

식물색소 관여형 화합물의 생물검정법으로서 Greening Assay

김진석 · 김태준 · 홍경식 · 황인택 · 조광연*

A Bioassay for Chemicals Affecting Plant Pigment Biosynthesis: Greening Assay

Kim J.S., T.J. Kim, K.S. Hong, I.T. Hwang and K.Y. Cho*

ABSTRACT

To establish a greening assay for screening, and physiological and biochemical studies of the compounds affecting biosynthesis of plant pigments, were conducted on environmental factors, and on ways of incubation and illumination which affect plant greening. Greening was good when both cucumber and barley were grown for 5 to 6 days at 25°C in darkness, when adaxial sides of cucumber cotyledons were contacted with the solution, and when barley leaf fragments were taken 0.5 to 2.0cm from the leaf tip. Potassium phosphate buffer (pH 6.0) at 10mM was most desirable for plant greening. The speed of greening during illumination was increased as the temperature increased from 15°C to 35°C. The responses were sensitive more in cucumber than in barley, and in chlorophyll biosynthesis than in carotenoid biosynthesis. The content of chlorophyll was greatest at the light intensity of 5000 and 1000 lux for cucumber and barley, respectively, but the biosynthesis of carotenoids were greatest at the light intensity higher than for chlorophyll. In use of solvents for dissolving chemicals, acetone, ethyl alcohol and DMSO at 10, 0.1 and 2.5% or less, respectively, did not affect the biosynthesis of plant pigments. PI_{50} values were calculated for chemicals affecting pigment biosynthesis.

緒 言

식물색소를 증엽록소 및 카로티노이드는 광합성 작용 또는 antioxidant로서의 중요한 기능을 가지며¹⁶⁾ 현재 이들의 생합성을 제어할 수 있는 여러 화합물들이 개발되어 이용되고 있다. 엽록소 생합성 과정에 관계되는 대표적인 화합물들 중에서 diphenyl ether계, phthalimide계, oxadiazon 등은 protoporphyrinogen oxidase를 억제^{4,11,20)}, protoporphyrin IX를 비정상적으로 축적시킴으로 인하여 광조건하에서 생긴 활성산소가 생체막을 무차별하게 파괴시킴으로써⁷⁾, pyrazolate, pyrazoxyfen 및 benzofenap 등은 가수분해되어 생긴 활성본체인 DTP가 protoporphyrin IX에서 protochlorophyllide과정

중의 Mg^{+2} 유입을 억제하거나 이탈시킴으로써⁸⁾, gabaculine은 glutamate로부터 5-aminolevulinic acid 형성단계의 아미노기 전이효소를 저해함으로써⁵⁾ 각각 제초력을 발휘하는 것으로 보고되고 있다. Carotenoid 생합성 저해제 중에서 clomazone은 IPP에서 GGPP 단계를, norflurazon, fluridone 등¹⁾은 phytoene에서 phytofluene 과정을^{3,14)}, dichlormate 또는 LS-80707은¹³⁾ zeta-carotene에서 neurosporene 단계의 탈수소과정을 저해하는 것으로 알려지고 있다.

이와같이 현재까지 알려진 작용부위 이외에 새로운 화합물에 의하여 생합성 과정의 다른 부위도 제어될 수 있을 가능성이 있고, 특히 식물색소 대사는 동물과는 다른 과정을 일부 보유하고 있기 때문에 이를 목표로 하였을 때는 보다 안전성이 높은 화

* 한국화학연구소 Korea Research Institute of Chemical Technology, Daedeog-danji, Daejeon 305-606, Korea

합물을 개발할 수 있을 것으로 판단되며 더우기 식물의 녹색화(greening) 과정이 종에 따라 차이가 있을 수 있다는 Rebeiz 등의 연구결과¹²⁾를 볼 때 식물간 선택성도 발현될 수 있을 것으로 여겨진다. 그 외에 이들 과정은 ABA, GA, 비타민, phytol, sterol 등의 생합성 과정에도 밀접히 관련되어 있기 때문에^{2,15)} 이 부분에 대한 집약적인 연구는 이들 상호작용의 생리학적 이해를 증진시킬 수 있고 아울러 조절이 가능할 수 있을 것으로 여겨진다.

따라서 본 연구는 식물색소대사에 영향을 미치는 화합물을 스크리닝 하고 이들의 구조활성간의 관계를 조사하며 생합성의 어느 단계에 영향을 미치는지에 대한 실험을 수행할 수 있도록 하기 위한 일차적 단계로서, 암조건에서 육성된 황화된 오이자엽 또는 보리엽신에 화합물을 처리한 다음, 광조사후 여러 변화를 관찰 또는 분석 조사하는 소위 "Greening assay"를 확립하고자 녹색화과정에 미치는 환경요인들과 처리방법에 관한 여러가지 실험을 수행하였다.

材料 및 方法

1. 식물재료

Vermiculite 에 오이(한농하우스백다다기)와 보리(동보리) 종자를 파종한 후 암조건에서 육성하여 황화된 자엽 또는 엽신을 사용하였다.

2. 실험방법

실험조건에 따라 처리내용이 약간씩 다르나 표준방법은 다음과 같다. 황화된 식물로부터 오이는 자엽, 보리는 엽신상단으로부터 0.5~2.0 cm 부위를 절취하여 10mM potassium phosphate(pH 6.0) 용액이나 이 buffer 용액으로 조제된 화합물 용액에 치상한 다음(이때 약한 녹색광하에서 작업) 암조건에 일정시간(보통 10~16 시간) 두었다. 그 후 형광등을 조사하여 greening 을 유지시킨 후 형성된 색소를 acetone 또는 methyl alcohol로 추출 spectrophotometer(Beckmann, DU 65)를 이용하여 흡광도를 측정 한 다음 Lichtenthaler 방법¹⁰⁾에 준하여 색소함량을 계산하였다.

3. 실험내용

1) 재료의 치상방법, 위치 및 시기에 따른 greening : 오이자엽의 치상방법간 차이를 보기 위하여 자엽의 표면 또는 이면을 용액에 닿도록 치상한

다음 8시간 광조사(3,000 Lux)한 후 색소함량을 조사하였다.

보리엽신의 치상위치간 차이를 보기 위하여 25°C에서 6일간 육성된 보리엽신을 상부로부터 0~0.5 cm, 0.5~2.0 cm, 2.0~3.5 cm, 3.5~5.0 cm 부위를 절단하여 7시간 동안 25°C 암조건에 둔 후 9시간 광조사(3,500 Lux) 하였다.

오이 및 보리의 치상시기에 따른 greening 차이를 보기 위하여 파종 후 25°C 암조건에 4~8일 동안 육성된 재료를 실험방법에서와 같이 치상한 후 광조사 시간별 greening 정도를 비교하였다.

2) Buffer 용액 종류와 pH 정도별 greening : Greening 에 유효한 buffer 용액을 찾기 위하여 pH 6.0 이 되도록 조제한 10mM potassium phosphate, 10mM sodium phosphate, MES, citric-phosphate, tris-maleic acid buffer 용액에 황화된 오이자엽 및 보리엽신을 치상하여 8시간 광조사(25°C, 3,000 Lux) 한 후 형성된 색소함량을 조사하였다. 한편 pH정도가 greening 에 미치는 효과를 조사하기 위하여 potassium phosphate로 조제된 pH 5.0~pH 9.0의 용액(10mM)에 위와 같이 8시간 광조사(25°C, 8480 Lux) 하였다.

3) 온도 및 광도에 따른 greening : 광조사기간 동안의 온도의 영향을 알아보기 위하여 황화된 오이자엽 및 보리엽신을 치상한 후 15°C, 25°C, 35°C의 growth chamber 에 옮긴 후 광조사(3,000 Lux) 시간별 greening 정도를 조사하였고, 광도의 영향을 알아보기 위하여 위와같이 치상된 사례를 0~17,000 Lux 의 여러 광도조건하에 둔 다음 25°C에서 24시간 광조사한 후 형성된 색소함량을 조사하였다.

4) 녹색화된 오이자엽의 암보관 온도에 따른 de-greening : 황화된 오이자엽을 25°C에서 10시간동안 광조사(4,000 Lux)하여 greening 된 것을 5°C와 25°C의 암조건에 저장한 다음 48시간까지 시간별로 꺼내어 색소함량을 조사하였다.

5) 용매의 영향 : 용매가 greening 에 미치는 영향을 조사하기 위하여 0.15~10.0%의 acetone 및 DMSO 용액과 0.015~1.0%의 ethyl alcohol 용액에 오이자엽을 치상하여 10시간 암조건에 보관한 후 24시간 동안 광조사(25°C, 3,500 Lux) 하였다.

6) 여러 화합물이 greening 에 미치는 효과 : 여러 농도로 조제된 시험화합물에 오이자엽 또는 보리엽신을 치상한 후 10~16시간 암조건에 두어 약제

가 침투되도록 하였다. 이어 8~9 시간동안 광조사 (25°C, 3,000 Lux)한 다음 무처리 대비 50% greening 억제 농도를 조사하였다.

시험된 화합물은 시약 및 원제로서 DTP(98%), oxadiazon(93.8%), sodium vanadate(sigma), fluridone(99.3%), norflurazon(80%), paraquat(sigma), oxyfluorfen(70.3%), clomazone(91%), amitrole(sigma)이었으며 화합물 용액의 용매 및 Tween 20의 최종농도는 각각 1.0%, 0.01%이었다.

結果 및 考察

1. 재료의 치상방법, 위치 및 시기에 따른 greening

Greening assay를 위해서는 먼저 가장 적합한 상태의 재료를 사용하는 것이 고려되어야 할 것이다. 오이의 경우 자엽을 절단한 다음 표면이 용액에 닿도록 치상하는 것이 그 반대로 하는 것보다 엽록소 함량이 3배정도 많았으며, 엽록소 a와 b의 비율은 각각 1:0.29, 1:0.16으로서 이면이 용액에 닿도록 치상하였을 때 엽록소 b의 함량이 감소되는 경향이었다(Table 1). 보리의 경우는 예비실험의 결과 차이가 없었다.

그런데 보리는 엽신 부위별 greening 반응속도가 다르게 나타났다. Table 2에서 보는 바와 같이 엽록소 생성량의 경우 엽신 상단으로부터 0.5~2.0cm의 것이 가장 많았고 상단 0.5cm까지 또는 절제하단의 것은 낮았다. carotenoid의 경우는 상단에서 하단으로 갈수록 함량이 낮은 경향이었다.

한편 식물은 암조건에서 노화가 빨리 진행되기 때문에 어느 시기의 재료를 사용하느냐 하는 것도 실험상 중요한 요인이 될 것이다. vermiculite에 파종된 종자를 25°C 암조건에 4~8일간 둔 다음 어느 시기의 재료가 greening에 민감한 반응을 보이는지 알기 위하여 실험한 결과 오이의 경우 4일에

Table 1. Greening response of etiolated cucumber cotyledons when adaxial and abaxial surface was contacted with solution, respectively.

Placement	Chl. a		Total Chl.	Carotenoids
	μg gF.W.			
Adaxial	306.8	89.8	396.3	141.0
Abaxial	112.0	17.7	130.0	68.3

Table 2. Greening response of etiolated barley leaf segments excised from different portions of leaf blade.

Excised portions ^a	Total Chl.	Carotenoids
	μg gF.W.	
A	302.9	137.4
B	390.4	123.2
C	370.9	107.1
D	280.1	69.6
L.S.D(0.05)	34.5	9.0

^a A, B, C and D represent leaf portions of 0.5, 0.5 to 2, 2 to 3.5 and 3.5 to 5 cm excised from the tip of leaf blade, respectively.

서부터 6~7일 된 것까지는 오래된 것일수록 생성량이 증가되었으나 8일된 자엽은 오히려 감소되었다(Table 3). 보리의 경우는 5~6일 된 것이 7~8일 된 재료보다 생합성 속도 및 양이 증가되는 경향이었다(Fig. 1). 따라서 보리는 5~6일, 오이는 6~7일 된 것이 좋은 반응을 보이므로 작업의 용이성과 치상후 암조건에 10~16시간 둔다는 것을 고려하여 볼 때 각각 25°C에서 5일된 재료를 사용하는 것이 바람직할 것으로 여겨진다.

2. Buffer용액 종류와 pH별 greening정도

Greening 실험시 사용되고 있는 기본용액으로서는 증류수, phosphate buffer, MES 등이며 이들의 pH

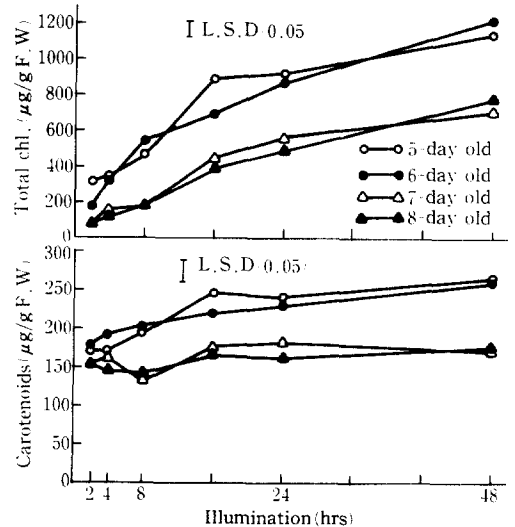


Fig. 1. Pigment content in segments excised from etiolated barley leaf of different ages as affected by time of illumination. Age indicates days after sowing.

2에서와 같이 전반적으로 온도가 높을수록 생성속도가 증가되었으며 오이가 보리보다 온도변화에 따른 색소합량변화가 더욱 현저하였고, 그 정도는 carotenoid보다는 엽록소 생합성에서 큰 경향이였다. 엽록소 생성량의 경우 15°C 처리의 보리에서만 약간 증가되었으나 그외에는 보리보다 오이가 더욱 큰 경향이었는데, 이는 보리가 저온성 작물인 것과 관련이 있는 것으로 여겨진다.

Carotenoid 절대량에 있어서는 15°C 24시간, 25°C 9시간, 35°C 4시간까지는 보리에서 높았으나 지속적인 광조사로 인한 증가량은 15, 25, 35°C에서 각각 오이의 경우 4.9, 10.5, 13.5배, 보리의 경우 1.5, 1.7, 1.7배로서 오이가 더욱 큰 경향이였다.

따라서 화합물의 종자침적에 의한 carotenoid 저해 정도를 측정하기 위해서는 보리가 좋은 재료로 사용될 수 있을 것으로 보이나 황화된 재료를 이용할 때는 생합성 과정이 왕성한 오이가 좋은 재료로 인정된다. 그리고 각 실험시의 비교를 위해서는 온도의 고정이 매우 중요한 것으로 보인다.

한편 광도별 greening 반응 결과는 Fig. 3과 같다. 오이자엽의 경우 엽록소 생합성은 5,000 Lux 이상에서는 오히려 감소되어 17,000 Lux에서의 함량이 800 Lux의 것과 비슷한 정도였다. carotenoid 함량도 같은 경향이였으며 8,500 Lux에서 최고치를 나타내었다. 보리의 경우는 오이보다 낮은 광도

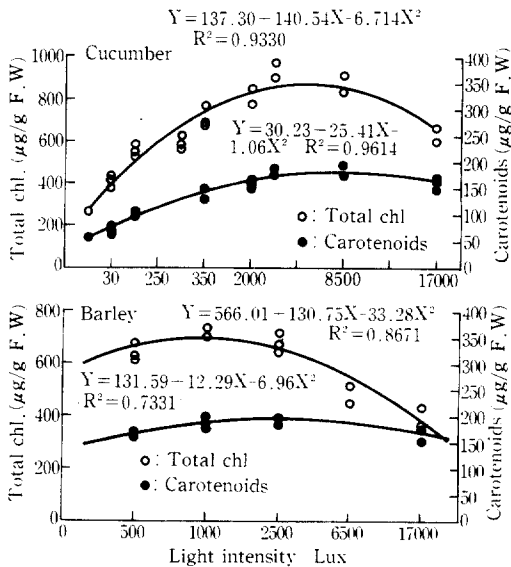


Fig. 3. Effect of light intensity on pigment biosynthesis of etiolated cucumber cotyledons and barley leaf segments.

에서 최고치(엽록소는 1,000 Lux, carotenoid는 2,600 Lux)를 보였다. 따라서 지나친 광도는 photooxidation을 유기시키므로 이보다 낮은 광도에서 실험을 수행하여야 할 것으로 판단된다.

4. 녹화된 오이자엽의 암보관 온도에 따른 degreening

처리량이 많을 경우 조사를 위한 시간도 길게 되기 때문에 이로 인한 변이¹⁷⁾가 야기될 수 있을 것이다. 이를 최소화시키기 위하여 광조사 종료 후 즉시 저온 암조건에 옮긴 다음 조사하는 방법을 검토하고자 실험한 결과 녹화된 자엽을 5°C 암조건에 보관할 경우 48시간까지 초기 엽록소 함량과 거의 차이가 없었다. 그러나 25°C의 경우는 내략 16시간 이후부터 감소되어 48시간 쯤에는 초기 농도의 72%에 불과하였다(Fig. 4). 이를 자엽 4쌍당의 함량으로 환산하여 보았을 때는 초기농도와 차이가 없었다. 따라서 생체중당 함량이 감소되었던 원인은 암조건하에서의 색소 생합성 또는 소실이 없었던 반

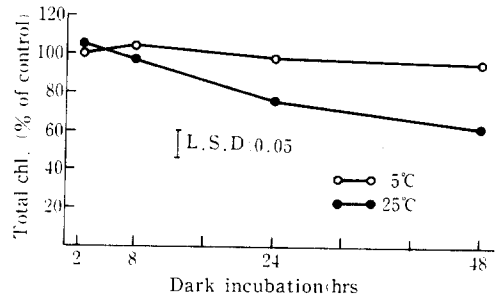


Fig. 4. Effect of dark incubation temperature on degreening of cucumber cotyledone as affected by time of incubation. Cotyledons were preilluminated at 4000Lux for 10hr.

Table 6. Effect of dark incubation temperature on degreening of cucumber cotyledons.

Dark incubation (hr)	Fresh weight g 4 pairs		Total Chl. μ g 4 pairs	
	5°C	25°C	5°C	25°C
0	0.133	0.133	81.5	81.5
2	0.140	0.133	91.1	74.0
4	0.130	0.133	73.7	67.0
8	0.137	0.147	88.7	74.3
24	0.143	0.183	83.9	83.0
48	0.163	0.183	88.5	81.2
L. S. D 0.05	0.020	0.015	NS	NS

NS: not significant

Cotyledons were preilluminated at 4000 Lux for 24hr

Table 3. Pigment content in cotyledons excised from etiolated cucumber of different ages.

Days after sowing Dark 25°C	Total Chl. μg gF.W.	Carotenoids μg gF.W.
4	332.8 ^a	101.1 ^{ab}
5	377.1 ^{ab}	108.4 ^b
6	394.7 ^b	111.9 ^b
7	392.9 ^b	112.5 ^b
8	336.1 ^a	95.1 ^a

Light exposure 3000 Lux for 8 hr at 25°C

Means followed by the same letter within a column were not significantly different by L.S.D. test at 5% level.

정도는 대부분 7 내외이다. 본 연구에서는 시험재료에 적합한 buffer를 찾기 위하여 실험한 결과 Table 4에서와 같이 오이, 보리 모두 가장 양호했던 buffer는 potassium phosphate와 citrate-phosphate였고, MES, tris-malate buffer는 불량하였

Table 4. Effect of various buffer solutions on pigment biosynthesis of etiolated cucumber cotyledons and barley leaf segments.

Buffer solution	Cucumber		Barley	
	Total Carote-Chl.	noids	Total carote-Chl.	noids
pH 6.0	μg gF.W.			
Potassium phosphate 10mM	559.3	178.7	513.1	211.1
MES	297.1	121.8	369.4	202.1
Citrate-phosphate	533.9	168.0	532.0	219.1
Sodium phosphate 10mM	409.4	148.7	496.1	211.2
Tris-malate	376.1	130.7	288.3	198.9
L.S.D 0.05	59.8	22.8	48.7	NS

Table 5. Effect of buffer pH on pigment biosynthesis of excised cucumber cotyledons and barley leaf segments.

pH ^{a)}	Cucumber		Barley	
	Total Chl.	Carotenoids	Total Chl.	Carotenoids
	μg gF.W.			
5	523.5 ^a	200.9	439.0 ^a	172.4 ^a
6	513.8 ^a	195.8 ^{ab}	454.8 ^a	169.0 ^a
7	459.0 ^b	183.7 ^{ab}	488.6 ^a	176.1 ^a
8	418.2 ^b	172.8 ^b	423.6 ^a	174.3 ^a
9	417.9 ^b	173.4 ^b	396.9 ^a	166.1 ^a

^{a)} The buffer was 10mM potassium phosphate.

Means followed by the same letter within a column were not significantly different by L.S.D test at 5% level.

다. 그런데 K⁺ 자체가 greening의 유도기를 단축시킨다는 결과^{6,16)}를 볼 때 potassium phosphate buffer를 사용하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

한편 pH 효과를 보기 위한 실험결과로서 오이의 경우 pH 9 보다는 pH 5에서 색소함량이 증가되었으나 pH 5~7 범위에서의 함량차이는 거의 인정되지 않았다. 보리의 경우는 pH 정도간 통계적 차이는 없었으나 pH 7에서 보다 높은 경향이였다(Table 5). 따라서 두 재료를 동시에 사용하기 위해서는 pH 6.0이 바람직할 것으로 여겨진다.

3. 온도 및 광도에 따른 greening

Greening시 온도의 영향을 알아보기 위하여 15, 25, 35°C의 온도 조건하에서 광조사하였을 때 Fig.

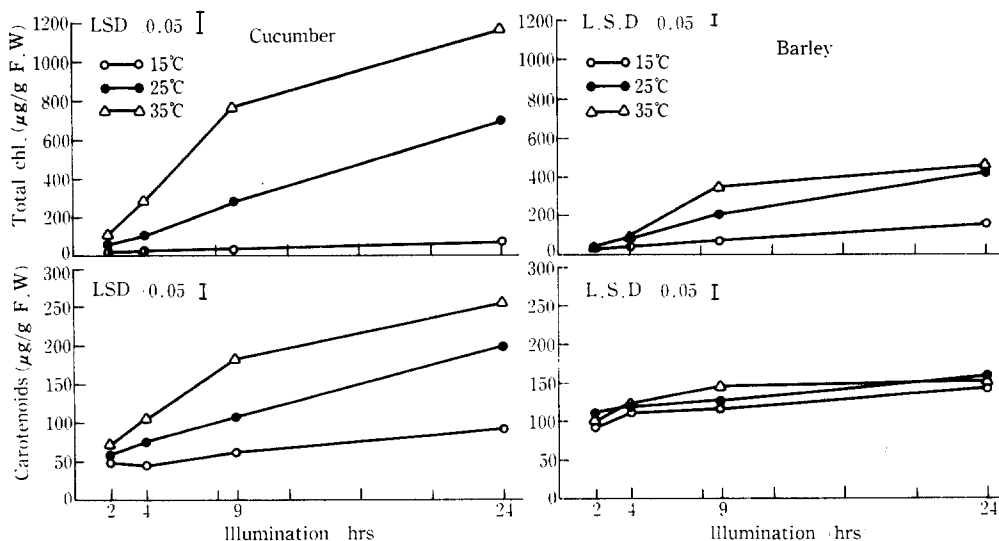


Fig. 2. Effect of temperature on pigment biosynthesis of etiolated cucumber cotyledons and barley leaf segments as affected by time of illumination.

Table 7. Effect of organic solvents on pigment biosynthesis of etiolated cucumber cotyledons.

Pigments	Solvents	Concentration (%)						
		0.15	0.32	0.63	1.25	2.5	5.0	10.0
		Inhibition %						
Chlorophyll	Acetone	0	0	0	0	0	0	4.8
	Ethyl alcohol	9.9	17.4	47.6	73.5	90.9	97.3	—
	DMSO	0	0	0	3.1	2.1	35.9	96.2
Carotenoids	Acetone	0	0	0	0	0	0	5.4
	Ethyl alcohol	1.5	10.6	16.9	41.0	42.9	52.4	—
	DMSO	0	0	0	0	0	27.0	71.7

면 생체중이 증가되었기 때문으로¹⁹⁾ 판단된다. 한편 carotenoid 함량($\mu\text{g/g F. W.}$)은 감소 경향이 없었다. 따라서 조사시 처리수가 많을 경우 5°C 암조건에 보관하면서 필요에 따라 조사하여도 변이는 크지 않을 것으로 생각된다.

5. 용매의 영향

Greening에 영향을 미치는 화합물을 스크리닝하고자 할 때는 이들의 용매 효과를 조사하여 안전사용 농도를 가능한 한 정해 두어야 할 것이다. 본 실험에서는 가장 흔히 쓰이는 acetone, ethyl alcohol, DMSO의 효과를 조사하였다.

Acetone은 10% 농도에서 4~5% 저해가 있을 뿐 그 미만 농도에서는 저해 경향이 없었다.

Ethyl alcohol은 0.15%에서 엽록소의 경우 9.9%, carotenoid의 경우 5.5% 저해되었고 농도가 증가됨에 따라 저해농도가 현저히 증가되었다. 따라서 0.1% 이하의 농도가 바람직할 것으로 여겨진다.

DMSO는 2.5%까지 안전하였으며 5%에서는 30% 내외의 저해를 초래하였다. 특히 ethyl alcohol 및 DMSO는 carotenoid보다는 엽록소 저해 정도가 큰 경향이였다.

6. 여러 화합물이 greening에 미치는 효과

3,000 Lux 내외의 명조건에서 기존 제초제를 포함한 몇 가지 화합물의 greening 저해농도를 비교하여 본 결과 DTP, clomazone, Na-vanadate, paraquat 등에서는 엽록소와 carotenoid가 동일한 정도로 저해되었고, oxadiazon, oxyfluorfen, amitrole 등에서는 엽록소가, fluridone, norflurazon 등에서는 carotenoid가 더욱 저해되는 경향이였다.

저해증상으로서 carotenoid 생합성에 작용점을 가지는 것들은 자엽이 유백색을 띠었으며, 엽록소 생합성을 저해하는 것들은 유백색 과정 없이 백색을,

Table 8. Effect of various chemicals on pigment biosynthesis of cucumber and barley

Chemicals	Total Chl. (pI50)		Carotenoids pI50	
	Cucumber	Barley	Cucumber	Barley
DTP	3.00	3.25	2.91	2.96
Oxadiazon	6.46	7.30	6.20	6.20
Na-vanadate	3.19	3.62	3.00	2.92
Fluridone	6.26	—	7.30	—
Norflurazon	5.70	4.03	6.80	—
Paraquat	4.89	5.20	4.66	—
Oxyfluorfen	6.13	7.10	5.64	—
Clomazone	5.11	6.02	5.14	—
Amitrole	2.57	1.45	1.89	—

pI50: Negative logarithm of the molar concentration which produces a 50% inhibition of pigment biosynthesis.

활성산소 발생과 관계있는 화합물의 경우는 회백색을 띠어 작용점들을 어느정도 구별할 수 있었지만 어느과정에 관여되는지를 보다 확실하게 하려면 광도별 반응이 같이 검토되어야 할 것이다. 왜냐하면 활성산소 소거 기능을 가지는 carotenoid의 형성이 억제되었을 때는 명조건에서 엽록소도 쉽게 파괴되어 엽록소 생합성 저해제 처리와 같은 반응을 보이며 이러한 현상은 광도가 높을수록 현저해지기 때문⁹⁾이다.

摘 要

식물색소 생합성에 미치는 화합물의 스크리닝 및 생리·생화학적 실험을 위한 Greening assay를 확립하고자 greening에 미치는 환경요인과 치상 및 조사 방법에 관한 여러가지 실험을 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 오이 및 보리 모두 25°C 암조건에 5~6일 된 것이 greening에 양호한 반응을 보였다.

2. 오이는 자엽의 표면이 용액에 닿도록 치상하는 것이, 보리엽신은 상단으로부터 0.5~2.0cm 부

위를 절취하는 것이 greening에 양호하였다.

3. Buffer는 10mM potassium phosphate(pH 6.0)를 사용하는 것이 바람직할 것으로 여겨진다.

4. 광조사시 온도가 15~35℃ 범위일 경우 온도가 높을수록 greening 속도가 빨랐으며, 그 반응은 보리보다 오이가, carotenoid 보다는 엽록소 생합성이 더욱 민감하였다.

5. 광도에 대한 영향은 엽록소의 경우 오이는 5,000 Lux, 보리는 1,000 Lux 내외에서 최고치를 보였으며, carotenoid의 경우는 이보다 높은 광도에서 최고치를 보이는 경향이였다.

6. 용매의 안전사용농도는 acetone 10% 미만, ethyl alcohol 0.1% 이하, DMSO 2.5% 이하였고, 색소 생합성에 관여되는 제조제 또는 벗가지 시약의 pI₅₀을 구하였다.

引用 文 獻

1. Batels P.G and C.W. Watson. 1978. Inhibition of carotenoid synthesis by fluridone and norflurazon. Weed Sci. 26 : 198-203.
2. Creelman R.A. 1989. Abscisic acid physiology and biosynthesis in higher plants. Physiol. Plantarum 75 : 131-136.
3. Duke S.O., W.H. Kenyon, and R.N. Paul. 1985. FMC 57020 effects on chloroplast development in pitted morningglory *Ipomoea lacunosa* cotyledons. Weed Sci. 33 : 786-794.
4. Duke S.O., J. Lydon, and R.N. Paul. 1989. Oxadiazon activity is similar to that of p-nitrodiphenyl ether herbicides. Weed Sci. 37 : 152-160.
5. Flint D.H. 1984. Gabaculine inhibits 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplasts. Plant Physiol. 75S : 170.
6. Green J.F. and R.M. Muir. 1978. The effect of potassium on cotyledon expansion induced by cytokinins. Physiol. Plantarum 43 : 213-218.
7. Haworth P. and F.P. Hess. 1988. The generation of singlet oxygen(¹O₂) by the nitrodiphenyl ether herbicide oxyfluorfen is independent of photosynthesis. Plant Physiol. 86 : 672-676.
8. Kawakubo K. and M. Shindo. 1979. A mechanism of chlorosis caused by 1,3-dimethyl-4-2,4-dichlorobenzoyl-5-hydroxypyrazole, a herbicidal compound. Plant Physiol. 64 : 774-779.
9. 김진석·나지영·조광연. 1989. Bleaching herbicides의 제조활성에 영향을 미치는 온도 및 광의 영향. 韓雜草誌 9(3) : 230-237.
10. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids : pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymol. 148 : 350-382.
11. Matringe M., J.M. Camadro, P.Labbe, and R. Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target for diphenyl ether herbicides. Biochem. J. 260 : 231-235.
12. Rebeiz C.A., A.Montazer-Zouhoor, H.J. Hopen, and S.M. Wu. 1984. Photodynamic herbicides : 1. Concept and phenomology. Enzyme Microbiol. Technol. 6 : 390-401.
13. Sandmann G., P.M. Bramley, and P.Boger. 1985. New herbicidal inhibitors of carotene biosynthesis. J.Pesticide Sci. 10 : 19-24.
14. Sandmann G. and P.Boger. 1987. Interconversion of prenyl pyrophosphates and subsequent reactions in the presence of FMC 57020. Z. Naturforsch 42C : 803-807.
15. Schultz G., J. Soll, E.Fiedler, and D. Schulze-Siebert. 1985. Synthesis of prenylquinones in chloroplasts. Physiol. Plantarum. 64 : 123-129.
16. Siefertmann-Harms D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. Physiol. Plantarum 69 : 561-568.
17. Stobart A.K. and George A.F. Hendry. 1984. The turnover of chlorophyll in greening wheat leaves. Phytochemistry 23 1 : 27-30.
18. 辻英夫. 1987. 黃化組織のグリーンング. 日本農藥學會誌12 : 517-538.
19. Walmsley J. and H. Adamson. 1989. Chlorophyll accumulation and breakdown in light-grown barley transferred to darkness : Effect of seedling age. Physiol. Plantarum. 77 : 312-319.
20. Witkowski D.A. and B.P. Malling. 1989. Inhibition of plant protoporphyrinogen oxidase by the herbicide acifluorfen-methyl. Plant Physiol. : 1239-1242.