

光學的 自家營養 培養細胞를 이용한 光合成 電子傳達抑制劑의 簡易檢定方法

鄭亨鎮*

Screening Method for Photosynthetic Electron Transport Inhibitors Using Photoautotrophic Cultured Cells

Hyung Jin Jeoung*

ABSTRACT : To investigate a simple and rapid screening method for photosynthetic inhibitory herbicides, responses of tobacco(*Nicotiana tabacum* L.) and liverwort(*Marchantia polymorpha* L.) PA(photoautotrophic) cells to various commercial herbicides with different modes of action and leaf extracts of four weed species were compared.

PET(photosynthetic electron transport) inhibitory type of herbicides has greater inhibitory effect in liverwort photoautotrophic cells than the photomixotrophic and heterotrophic cultured cells.

Similary, PET inhibitory type of herbicides inhibited the oxygen evolution more in liverwort PA cells than the other type of herbicides. Based on oxygen evolution, 60% inhibition was observed by the 10% aqueous extracts of *Polygonum hydropiper*, while there was 100% inhibition by the 10% methanol extracts of *Polygonum hydropiper*.

This assay gave well correlated results to the Hill reaction data using isolated thylakoids. Thus liverwort photoautotrophic cells might be suitable materials for rapid screening method for photosynthetic inhibitory herbicides.

식물에 대해서 독성을 나타내는 화합물의 배양 세포에 대한 작용성 연구가 행하여지고 있으나, 대부분 식물체의 작용과 비교해서 논의되고 있다. 그 중 광합성 저해제에 관련된 중속영양배양세포에 대한 것은 거의가 작용성이 없는 것으로 보고되어지고 있으며¹²⁾, Zilkah 등¹⁴⁾은 *Rumex obtusifolius*의 녹색 캘러스가 백색 캘러스에 비해 아트

라진(atrazine)같은 광합성 저해제에 비해 감수성이 높고, 식물체에서 조사한 것과 유사한 반응을 나타내고 있다고, 밝히고 있으며, Cseplo와 Medgyesy⁴⁾는 저 당 농도하의 광 mixotrophic 생육하에 있는 *Nicotiana plumbaginifolia* 녹색 캘러스에 대한 광합성 저해제에 대한 효과를 보고하고 있다. 이와같은 일련의 연구는 녹색 배양세포가

본 연구는 1990년도 문교부 학술진흥재단의 지방대 육성 연구비 지원에 의해 수행되었음.

* 안동대학교 자연과학대학 생물학과(Department of biology, Andong National University, Andong, Korea)

(93. 4. 21 接受)

광합성저해제저항성 세포의 선발에 극히 양호한 소재라는 것을 단적으로 나타내고 있다.

한편 최근 10여 년 동안 밝혀진 상호 대립 억제 물질은 페놀화합물, 유기산, coumarins, terpenoids, flavonoids 및 alkaloids 등으로 이들의 생리적인 작용은 영양물질의 이동장해, 세포분열, 광합성, 호흡, 단백질 합성억제, 막의 투과성 변화, 효소의 활성 등을 억제하는 것으로 알려져 있다^{5,6,7,10,13}. Alsaadawi와 Rice¹⁾는 잡초의 일종인 마디풀(*Polygonum aviculare* L)로 부터 화분과 식물의 생장을 크게 억제시키는 phytotoxin이 함유되어 있다고 보고하였다.

식물 고유의 생리 현상인 광합성을 저해하는 것에 기인한 인축에 무해한 제초제를 만들 필요성을 인식하고 있다. 실제 현재 시판되고 있는 제초제의 대부분은 광합성 전자전달계가 주요한 작용점으로 하고 있다.

지금까지 분리된 틸라코이드를 사용한 힐 반응 분석은 PET 저해제를 발견하는데 효과적이라고 알려져 있지만 실제 생체내 분석과는 틸라코이드내의 투수성, 불안정성에 의해서 야기된 활성의 차이때문에 매우 낮은 상관을 이루고 있다. 광학적자가 영양세포가 제초제의 대부분을 차지하는 광합성 저해형 제초제에 대해 민감하고 간단한 검색수단이 될 수 있다고 한다. 특히 담배(*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun NN) 광 자가영양 배양세포를 이용한 제초제와의 상관은 PA (photoautotrophic cell) 세포가($r=0.72$) 다른 mixotrophic 배양세포($r=0.59$) 타가영양배양세포($r=0.28$) 보다 높은 상관관계를 나타내고 있다¹²⁾.

제어하는 물질에 대한 틸라코이드와 전 식물체 수준사이에서 다소 중간적인 특징을 보여주는 세포 수준에서 활성반응을 조사할 가치가 있을 것으로 본다. 특히 CO₂와 광하에서 자라는 PA세포는 특이한 생장기구 때문에 PET제어제 검정을 위해 적당하다고 한다^{9,11)}.

식물 고유의 생리현상으로 광합성을 저해하도록 유도함으로써 인축에 무해한 제초제를 만들 가능성이 절실하다. 따라서 본 실험에서는 우선 광학적 자가 영양배양세포를 이용하여 상품화된 광합

성 전자 전달 억제제를 검정하는 방법을 모색해 보고 독특한 맛을 가진 여뀌와 제초제 paraquat에 내성을 가진 마디풀등 지역 주변 몇 개의 잡초를 우선 수용액과 알코올에서 추출하여 광 자가 영양 세포를 이용하여 분석을 하면서, 광합성 산소 발생 억제 효과 실험도 병행하여 식물체내의 phytotoxin 물질의 존재 여부를 탐색하기 위하여 수행하였다.

材料 및 方法

광학적자가영양세포(PA)와 mixotrophic세포(PM)의 배양은 담배 및 우산이끼 PA와 PM 세포를 일본 Sato 교수가 배양한 것을 유전공학센터 세포배양연구실로부터 1990년 12월에 분양받아, 담배(*Nicotiana tabacum* L.) 세포는 배양조건 LS 기본배지에 10 μ M NAA와 1 μ M BA를 포함한 배지에서 PA세포는 two tier flasker를 이용해서 2M KHCO₃/K₂CO₃ 완충액으로 CO₂를 공급하고, PM 세포의 경우 20g / 1 sucrose를 첨가하여 26 $^{\circ}$ C 명소하 10,000Lux, 진탕배양기에서 진탕배양하였으며, 계대배양은 20일 간격으로 행하였다.

우산이끼(*Marchantia polymorpha* L.) PA 세포의 배양은 다량원소 및 미량원소는 각각 B5, M51로, 비타민 및 호르몬은 B5배지를 기본으로 하여, 0.5g / 300ml flasker 치상하였고 기타의 배양조건은 담배 배양세포와 동일하게 2주 간격으로 계대 배양하였다.

제초제는 atrazine, simazine, simetryne, DC MU, propanil, 2, 4-D, bromacil, nitrofen을 일본이화학연구소 농약활성연구실에서 분양받아 사용하였다.

힐(Hill) 반응분석은 시금치로 틸라코이드를 얻은 후, 사용할려는 셀(Kartell cuvettes)에 반응액(20mM methylamine, 50 μ MDCIP, 10mM HEPES NaOH buffer, pH7.0) 조건하에서, DCIP의 광환원 측정은 590nm에서 PET활성을 조사하였다.

엽록체의 조제는 엽맥을 제거한 시금치 잎에 생체중 4배의 4 $^{\circ}$ C 정도의 조제액(0.4M Sucrose,

10mM MgCl₂, 10mM NaCl, 50mM Tricine NaOH buffer, pH 7.8)을 가해서 homogenizer를 이용해서 10초간 마쇄한다. 마쇄액을 8겹의 가제에서 여과하여 엽편을 제거한 후 8,000×g, 10분간 원심분리한 후 침전된 부분 중 백색 침전물을 제외한 부분을 조제액으로 다시 현탁한 후 500×g, 10분간 원심분리해서 엽록체를 얻는다. 이것을 엽록소함량 100μg/ml 전 후로 상기의 조제액으로 현탁 시킨 후 드라이아이스 위에 떨어뜨려 액체 질소 중에 보존했다. 조제된 엽록체의 엽록소 정량은 Aron³⁾의 방법을 이용해서 측정했다.

산소교환 측정은 50mM phosphate buffer (pH7.8) 3ml에 현탁된 0.1g 우산이끼 PA세포 (fresh weight)를 Clark type의 산소전극을 사용하여 Yamada등의 방법으로 광합성 산소 방출 억제 정도(PI₅₀)를 조사하였다⁹⁾.

수용 및 알콜 추출물에 대한 상치종자를 이용한 활성검정은 1990년에 채취한 4가지(마디풀, 여뀌, 쇠비름, 명아주) 야생식물의 잎을 시료 10g에 70% MeOH를 사용하여 25℃에서 24, 48, 72시간 추출 여과하여 농축한 여액을 증류수를 가하여 100ml로 채운 다음 10, 5, 1%로 희석하여 검정식물인 상치종자 50립에 치상된 샐리에 10ml씩 처리하여 20℃광 상태하에서 발아시켜 처리 후 6일째 발아율을 조사하였다.

광학적 자가영양 배양세포를 이용한 활성검정은 plastic microtiter dishes(8.5cm×12.5cm, 24wells, Greiner, Nurtingen, FRG)를 이용하여 well당 1.5ml 우산이끼 배양세포를 넣고 10% 추출액을 Jutta Thiemann등⁸⁾의 방법으로 0.42μm

membrane filter 여과하여 무균조건에서 100μl, 200μl, 300μl를 넣어 광 하에서 350rpm, 10일간 진탕 배양후 PCV(packed cell volume)를 conical special tubes(volume 2ml)를 이용하여 1400rpm/10min.으로 원심분리하여, 이 현탁액을 아세톤으로 추출하여 엽록소 함량을 조사하였다.

광합성 산소발생 억제 효과는 산소전극을 사용하여 PA세포가 포함된 산소전극의 반응용액을 3ml로 하여 잡초의 수용 및 MeOH 24시간 추출액 10% 50μl, 100μl, 150μl, 300μl, 450μl를 주입하여 각 추출물의 억제 효과를 조사하였다⁹⁾.

結 果

담배 광학적 자가영양(PA) 배양세포, 광 mixotrophic 영양(PM) 배양세포, 종속영양(H) 배양 세포들을 이용해서 이미 상품화된 전자전달 저해형 DCMU, simetryne, propanil, bromacil, simazine, atrazine과 호르몬 작용환란형 2,4-D, 광요구형 nitrofen 제초제들간의 감수성을 조사하였다(표 1).

plastic microtiter dishes(8.5cm×12.5cm, 24wells, Greiner, Nurtingen, FRG)를 이용하여 well당 1.5ml의 세포를 넣어 15일간 배양 실험한 결과 일반적으로 녹색 배양 세포인 PA세포는 PM세포에 비해 광합성 전자전달(PET) 저해형 제초제인 DCMU, simetryne, propanil, bromacil, atrazine 등은 4~45배 이상 감수성이 높았

Table 1. Effect of herbicides on growth of heterotrophic(H), photomixotrophic(PM), photoautotrophic(PA) cells and seedling of *Nicotiana tabacum* in terms of I₅₀¹⁾ values

Herbicides	PA	PM	H	S	H/PA
DCMU	0.1	4.5	300	0.5	3,000
Simetryne	0.3	22	180	2.5	600
Propanil	0.2	35	120	2.0	600
Bromacil	0.6	20	160	2.0	267
Atrazine	0.2	0.8	150	0.4	750
2, 4-D	2.5	20	20	8.0	8
Nitrofen	0.8	0.8	40	1.5	50

¹⁾ I₅₀=the negative logarithms of mole concentration required for 50% inhibition.

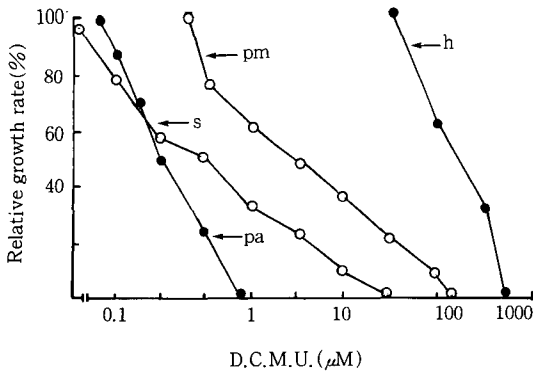


Fig. 1. Concentration dependent effect of the herbicide DCMU on photoautotrophic (pa), photomixotrophic(pm) and heterotrophic(h) growth in cell suspension cultures of liverwort and seedling of *Nicotiana tabacum*(s).

고, 호르몬 작용환란형 제초제인 2,4-D는 8배 정도 감수성이 높게 나타났으나, 광 요구형 제초제인 nitrofen은 50배로 높은 감수성을 나타내었다.

PA세포는 H세포에 비하여 PET 저해제에서 200~3000배로 높은 감수성을 나타내었다.

또한 담배 종자 발아와 비교해 보아도 녹색배양 세포가 5~10배 정도 양호한 감수성을 나타내었다. 우산이끼 녹색배양 세포를 이용한 감수성 실험을 동시에 수행해본 결과, 담배 녹색배양 세포와 같은 경향을 나타내었다.

균일한 세포를 가지고 있는 우산이끼 배양세포를 이용하여 표 1.에서 가장 감수성이 높은 PET 저해형 약제인 DCMU 제초제 상대생육율을 조사한 결과(그림 1) PA세포가 약제 농도간의 범위(0.01~0.9μM)가 가장 좁았으며 PM세포는 0.5~200μM, 타가영양세포는 50~800μM로 넓게 나타났다.

세포의 경우 DCMU 0.1μM이하에서는 상대 생육률이 50% 이상으로 양호한 생육을 나타내었으나, 0.1μM 이상에서는 상대 생육률이 급격하게 감소하였으며, 특히 0.1μM이상의 약제 농도에서는 급격히 황백화하여 죽었으며, 같은 녹색 세포인 PM세포의 경우는 1~250μM로 농도의 범위가 다소 넓고, 상대 생육률 50% 이하에서도 상당히 완만한 경향을 나타내었다.

Table 2. Effects of several herbicides on oxygen evolution of liverwort and their Hill reaction activity in thylakoids isolated from spinach in terms of PI_{50} values

Herbicides	Hill reaction	O ₂ -production
DCMU	7.3	6.7
Simetryne	7.5	7.3
Propanil	7.3	7.0
Bromacil	7.4	6.9
Atrazine	7.3	7.1
2, 4-D	3.5	3.4
Nitrofen	5.4	2.5

¹⁾ PI_{50} =the negative logarithms of mole concentration required for 50% inhibition

실용화된 제초제를 사용하여 PA세포 이용하는 것과 힐 반응 사이의 상관관계를 조사코자 우산이끼 배양세포를 이용한 산소 발생 억제정도와 힐 반응을 조사한 결과(표 2), PET 저해형 제초제 종류인 DCMU등은 PI_{50} 이 7.0이상으로 힐 반응에서 뿐만아니라 PA세포를 이용한 것에서도 강한 활성을 나타내었다.

호르몬 작용형 제초제인 2,4-D는 hill반응과 PA세포에서도 낮은 활성을 나타내었으며, 광요구형 제초제인 nitrofen은 hill반응과 PA세포 간에 활성의 차가 큰것으로 나타났다.

한편 담배 PA세포도 동시에 실시하여 보았으나, 산소전극 측정시 PA세포가 다소 덩어리 형태가 있어 측정 반복간의 오차가 심하였다. PA세포를 이용하여 지금까지 phytotoxin 물질이 있는 것으로 알려진 4가지 야생잡초들의 PET 저해제의 검정가능성을 탐색해 보고자 수용 및 알콜 24~72시간 추출액으로부터 상치종자의 발아억제 정도를 조사해 본 결과(표 3), 수용 추출액에 비하여 알콜 추출액이 상치종자의 발아 억제 정도가 다소 높은 것으로 나타났다.

4가지 잡초 추출액 모두 농도가 1%에서 10%로 증가할수록, 추출시간이 24시간에서 72시간으로 길어질수록 종자발아 억제율이 증가되었다. 특히 여뀌의 경우 24시간이상 물과 메칠알콜로 추출하였을 때 모두 10%에서 100% 발아억제 반응을 보였다.

Methanol 추출액으로 종자 발아 실험을 하였을 때는 수용성 추출액보다 발아억제 정도가 높았다. 수용 및 MeOH로 72시간 추출한 10%액으로부터 plastic microtiter dishes(8.5×12.5cm, 24wells, Greiner, Nürtingen, FRG)를 이용하여 well당 1.5ml의 우산이끼 배양세포를 넣어 10일간 배양하여 엽록소 함량을 조사한 결과(표 4), 전반적으로 70% MeOH 추출액이 수용 추출액 처리

시 보다 PA세포의 chlorophyll의 생성은 낮아지는 경향이었으며, 특히 여뀌 추출물의 처리시 타 공시재료보다 농도를 높일수록 chlorophyll의 생성억제가 현저하였다.

표 3에서 종자 발아억제가 가장 높은 72시간 추출액 10%로 광합성 산소발생에 대한 각 추출물의 억제 효과를 우산이끼 PA세포, 반응용액 3ml로 하여 조사한 결과(표 5) 수용 추출액에 비하여

Table 3. Germination inhibition percent of lettuce seeds by treatments of the aqueous and alcohol extracts from four weed species

Weeds	Concentration(%)	Germination inhibition(%) treated by					
		aqueous extracts			methanol extracts		
		24 ¹⁾	48	72	24	48	72
<i>Polygonum aviculare</i>	1	42	53	71	45	57	78
	5	67	77	84	71	79	88
	10	98	100	100	98	100	100
<i>Polygonum hydropiper</i>	1	43	53	62	51	64	68
	5	70	75	93	77	81	93
	10	100	100	100	100	100	100
<i>Chenopodium album</i>	1	38	49	65	47	55	68
	5	58	64	73	62	70	79
	10	70	97	98	70	100	100
<i>Portulaca oleracea</i>	1	39	46	64	43	51	66
	5	46	65	72	46	68	76
	10	75	87	98	84	92	100
Untreated control		0	0	0	0	0	0

¹⁾ Extraction times : 24, 48 and 72 hours

Table 4. Effect of water and alcohol extracts from weed species on chlorophyll contents of liverwort PA cells using microtiter dishes

Conc. (μg /well) ¹⁾	Chlorophyll content (%) of liverwort PA cells treated by							
	<i>Polygonum avicular</i>		<i>Polygonum hydropiper</i>		<i>Chenopodium album</i>		<i>Portulaca oleracea</i>	
	W ²⁾	A ³⁾	W	A	W	A	W	A
	(μg /well)							
100	35.4	34.4	31.0	29.8	37.6	32.0	35.4	32.9
200	34.4	29.5	25.8	21.2	34.4	25.6	33.1	26.8
300	33.5	28.5	21.0	14.5	29.5	22.0	32.5	23.6
Untreated control	51.0	51.0	— ⁴⁾	—	—	—	—	—

¹⁾ Plastic microtiter dishes containing with 1.5ml liverwort PA cell suspension per well were loaded under aseptic condition with extracts from weed species

²⁾ Extracts by water

³⁾ Extracts by 70% MeOH

⁴⁾ No measurement

Table 5. Effect of water and alcohol extracts from weed species on photosynthetic oxygen evolution of liverwort PA cells in terms of PI_{50} values¹⁾

Extracts	Inhibition in photosynthetic oxygen evolution(%)				
	50	100	150	300	450 ³⁾
water extracts from					
<i>Polygonum aviculare</i>	— ²⁾	—	0	8	37
<i>Polygonum hydropiper</i>	—	—	5	60	100
<i>Chenopodium album</i>	—	—	0	33	48
<i>Portulaca oleracea</i>	—	—	0	8	33
MeOH extracts from					
<i>Polygonum aviculare</i>	0	27	36	74	100
<i>Polygonum hydropiper</i>	16	45	82	100	100
<i>Chenopodium album</i>	0	40	68	100	100
<i>Portulaca oleracea</i>	0	25	52	95	100

¹⁾ PI_{50} = The negative logarithms of mole concentration required or 50% inhibition.

²⁾ No measurement

³⁾ Conc. (mℓ) of extracts.

70% MeOH 추출액이 광합성 산소 발생 억제 효과가 높았다.

수용 추출액의 경우 마디풀, 쇠비름, 명아주, 여뀌 순으로 광합성 산소 발생 억제 효과가 높게 나타났으며, 특히 여뀌의 경우 반응용액 3ml 반응시 60%, 450 μ l 반응시 100% 산소발생 억제효과를 나타내었다. 70% MeOH로 추출시 잡초종간의 산소 발생효과는 비슷한 경향이었으나 각각의 억제 정도는 상당히 높았고, 특히 명아주, 쇠비름의 경우 추출액 150 μ l 반응시 수용 추출액에서는 0%이었으나, MeOH 추출액에서도 각각 68,52%의 높은 광합성 산소 발생 억제를 나타내었다.

考 察

식물에 대해서 phytotoxin을 나타내는 화합물의 배양세포에 대한 작용성은 녹색 켈러스가 백색 켈러스에 비하여 광합성 저해제에 감수성이 높고 식물체와 유사한 반응을 나타내고 있다고 한다¹⁴⁾. 녹색배양세포는 탈분화 세포이면서 광합성 기능을 가지고 있는 세포이다. 녹색 배양세포로부터 광합성 기능을 바꾸기 위하여 이용하는 경우 이 세포의 생리적 기능이 엽육세포와 동질성을 보이며, 특히 담배 광학적 자가 영양세포는 틸라나 구

조의 발달이 현저했으며, 엽록체 성분으로서 생중량 엽록소의 함량이 녹엽의 1/10정도로서 낮았지만 기존의 세포에 비해 높은 함량을 나타내고 있으며, 광화학계 활성은 녹엽의 1/2로 상당히 높아 녹색 배양세포가 광합성 저해제 검정시 중요한 소재가 될 수 있다는 것을 나타내고 있다.

녹색배양 세포가 종속 영양 세포에 비해 PET 저해형 약제에 대하여 200배 이상의 높은 감수성을 가지는데 비하여 2, 4-D와 같은 호르몬 작용형 제초제들은 감수성의 차가 낮았다. 또한 PA세포는 담배 종자발아 실험과 비교하여 보아도 양호한 감수성을 나타내고 있으며(표 1), 특히 우산이끼 PA세포가 약제 농도간의 범위가 가장 좁게 나타났었다(그림 1). 이는 녹색배양세포가 엽록체에 직접 작용하는 약제에 대한 검정시 양호한 소재가 될 수 있다는 것을 보여 주는 것으로 생각되며, 특히 우산이끼 PA세포는 세포간의 균일성이 매우 양호하여 다소 PA세포가 덩어리 상태로 있는 담배 PA세포에 비하여 약제 실험시 양호한 소재로 생각된다.

본 연구에서 PET 저해 약제 종류들은 힐 반응에서 뿐만 아니라 PA세포를 이용한 광합성 산소 발생에서 강한 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다(표 2). 이러한 결과는 지금까지 분리된 틸라코이를 사용한 힐 반응 분석이 단리된 엽록체에 적

당한 산화제(A)를 첨가하여 광을 조사할 경우 물의 가수분해로부터 산소의 발생과 산화제 A의 환원이 동시에 일어나는 원리를 이용하여 PET 저해제를 발견하는데 효과적이라고 알려져 있지만 실제 생체내의 분석과는 틸라코이드내의 투수성, 불안정성에 의해서 야기된 활성의 차이때문에 매우 낮은 상관을 이루고 있는 점으로 미루어 보아 PA 세포를 이용하면 제초제의 대부분을 차지하는 광합성 전자전달 저해형 약제에 대한 민감하고 간단한 검색수단이 될 수 있다고 생각된다.

매년 1500여종의 물질이 식물체로부터 추출, 분리되고 있고, 이 가운데 300여종이 생리활성을 가진 물질로 평가되고 있으며²⁾ Rice¹⁰⁾는 약 75종의 잡초가 상호대립 억제 작용 물질을 함유하고 있다고 보고한 바 있다. 본 실험 결과(표 3)에서 4종의 잡초에서 추출액 5% 이상의 발아 실험에서 50% 이상의 종자 발아억제를 보여 공시된 재료내의 미지의 상호대립 억제물질이 존재한다고 생각되며, 각 추출물 10% microtiter dishes를 이용한 엽록소 함량을 조사한 결과(표 4)와 광합성 산소 발생 억제 효과를 조사한 결과(표 5) 엽록소 함량이 적은 수용 및 알콜 추출액에서 PA세포를 이용한 광합성 산소발생이 억제되었다. 이는 chlorophyll 함량과 광합성 산소 발생과는 밀접한 관계가 있다는 것을 보여주며 종자 발아 실험에서 발아 억제율이 상당히 높았던 여뀌의 경우(표 3) 산소의 발생 억제 효과가 높았으나(표 5) 공시된 잡초 모두가 이러한 경향을 보이지는 않고 있다. 또한 수용 추출액에 비하여 알콜 추출액이 종자발아 억제효과 보다 광합성 산소 발생 억제효과가 상당히 높게 나타났다. 이는 알콜 추출시 PET를 저해하는 물질의 추출이 많다고 생각되며 이는 PA세포가 PET 저해형 약제에 대해서만 검색수단이 될 수 있기 때문으로 생각된다. 특히 담배(*Nicotiana tabacum* L. Samsun, NN) 광 독립영양 배양 세포를 이용한 제초제와의 상관은 PA세포가 ($r=0.72$)로 다른 PM배양 세포($r=0.59$) 타가 영양 배양 세포($r=0.28$)로 미루어 보아, 우산이끼 광 독립 영양배양 세포를 이용한 수용 및 알콜 추출액에서 모두 광합성 산소 발생 억제효과가 매우 높았던 여뀌는 PET를 저해하는 물질을 많이 함유

하고 있는 것으로 생각된다.

摘 要

광합성 전자전달 억제물질에 대한 빠른 검색 방법을 모색하기 위하여 녹색배양 세포인 광학적 자가 영양세포(PA)를 이용하여 실용화된 제초제 및 4종의 잡초 추출액으로부터 PA세포의 반응을 조사하였다.

녹색배양 세포인 담배 및 우산이끼 PA세포는 타가 영양세포에 비하여 광합성 전자전달 저해형 제초제들은 700배 이상 높은 감수성을 나타내었으며 호르몬 작용형 제초제인 2, 4-D는 감수성의 차가 8배로 낮게 나타났다.

우산이끼 PA세포는 약제 농도간의 범위(0.01~0.9 μ M)가 좁아 약제선발시 타 배양 세포에 비하여 좋은 재료임을 암시하였으며, 광합성 전자전달 저해약제에 대해서 힐(hill)반응과 동일하게 광합성 산소발생 억제정도인 PI_{50} 에서 강한 활성을 나타내었다. 잡초 중 여뀌 추출액 10% 처리시 PA배양 세포의 엽록소 함량이 가장 낮았고, 광합성 산소발생 억제율이 가장 높았다. 수용 및 MeOH액으로 추출한 10% 여뀌 추출액을 반응용액 3ml에 300 μ l 반응시 우산이끼 PA배양세포에 대해 각각 60%, 100% 광합성 산소발생 억제효과가 있었다. 이상의 결과에서 PA 세포들은 광합성 전자전달 저해형 약제에 대하여 빠르고 민감한 검색수단으로서 좋은 재료가 될 수 있다고 생각한다.

引 用 文 獻

1. Alsaadawi, S.I. and E.L. Rice. 1982. Allelopathic effect of *Polygonum aviculare* L. Isolation, characterization and activities of phytotoxines. Chem. Ecology 8(7) : 1011-1028.
2. Allan, E. J. and W. Fowler. 1985. Biologically active plant secondary meth-

- abolites prospectives for the futher. Chemistry and Industry : 408-410.
3. Aron, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiol. 24 : 1-15.
 4. Cseplo, A and P, Medgyesy. 1986. Planta. 168 : 24-28.
 5. Del Moral. 1972. On the variability of chlorogenic acid. Oecologia 9 : 289.
 6. Dieterman, L.J. 1964. Accumulation of ayapin and scopolin in sunflower plant treated with 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid Archiochem. Biophys : 106-275.
 7. Heisey, R.M. and C.C. Delwiche. 1985. Allelopathic effects of *Trichostema lanceolatum*(labiatae) in the california annual grass. J. Ecology 73 : 729-742.
 8. Jutta Thjemann, Arnold Nieswandt, and Wolfgang Barz. 1989. A microtest system for the serial assay of phytotoxic compounds using photoautotrophic cell suspension cultures of *Chenopodium rusru*. Plant Cell Reports 8 : 399-402.
 9. Kwak, S.S., K. Ichinose, S. Yoshida, N. Takabashi, N. Sato and Y. Yamada. 1988. Photoautotrophic cells as a screening system for herbicide inhibiting PET. Abstract, Annual meeting of the society for chemical regulation of plants(Sendai, Japan) p.90
 10. Rice, E.L. 1984. Allelopathy(second edition) : 1-103, 231-361, Academic Press, Inc. Orlanddo, Florida
 11. Sato, F., S. Takeda and Y. Yamada. 1987. A comparison of effects of several herbicides on photoautotrophic, photomixotrophic and heterotrophic cultured tobacco cells and seedling. Plant Cell Reports 6 : 401-404
 12. Sato, F., K. Asada and Y. Yamada. 1989. Photoautotrophy and the photosynthetic potential of chlorophyllous cells in mixotrophic cultures. Plant Cell Physiol., 20 : 193-200.
 13. Williams, R.D. and R. E. Hoagland. 1982. The effects of naturally occurring phenolic compounds on seed germination. Weed Sci., 30 : 206-212
 14. Zilkah, S., P.F. Bocion and J. Gressel. 1977. Plant and Cell Physiology 18 : 657-670