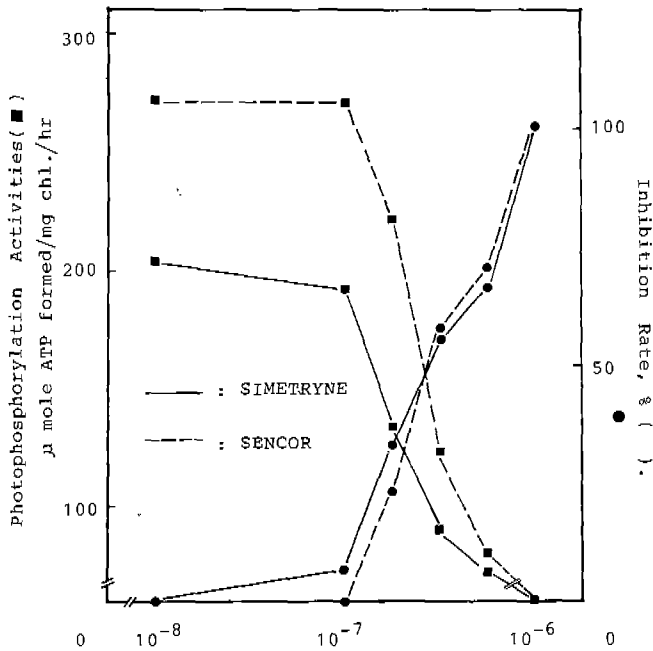


Fig. 2. Photophosphorylation activities of chloroplast isolated from spinach with various concentrations.

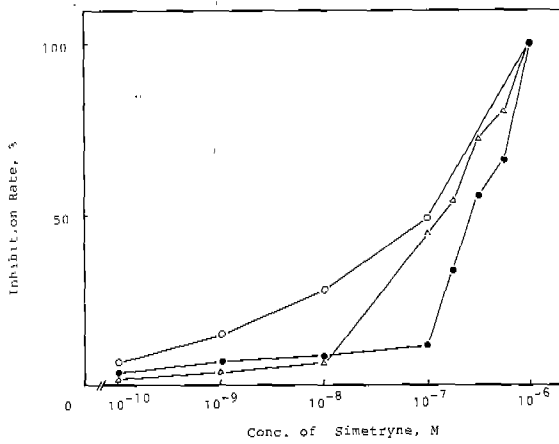
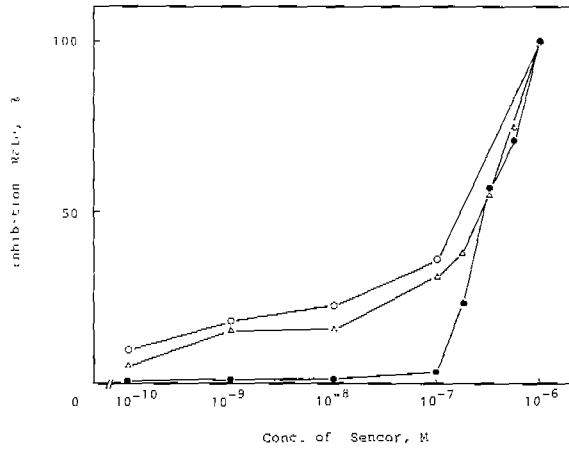
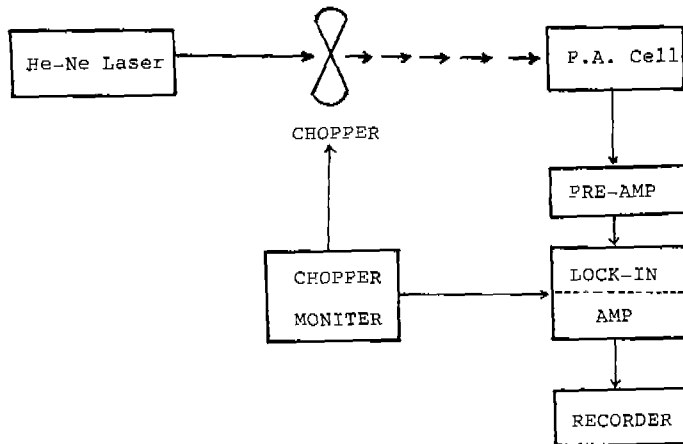


Fig. 3. Dose-response curves obtained with simetryne for inhibition of photoinduced electron transport and photophosphorylation in isolated spinach chloroplast. ○ — ○; coupled electron transport, △ — △; uncoupled electron transport, ● — ●; photophosphorylation.



**Fig. 4.** Dose-response curves obtained with sencor for inhibition of photoinduced electron transport and photophosphorylation in isolated spinach chloroplast. ○—○; coupled electron transport, △—△; uncoupled electron transport, ●—●; photophosphorylation.



**Fig. 5.** Diagram of photoacoustic system (P.A.S).

transport, uncoupled electron transport 및 광인산화반응에 대한 simetryne과 sencor의 억제 정도를 비교하여 볼 때, 두 제초제 모두 다 coupled electron transport에 대한 억제가 가장 심하였으며, 광인산화반응에 대한 억제가 가장 낮았다 (Figs. 3 and 4). 이와같은 결과는 luteolin, quercetin 및 texifolin 등은 atrazine과 틸라코이드 막에 경쟁적으로 결합하며, Q<sub>B</sub><sup>-</sup>단백질 복합체의 활성을 저해함으로써 전자전달능을 억제하나, 전자전달보다는 광인산화반응을 일차적으로 저해하는데 반하여 (Moreland and Novitzky, 1987), simetryne과 sencor는 에너지 전달 억제보다는 전자전달 억제가 주된 영향임을 알 수 있다.

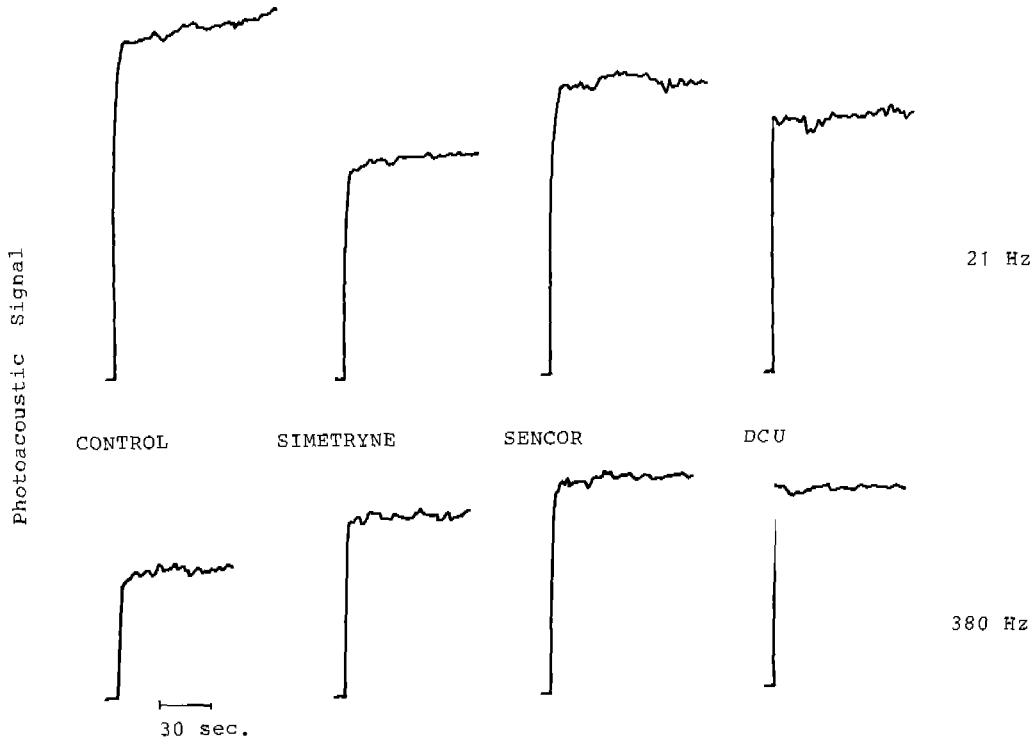


Fig. 6. Photoacoustic signals of spinach leaf segment incubated with 0.5 mM herbicides in darkness at 25°C for 24 h.

그림 5는 광음향 신호를 측정하기 위한 모식도로써, He-Ne laser (632.8 nm)를 chopper를 통해 주파수를 변조함으로써 photoacoustic cell에 도달하는 빛의 주파수를 조절하여 주파수에 따른 표본의 광음향 신호를 검증할 수 있는 장치로써 (Helander *et al.*, 1980; Poulet *et al.*, 1983) 변조된 빛에 조사된 표본에 의해 흡수된 양자들의 열의 상실을 측정할 수 있다. 광합성에서 광합성 색소에 의해 흡수된 광에너지는 3가지 다른 에너지 형태 즉 광화학 반응을 경유하는 화학 에너지, 형광 및 열에너지로 전환된다 (Inoue *et al.*, 1979). 이에 따라 광화학 반응이 일어날 때, 흡수된 에너지의 일부분이 즉시 열로써 방출되고 'photochemical loss'라 불리는 중간화합물로서 저장되어 진다 (Carpentier *et al.*, 1984).

24시간동안 암처에서 simetryne, sencor 및 DCMU를 각각 0.5 mM 처리한 후, 잎 절편의 광음향 신호에 미치는 영향을 조사하였다 (Fig. 6). 21Hz에서는 대조구가 처리구보다 높은 수준의 광음향 신호를 보였으나, 380Hz에서는 오히려 처리구가 대조구보다 높은 수준의 신호를 나타냈다. 이는 *Artemisia* 잎 절편에 DCMU를 처리하였을 때 8.3Hz에서 광음향 신호가 대조구보다 낮은 수준을 나타냄을 보인 Inoue 등 (1979)의 보고와 일치하는 것이며, 저변조주파수에서는 산소방출이 신호에 나타나나 고변조주파수에서는 산소방출이 신호에 기여하지 않는다는 보고 (Canaani and Malkin, 1985)로 미루어 볼 때, 21Hz에서는 제초제에 처리된 잎 절편의 경우 전자전달능의 저해에 의한 산소방출량이 적음으로써 광음향 신호가 대조구에 비해 낮은 수준을 나타낸 것이며, 380Hz에서는 산소방출에 따른 신호는 나타나지 않고 제초제 처리에 의



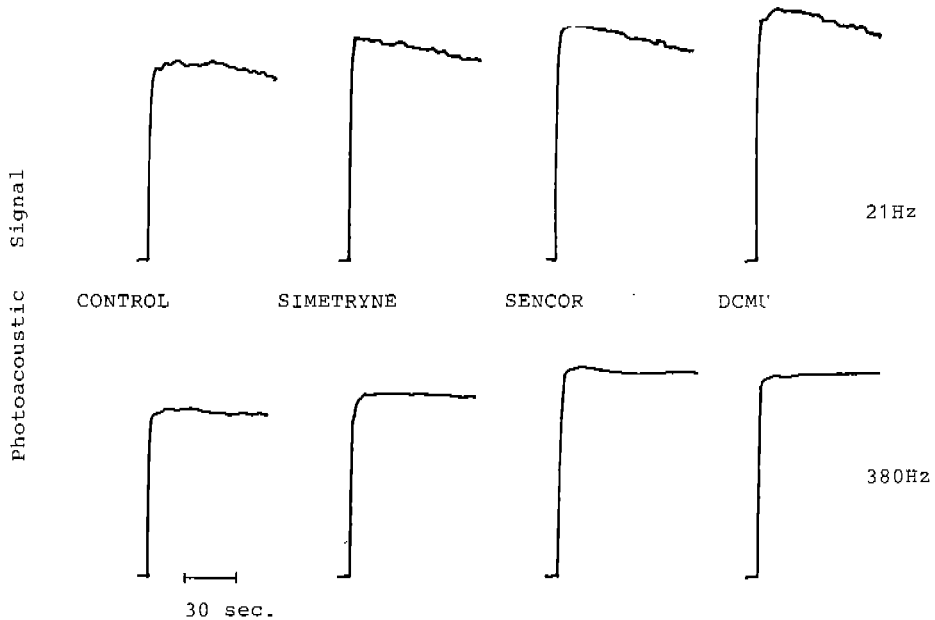


Fig. 7. Photoacoustic signals of isolated chloroplast treated with  $2.5 \times 10^{-7}$  M herbicides.

해 전자전달능이 억제됨으로써 흡수된 에너지중 photochemical loss에 해당되는 에너지의 일부가 형광발생 및 열로써 전환됨에 따라 처리구가 대조구에 비해 높은 수준의 광음향 신호를 보이는 것으로 사료된다. 한편 분리 엽록체 (엽록체 현탁액)에 대한 simetryne, sencor 및 DCMU 처리에 따른 광음향 신호는 그림 7에 나타난 바와 같이, 21Hz와 380Hz 공히 대조구보다 처리구가 높은 광음향 신호를 보였다. 이는 전자공여체로써 물을 이용하였고 전자수용체로써 MV를 사용함으로써, 전자전달이 이루어지는 동안 소비되는 용존산소량의 변화는 광음향 신호에 전혀 기여할 수 없으며, 이들 제초제의 처리는 전자전달을 억제하고, 이에 따라 흡수에너지가 전자전달에 필요한 에너지로 사용되기보다 일부 에너지가 열로써 전환됨에 따라 처리구가 역시 대조구보다 높은 수준의 광음향 신호를 나타내는 것이라 할 수 있으며, 그림 6의 380Hz의 경우와 일치된 결과라 하겠다.

이상의 결과에서 simetryne은 sencor나 DCMU와 마찬가지로 광합성의 제 II 광계의 활성을 억제하며, 광인산화반응을 저해하나, 에너지 전달보다는 전자전달의 억제가 우선적일 것으로 사료되며, 전자전달의 억제에 따른 에너지의 일부가 열로써 전환됨에 의해 광음향신호에 영향을 줄 수 있음을 알 수 있다. 또한 광합성 수행시 발열량에 대한 측정의 예는 아직 극히 적기때문에 광합성계의 광음향 신호를 발열의 지표로써 측정하고, 형광변동이나 광합성 반응속도와의 관계를 조사하는 것은 매우 흥미있는 연구일 것으로 생각되어진다.

사 사

이 연구를 수행함에 있어서 광음향 신호측정 분석기 사용에 도움을 준 동의대학교 자연과학대학 물리학과 김 중환 교수에게 심심한 사의를 표한다.

## 摘 要

시금치의 분리엽록체를 이용하여 전자전달과 광인산화반응에 대한 simetryne의 영향을 sencor 및 DCMU와 비교하여 조사하였다. Simetryne은 sencor나 DCMU와 마찬가지로 광계 II의 전자전달과 광인산화반응을 억제하였으며,  $10^{-6}M$ 에서는 모든 제초제가 완전한 억제를 보였으나, 광계 I의 전자전달 활성화에는 저해 효과가 나타나지 않았다. 이들의 억제 영향은  $DCMU > simetryne > sencor$ 의 순으로 나타났으며, 에너지 전달 (phosphorylation)보다는 전자전달에 우선적인 것으로 사료된다. 한편 *in vivo*와 *in vitro*에서 처리된 제초제들에 의한 상대적인 광합성능에 대해 photoacoustic (광음향) technique을 이용하였다. 제초제를 처리한 잎의 광음향 신호는 21Hz에서는 상대적으로 처리하지 않은 잎에 비해 낮은 수준을 보였으나, 380Hz에서는 높은 수준을 보였으며, 또한 분리엽록체에 제초제들을 처리하였을 경우에는 21Hz와 380Hz 둘 다 높은 수준을 나타냈다. 이와같은 결과는 제초제들에 의해 전자전달이 억제됨으로써, 광화학 에너지의 일부가 열로써 전환되어짐을 의미한다.

## 參 考 文 獻

- Bouges, B.-Bocquet. 1973. *Biochim. Biophys. Acta* **314**: 250-256. Cited in Oettmeier, W. *et al.*, 1983. Evidence for two different herbicide binding proteins at the reducing side of photosystem II. Pestic. Chem. J. Miyamoto and P.C. Kearney. (eds.). Vol. 3, Pergamon Press, New York.
- Buschman, C and H. Prehn. 1985. Simultaneous measurements of the *in vivo* induction kinetics of the photoacoustic signal and of the chlorophyll fluorescence in greening plants. In, 4th International Topical Meeting on Photoacoustic, Thermal and Related Sciences. ThA2.1-ThA2.4.
- Chanani, O. and S. Malkin. 1984. Physiological adaptation to a newly observed low light intensity state in intact leaves, resulting in extreme imbalance in excitation energy distribution between the two photosystems. *Biochim. Biophys. Acta* **766**: 525-532.
- Canaani, O. and S. Malkin. 1985. Detection of oxygen uptake in the regular photosynthetic process of intact leaves and in the presence of electron acceptors studied by photoacoustics. In, 4th International Topical Meeting on Photo-acoustic, Thermal and Related Sciences. ThA3.1-ThA3.4.
- Carpentier, R., B. Larue, and R.M. Leblang. 1984. Photoacoustic spectroscopy of *Anacyctis nidulans*. III. Detection of photosynthetic activities. *Arch. Biochem. Biophys.* **228**(20): 534-543.
- Hclander, P., I. Lundstrom, and D. McQueen. 1980. Light scattering effects in photoacoustic spectroscopy. *J. Appl. Phys.* **51**(7): 3841-3847.
- Holden, M. 1965. Chlorophylls. In, Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Chap. 17. T.W. Goodwin (ed.). Academic Press, New York.
- Inoue, Y., A. Watanabe, and K. Shibata. 1979. Transient variation of photoacoustic signal from leaves accompanying photosynthesis. *FEBS Lett.* **101**(2): 321-323.
- Larue, B., R.M. Leblang, and A. Desormeaux. 1985. The origin of the photoacoustic effect in leaves from *Impatiens petersiana*. In, 4th International Topical Meeting on Photoacoustic, Thermal and Related Sciences. ThA8.1-ThA8.4.
- Lee, C.B., Y.N. Hong, Y.D. Cho, S.H. Lee, and Y.M. Kwon. 1983. Development of electron transport and photophosphorylation in greening barley seedlings. *Kor. Biochem. J.* **16**(1): 61-71.

- Moreland, D.E. and W.P. Novitzky. 1987. Interference by luteolin, quercetin, and taxifolin with chloroplast-mediated electron transport and phosphorylation. *Plant and Soil*. **98**: 145-159.
- Nishimura, M., T. Ito, and B. Chance. 1962. Studies on bacterial photophosphorylation: III. A sensitive and rapid method of determination of photophosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* **59**: 177-182.
- Poulet, P., D. Cahen and S. Malkin. 1983. Photoacoustic detection of photosynthetic oxygen evolution from leaves. Quantitative analysis by phase and amplitude measurements. *Biochim. Biophys. Acta* **724**: 433-446.
- Trebst, A. 1979. Inhibition of photosynthetic electron flow by phenol and diphenylether herbicides in control and trypsin-treated chloroplasts. *z. Naturforsch.* **34c**: 986-991.
- Velthuys, B.R. and J. Amesz. 1974. *Biochim. Biophys. Acta* **333**: 85-94. Cited in Oettmeier, W. *et al.* 1980. Evidence for two different herbicide binding proteins at the reducing side of photosystem II. Pestic. Chem. J. Miyamoto and P.C. Kearney (eds.). Pergamon Press, New York.
- Velthuys, B.R. 1981. *FEBS Lett.* **12**: 277-281. Cited in Trebst, A. *et al.* 1983. Mode of action and MO calculation of two classes of herbicides interacting with the reducing side of photosystem II. Pestic. Chem. J. Miyamoto and P.C. Kearney (eds.). Pergamon Press, New York.

(1988. 5. 20. 接受)