

## 人蔘 틸라코이드에서 Singlet Oxygen( $^1O_2$ ) 생성에 미치는 전자전달계의 영향

양덕조·채 쾌\*·이성중·김용해·강영희\*\*

충북대학교 자연과학대학 생물학과

\*충북대학교 자연과학대학 생화학과

\*\*연세대학교 이과대학 생물학과

(1990년 3월 5일 접수)

## Effects of Light and Photosynthetic Electron Transport System on the Generation of Singlet Oxygen ( $^1O_2$ ) in *Ginseng* Thylakoid Membrane

Deok-Cho Yang, Quae Chae\*, Sung-Jong Lee, Yong-Hae Kim, Young-Hee, Kang\*\*

Department of Biology and \*Biochemistry, College of Natural Science, Chungbuk National University,  
Cheongju 360-763, Korea

\*\*Department of Biology, College of Science, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

(Received March 5, 1990)

**Abstract** □ In order to investigate the mechanism of the leaf-burning disease of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer), studies on the generation of singlet oxygen ( $^1O_2$ ) and the photooxidation of the pigments were carried out in comparison with the ones of soybean (*Glycine max* L). The studies were mainly focused on the effects of light intensity, light quality, inhibitor and electron donor/acceptor of the Photosynthetic electron transport system. When we measured the amounts of  $^1O_2$  generated in the thylakoids of ginseng and soybean by the irradiation of light (300 w/m<sup>2</sup>) as a function its time, it was identified that a higher amount of  $^1O_2$  was formed in the ginseng thylakoid than the case of soybean. A generation ratio of  $^1O_2$  between ginseng and soybean substantially identical in the range of light intensities 50-150 w/m<sup>2</sup>. However, much higher amount of  $^1O_2$  was generated in ginseng by irradiation of strong intensity of light (200-500 w/m<sup>2</sup>). Wave length dependency on the generation of  $^1O_2$  and the pigment photooxidation was observed on ginseng thylakoids; red light (600-700 nm) gave a maximum effect in the contrast with blue-green light (400-60 nm). When the ginseng thylakoid was treated with the electron donor (Mn<sup>2+</sup>) and acceptors (DCPIP, FeCy) of the photosynthetic electron transport system, a drastic inhibition of  $^1O_2$  generation was observed. However, treatment with its inhibitors (DCMU, KCN) activated  $^1O_2$  generation. An interesting fact that an electron donor or acceptor of the photosystem II(P680) inhibited  $^1O_2$  generation, suggests an intimate relationship between  $^1O_2$  generation and photosystem II.

**Key words** □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, thylakoid,  $^1O_2$  generation, photooxidation, photosynthetic electron transport.

### 서 론

식물의 葉綠體는 光상태에서  $O_2$  turnover 율이

本 研究는 1989年度 文教部 基礎科學 育成研究費 支援에  
依한 것임.

가장 높은 소기관으로 잘 알려져 있으며,  $O_2$ 는 대  
사과정 oxygenase의 기질(substrate)로써 뿐만  
아니라 光合成 전자전달계(photosynthetic elec-  
tron transport : PET)의 electron acceptor로써  
의 중요한 역할을 담당하고 있다.<sup>1,2)</sup> 그러나  $O_2$ 는

葉綠體에서 여러 생화학적 반응을 거쳐 activated oxygen, 즉 singlet oxygen ( $^1O_2$ ), superoxide radical ( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) 및 hydroxyl radical ( $OH^-$ ) 등으로 전환되어 생체내에서 강력한 toxicity를 나타내기도 한다.<sup>3-5)</sup>

이러한 active oxygen species 중에서도 가장 강력한 toxicity를 나타내는 singlet oxygen은 정상적인 생육조건에서도 葉綠體내에 생성되지만, 이들은 thylakoid-bound carotene이나  $\alpha$ -tocopherol에 의해 quenching된다. 그러나 植物體가 强光(high light intensity)과 낮은  $CO_2$  농도에서 노출되거나, PET의 uncoupling 또는 PET inhibitor가 있는 조건에서는 charge separation에 의한 energy 소모가 억제되고 intersystem crossing을 통한 photodynamic reaction이 증가되어 singlet oxygen이 다량 생성되는 것으로 알려져 있으며<sup>7,8)</sup>, 이렇게 만들어진 singlet oxygen은 pigment bleaching과 lipid peroxidation을 유발시킨다고 보고되어 있다.<sup>9,10)</sup>

Yang 등<sup>12,13)</sup>은 人蔘이 强光에 노출되었을 때 유발되는 葉燒病(leaf-burning disease) 즉 chlorophyll bleaching 과정에서 singlet oxygen이 주로 pigment를 파괴시킨다는 것을 singlet oxygen scavenging 실험을 통해서 확인하였으며, 人蔘 thylakoid membrane의 구조적 또는 기능적인 特异性이 葉燒病현상과 밀접한 관계가 있을 것임을 제시한 바 있다. Harvey와 Melis<sup>14)</sup>는 陰地식물(obligate shade plant)이 陽地에 적응된 식물(sun adapted plant)과 비교해 볼 때 photosystem II/I ratio 값이 크다고 보고하였으며, 葉綠體의 구조적 특징이 陰地식물과 유사한 赤色單一光하에서 자란 식물(red-light grown plant) 역시 reaction center II/I ratio가 陽地식물보다 높다고 알려져 있다.<sup>15,16)</sup> 따라서 人蔘의 경우에서도  $O_2$  evolving이 포함되어 있는 photosystem II가 singlet oxygen 생성 및 chlorophyll bleaching과 밀접한 관계가 있을 것으로 유추해 볼 수 있다.

본 연구는 人蔘葉燒病의 원인규명을 위한 연구의 일환으로 人蔘의 thylakoid membrane에서 생성되는  $^1O_2$ 을 specific singlet oxygen detector인 N,N-dimethyl p-nitrosoaniline(RNO)을 이용하여 singlet oxygen 생성을 확인하고, 光量 및 光質

에 따른 singlet oxygen 生成率을 陽地식물인 콩(soybean)과 비교하였다. 또한 人蔘 thylakoid membrane에 전자전달계의 electron donor와 acceptor 및 inhibitor를 처리하여 singlet oxygen 生成과 光合成 전자전달계의 관계를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 供試試料

본 실험에 사용한 高麗人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 苗蔘(생체중; 1.5g)을 光量 및 温度가 조절되는 growth chamber(30°C, 20 Klux)와 일반 관행법<sup>17)</sup>에 준하여 재배하였으며, 콩(*Glycine max*)은 본 실험실의 야외포장에서 재배한 것을 사용하였다.

### 2. Thylakoid membrane 분리

試料 10g fw.을 Sun<sup>18)</sup>와 Camm, Green<sup>19)</sup> 방법에 준하여 thylakoid membrane을 분리하였다. 채취된 잎을 직경 2mm로 자른 뒤 cold buffer[25 mM Tricine-NaOH(pH 7.6), 1 mM KCl, 5 mM  $MgSO_4$ , 0.1% BSA]로 lysis한 후 12,000×g에서 원심분리하였다. Pellet을 같은 buffer로 재현탁하여 thylakoid membrane suspension을 얻었다. Thylakoid membrane 분리에 사용된 buffer는 proteinase inhibitors[3 mM  $p$ -aminoben-zamidine, 1 mM phenylmethylfonylfluorid, 4 mM  $\epsilon$ -aminocarproic acid]가 함유되어 있다.

### 3. Singlet oxygen 生成率 측정

Singlet oxygen 생성률은 Haworth와 Hess<sup>20)</sup>의 방법에 준하여 RNO[N,N-dimethyl p-nitrosoaniline]의 bleaching[decrease in absorbance at 440 nm]으로 측정하였다. 분리된 intact thylakoid membrane을 reaction medium[25 mM Tricine-NaOH(pH 7.6); 10 mM NaCl; 5 mM  $MgCl_2$ ; 0.1 M Sorbitol and 0.01 M L-Histidine]으로 재현탁한 후, RNO의 농도를 3 mM로 맞추었다. 시간별 singlet oxygen 생성률 측정에서 光量은 할로겐 램프(Metal halide Lamp; General Electric Co., USA)를 사용하여 300 w/m<sup>2</sup>로 조절하였고, 25 mg chl./l에 해당하는 thylakoid membrane을 사용하였다. 光波長에 따른

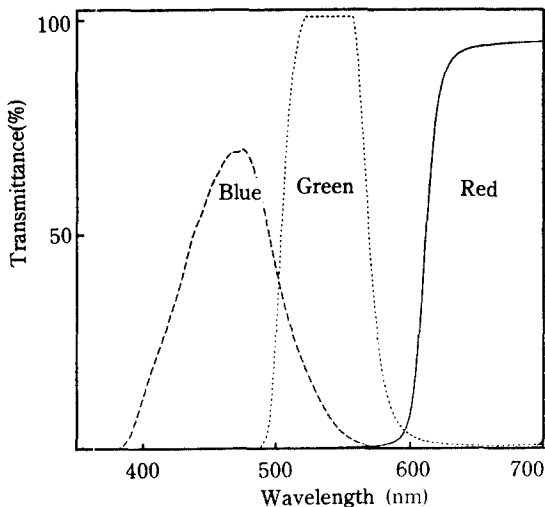


Fig. 1. The transmission spectra of the three colored filter (blue, green, and red). The same radiant flux density ( $w/m^2$ ) was achieved by putting the samples at different distances from the light source.

singlet oxygen 생성률 측정에서 사용된 filter는 Blue[(400-500 nm) XGB-400-T filter; Giriffin Co., England+Blue cellophane], Green[(500-600 nm), R<sub>1</sub> SR-60 filter; Kenko, Japan], 그리고 Red[(600-700 nm) IF 550 filter; Olympus, Japan]을 사용하였다. 光量은 할로젠 램프로 200  $w/m^2$ 로 맞추었고, 25 mg chl./l에 해당되는 thylakoid membrane을 사용하였다.

#### 4. Electron transport inhibitors와 acceptors의 영향

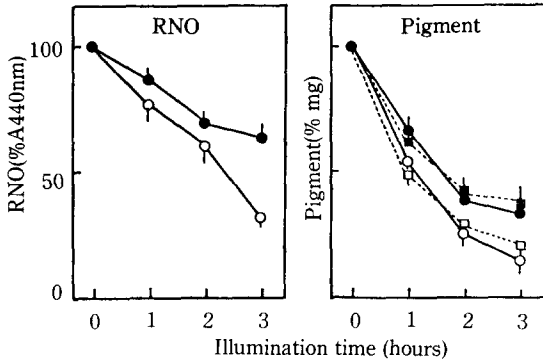
Singlet oxygen 생성에 미치는 electron transport inhibitors와 acceptors의 영향을 알아보기 위하여, electron acceptors인 DCPIP(0.1 mM)과 Fe-cyanid(3 mM), electron transport inhibitors인 DCMU(50  $\mu$ M)와 KCN(5 mM), 그리고 electron donor인 DPC(4 mM)와  $Mn^{2+}$ (5 mM)을 사용하여 실험하였다. Photolysis을 방지하기 위하여 Reiner와 Beachy<sup>21)</sup> 방법에 준하여 0.8 M Tris-HCl buffer(pH 8.0)으로 15분 동안 incubation시킨 후 원심분리하여 얻은 pellet을 reaction medium으로 재현탁하여 사용하였다. Chlorophyll 및 carotenoid 함량은 Arnon<sup>22)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

#### 결과 및 고찰

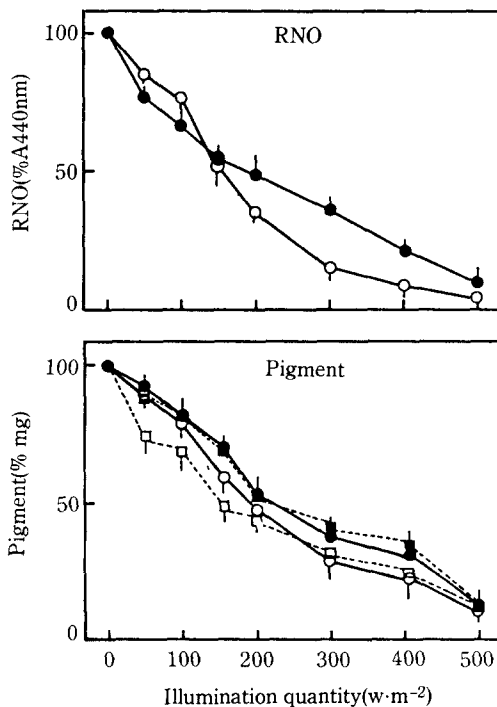
Singlet oxygen은 人蔘葉燒病의 pigment bleaching을 유발시키는 oxygen species로 잘 알려져 있는 바, 人蔘 thylakoid membrane에 300  $w/m^2$ 의 光을 照射하면서 시간별로  $^1O_2$  생성률을 측정하고 陽地식물인 콩과 비교, 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

人蔘 thylakoid는 光처리시간이 경과함에 따라 높은 RNO bleaching, 즉  $^1O_2$  생성률을 나타냈는데 陽地식물인 콩과 비교해 보면 人蔘에서 3시간 처리시 30% 정도 높은  $^1O_2$  생성률을 나타내고 있다. Chlorophyll 및 carotenoid 함량은 두 식물에서 공히 감소하였으나, 人蔘 thylakoid에서 더 많이 파괴됨을 확인하였다. 이 결과는 본 실험에 사용된 thylakoid가 intact한 葉綠體의 thylakoid와는 달리 전자전달기능이나 light-harvesting chlorophyll protein(LHCP) complex의 에너지 분배 조절 및 抗酸化 酵素계가 정상적으로 작용할 수 없음을 감안할 때, 人蔘과 콩의 thylakoid가 기능적 차이보다는 구조적인 특성에 의한  $^1O_2$  생성률 차이임을 제시하고 있다. Elstner<sup>23)</sup>는 thylakoid의 전자전달이 제한되었을 때 excited photosystem(PS)에 의한  $^1O_2$  생성은 주로 PS II에서 이루어진다고 하였으며, 또한 일반적으로 陰地식물의 PS II/I ratio 및 reaction center II/I ratio가 陽地식물보다 높다고 알려져 있는바,<sup>24)</sup> 人蔘 thylakoid 역시  $^1O_2$ 이 생성될 수 있는 PS II는 PS I보다 상대적으로 많은 것으로 유추된다.

人蔘과 陽地식물의 光量 증가에 따른  $O_2$  생성률 차이를 알아보기 위하여 50~500  $w/m^2$  범위의 光을 분리, 정제한 thylakoid에 처리하여 RNO bleaching률을 조사하였다(Fig. 3). 光量 50-150  $w/m^2$  범위에서는 두 식물간에 유의차가 인정되지 않았으나 200-500  $w/m^2$  처리에서는 人蔘 thylakoid가 콩보다  $O_2$  생성률이 현저히 증가하였으며 chlorophyll과 carotenoid 파괴율 역시 人蔘에서 다소 높은 경향을 나타내었다. 人蔘生育의 최적 光度는 2-4 Klux이며,<sup>24,25)</sup> 10 Klux까지 光合成량이 증가한다고 보고되어 있다.<sup>26)</sup> 따라서, 일반적인 陽地식물의 光포화점이 50 Klux 이상임을 감안해 볼 때, 人蔘은 비교적 낮은 光量에서 PET의 전자전



**Fig. 2.** Time-course for the RNO bleaching by  $^1O_2$  and the photooxidation of pigment caused by illumination of high light quantity ( $300 \text{ w/m}^2$ ). Thylakoid membranes of *Panax ginseng* (open symbols) and *Glycine max* (closed symbols) resuspended in 25 mM NaCl 5 mM  $MgCl_2$  and 0.1 M sorbitol at room temperature; chlorophyll: ●, carotenoid: ■. The assay mixture contained 10 mM L-histidine and 3 mM RNO.



**Fig. 3.** Effects of light intensity on the RNO bleaching by  $^1O_2$  and the photooxidation of pigment in thylakoid membrane from *Panax ginseng* (open symbols) and *Glycine max* (closed symbols); chlorophyll: ●, carotenoid: ■. Experimental conditions described in figure 2.

달이 억제되는 photoinhibition 현상<sup>27,28</sup>)이 유발될 것으로 생각된다. 人蔘에서의 photoinhibition이 콩에 비해 비교적 낮은 光量에서 유발되는 원인은 다량의 PS II에서 과다한 photon을 흡수함으로써 전자전달계가 빨리 포화되는 것으로 이해되며, 이때 전자전달계를 통해서 소비할 수 없는 전자나 에너지가 thylakoid에서 산소와 반응하여  $^1O_2$ 을 다량 생산시키는 것으로 해석된다.

*In vitro*에서  $^1O_2$ 을 생성시키는 특정 光波長을 알아보기 위하여 人蔘 thylakoid membrane을 광과장법(Fig.1)로 처리하여 RNO bleaching을 및 pigment bleaching를 조사한 결과(Table I), 600-700 nm 범위의 적색광을 照射하였을 때 RNO bleaching율은 42% 그리고 色素 파괴율 38%로써, 녹색광(500-600 nm)이나 청색광(400-500 nm) 처리구에서보다 현저히 높은 singlet oxygen 생성률 및 色素파괴율을 나타내었다(이 실험에서 RNO 및 色素의 bleaching율이 비교적 낮은 원인은 각 filter의 투과 光量을  $150 \text{ w/m}^2$ 로 조절하였기 때문이다). 이 결과에 따르면 人蔘의 photobleaching이 적색광을 과다하게 흡수함으로써 유발되는 光酸化작용(photooxidation)이라고 보고한 바 있는 양 등<sup>29,30</sup>)의 결과와 일치하는 것으로써, 葉燒病현상은 人蔘이 과다한 적색광에 노출되었을 때 葉綠體내에서 전자전달계를 통한 정상적인 에너지 소모가 차단되고 chlorophyll-mediated photosensitization에 의한  $^1O_2$  생성이 증가하여 色素의 표백화를 유발시키는 것으로 설명할 수 있다.

Photodynamic reaction에 의한  $^1O_2$  생성과 光合成 전자전달계의 관계를 알아보기 위하여, 人蔘 thylakoid membrane에 전자전달계의 inhibitor와 electron donor 및 acceptor를 첨가하면서 RNO bleaching 및 chlorophyll 파괴율을 조사한 결과를 Table 2에 제시하였다. 전자전달계의 inhibitor인 DCMU와 KCN 처리구에서는  $^1O_2$  생성과 chlorophyll 파괴를 촉진하였으나, 물의 photolysis에 대한 inhibitor인 Tris는 오히려 RNO bleaching을 20% 정도 억제하는 것으로 미루어볼 때  $^1O_2$  생성은 photolysis와 서로 관련되어 있음을 제시하고 있다. PS II oxidative side의 electron donor인  $Mn^{2+}$ 은 singlet oxygen 생성 및 chlorophyll 파괴를 현저히 억제하였으며, 이와

**Table 1.** Effects of light quality on bleaching of RNO by singlet oxygen ( $^1O_2$ ) with thylakoid membrane from *Panax ginseng* C.A. Meyer (light quantity; 150 w/m<sup>2</sup>, initial A<sub>440</sub> of RNO; 0.15, initial concentrations of chlorophyll and crotenoid; 25 and 8 g/ml).

|                  | RNO bleaching<br>(% A 440nm) | Pigment bleaching<br>(% mg bleached pigment) |          |              |
|------------------|------------------------------|--|----------|--------------|
|                  |                              | total chl.                                   | chl. a/b | carotenoid   |
| RED (600-700nm)  | 42.68 ± 1.87                 | 38.32 ± 1.20                                 | 1.18     | 32.33 ± 1.37 |
| GREEN(500-600nm) | 19.50 ± 0.96                 | 15.46 ± 0.97                                 | 1.36     | 13.49 ± 0.92 |
| BLUE (400-500nm) | 8.63 ± 1.93                  | 19.74 ± 1.43                                 | 1.51     | 15.56 ± 1.54 |

**Table 2.** Effects of inhibitors, donors, and acceptors of electron transport on RNO bleaching by singlet oxygen(O) with thylakoid membrane from *Panax ginseng* C.A. Meyer (light quantity; 200 w/m<sup>2</sup>, initial A<sub>440</sub> of RNO; 0.15, initial concentrations of chlorophyll and crotenoid; 25 and 8 g/ml)

|                    | RNO bleaching<br>(% A 440nm) | Pigment bleaching<br>(% mg bleached pigment) |          |              |
|--------------------|------------------------------|--|----------|--------------|
|                    |                              | total chl.                                   | chl. a/b | carotenoid   |
| No addition        | 71.30 ± 0.73( 00.0)*         | 70.25 ± 0.73                                 | 1.40     | 71.60 ± 1.53 |
| Tris               | 57.39 ± 1.59( 19.5)          | 63.92 ± 1.59                                 | 1.53     | 62.97 ± 1.79 |
| DCMU               | 86.09 ± 2.32(-20.7)          | 82.58 ± 2.32                                 | 1.36     | 80.81 ± 2.51 |
| KCN                | 90.46 ± 0.42(-26.9)          | 84.91 ± 0.42                                 | 1.49     | 84.27 ± 0.60 |
| DCPIP              | 6.96 ± 1.74( 90.2)           | 20.78 ± 1.74                                 | 1.95     | 23.97 ± 1.34 |
| FeCy               | 35.60 ± 0.10( 50.1)          | 21.90 ± 0.10                                 | 2.03     | 24.03 ± 0.01 |
| Mn <sup>2+</sup>   | 10.90 ± 1.35( 84.7)          | 3.31 ± 0.96                                  | 2.26     | 3.82 ± 1.11  |
| Tris + DCP + DCPIP | 8.70 ± 1.19( 87.8)           | 29.17 ± 1.10                                 | 2.06     | 29.33 ± 1.25 |
| Tris + DCP + FeCy  | 55.65 ± 1.76( 22.0)          | 57.85 ± 1.76                                 | 1.58     | 58.31 ± 1.60 |

\*Rate of inhibition of RNO bleaching (%).

관련된 chlorophyll 파괴의 억제에 대한 Mn<sup>2+</sup>의 효과는 다른 처리구와 비교하여 볼 때 가장 효과적인 결과를 나타내었다.

Photosystem II의 electron acceptor인 DCPIP는  $^1O_2$  생성을 90% 이상 억제하였고, photosystem I의 electron acceptor인 FeCy는 약 50%의 억제율을 나타내었다. 또한 photolysis의 inhibitor인 Tris를 처리하고 Photosystem II의 P680에 대한 electron donor 및 acceptor를 첨가(Tris+DCP+DCPIP)하였을 때는  $^1O_2$  생성을 85% 억제하는 효과를 나타내었으며, photosystem II와 photosystem I, 즉 whole chain에 대한 electron donor 및 acceptor를 처리(Tris+DCP+FeCy)하였을 때는 약 22%의  $^1O_2$  생성을 억제하였다. 이러한 결과로 미루어볼 때 人蔘葉燒病의 원인이 되는 주요 요인 중의 하나인  $^1O_2$  생성과 전자전달계와는 밀접한 관계가 있으며, 특히

photosystem II에 대한 electron donor 및 acceptor를 첨가하였을 때  $^1O_2$  생성이 현저히 억제되는 것으로 미루어 보아, 强光하에서 人蔘 thylakoid의  $^1O_2$  생성은 주로 photosystem II의 에너지 분배기능의 상실에 의하여 이루어진다는 사실을 뒷받침해주고 있다.

## 요 약

人蔘葉燒病의 원인을 구명하기 위한 연구의 일환으로, 人蔘 thylakoid membrane에서 specific  $^1O_2$  detector인 RNO를 사용하여 光量 및 光質, 그리고 光合成 전자전달계의 inhibitor와 electron donor 및 acceptor 처리에 따른  $^1O_2$  생성물과 色素의 光酸化율을 陽地식물과 비교, 조사하였다.

人蔘과 콩의 thylakoid에 300 w/m<sup>2</sup> 光을 照射하면서 시간별로  $^1O_2$  생성물을 측정할 결과, 人蔘

thylakoid에서 비교적 많은 양의  $^1\text{O}_2$ 이 생성됨을 확인하였다. 光量변화에 따른  $^1\text{O}_2$  생성률은 50-150  $\text{w}/\text{m}^2$ 까지 人蔘과 콩의 thylakoid에서 유의차가 인정되지 않았으나, 200-500  $\text{w}/\text{m}^2$  범위의 光量에서는 人蔘 thylakoid가 콩에 비해 현저히 높은  $^1\text{O}_2$  생성률을 나타내었다. 光波長에 대한 효과는 적색光(600-700 nm)이 청색光(400-500 nm)이나 녹색光(500-600 nm)에 비하여 人蔘 thylakoid의  $^1\text{O}_2$  생성률 및 色素과괴율을 현저히 증가시킨다는 것을 확인하였다.

光合成 전자전달계의 electron donor인  $\text{Mn}^{2+}$ 과 electron acceptor인 DCPIP 및 FeCy를 人蔘 thylakoid에 처리하면  $^1\text{O}_2$  생성과 色素의 파괴가 현저히 억제되고, 전자전달계의 inhibitors인 DCMU와 KCN을 처리하였을 때는  $^1\text{O}_2$  생성이 촉진됨을 관찰하였다. 특히 photosystem II (P680)에 대한 electron donor 및 acceptor를 첨가시켰을 때  $^1\text{O}_2$  생성이 현저히 억제되는 것으로 미루어 볼 때, singlet oxygen( $^1\text{O}_2$ ) 생성은 photosystem II와 밀접한 관계가 있음을 제시하고 있다.

### 인용문헌

- Allen, J.F.: *Superoxide and Superoxide Dismutase*, Academic Press, London, p.417-36 (1977).
- Elstner, E.F.: *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**, 73 (1982).
- Asami, S. and Akazawa, T.: *Plant Physiol.* **62**, 981 (1978).
- Elstner, E.F. and Osswald, W.: *Z. Naturforsch Teil C.* **35**, 129 (1980).
- Mayfield, U.: *Plant Cell Physiol.* **59**, 1565 (1977).
- Takahama, U.: *Plant Cell Physiol.* **59**, 1565 (1977).
- Ridley, S.M.: *Arch. Biochem. Biophys.* **125**, 850 (1968).
- Ridley, S.M.: *Plant Physiol.* **59**, 724 (1977).
- Harman, G.E. and Mittick, C.R.: *Nature* **260**, 323 (1976).
- Gorsch, W. and Laskawy, G.: *Biochem. Biophys. Acta.* **75**, 439 (1979).
- Elstner, E.F. and Frommeyer, D.: *FEBS Lett.* **86**, 1443 (1980).
- Yang, D.C., Kim, M.W., Chae, Q. and Kim, M.S.: *Korean J. Ginseng Sci.* **13**(1), 98 (1989).
- Yang, D.C., Lee, S.T., Lee, S.J., Kim, Y.H. and Kang, Y.H.: *Korean J. Ginseng Sci.* **13**(2), 158 (1989).
- Melis, A. and Harvey, G.W.: *Biochim. Biophys. Acta.* **637**, 138 (1981).
- Leong, T.Y., Goodchild, D.J. and Anderson, J.M.: *Plant Physiol.* **78**, 561 (1985).
- Leong, T.Y. and Anderson, J.M.: *Biochim. Biophys. Acta.* **766**, 533 (1984).
- Kim, D.J.: *Korean Ginseng Culture*, Ilhan, Seoul, p.47 (1973).
- Sun, G., Bailey, D., Jones, M.W. and Markewell, J.: *Plant Physiol.* **98**, 283 (1989).
- Camm, E.L. and Green, B.L.: *Plant Physiol.* **67**, 1061 (1981).
- Haworth, P. and Hess, F.D.: *Plant Physiol.* **86**, 672 (1988).
- Reinero, A. and Beachy, R.N.: *Plant Physiol.* **89**, 111 (1989).
- Arnon, D.I.: *Plant Physiol.* **24**, 1 (1949).
- Elstner, E.F.: *The Biochemistry of Plants*, Academic Press, New York, **11**, 253 (1987).
- 栗林登喜子, 大橋裕: *生藥學雜誌*, **25**, 110 (1971).
- 宮澤洋一: *農業および園藝*, **50**, 117 (1975).
- Lee, C.H.: *Korean J. Ginseng Sci.* **12**(1), 11 (1988).
- Schulter, G., Dewit, M., Staehelin, L.A. and Ohad, I.: *J. Cell Biol.* **103**, 71 (1986).
- Kyle, D.J.: *Photochem. Photobiol.* **41**, 107 (1985).
- Yang, D.C., Yoo, H.S. and Yoon, J.J.: *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 91 (1987).
- Yang, D.C., Yoo, H.S. and Yoon, J.J.: *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 101 (1987).