

人蔘 Thylakoid Membrane의 Lipid Peroxidation

양 덕 조

충북대학교 자연과학대학 생물학과
(1990년 7월 27일 접수)

Lipid Peroxidation of Ginseng Thylakoid Membrane

Deok-Cho Yang

Department of Biology, College of Natural Science, Chungbuk
National University, Cheongju 360-763, Korea

(Received July 27, 1990)

Abstract □ In order to elucidate the mechanism of the leaf-burning disease of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer), the relationships between thylakoid membrane peroxidation and chlorophyll bleaching were investigated in comparison with the ones of soybean (*Glycine max* L). When I measured the rate of lipid peroxidation in the thylakoids of ginseng and soybean by irradiation of light (60 w.m^{-2}), it was identified that the remarkably lower rate of lipid peroxidation was found in the ginseng thylakoid than the case of soybean. When lipid peroxidation of ginseng thylakoid was induced in the dark, chlorophyll contents of thylakoid was not changed. The results suggest that lipid peroxidation does not affect the chlorophyll bleaching in ginseng thylakoid. Thylakoid membrane peroxidation as well as chlorophyll bleaching was closely related with photosynthetic electron transport. But, according to the quenching experiment active oxygen species induced lipid peroxidation may be different species in the case of chlorophyll bleaching.

Keywords □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, thylakoid, lipid peroxidation, photosynthetic electron transport, pigment bleaching.

서 론

Membrane의 lipid peroxidation은 식물체에 처리한 수종의 herbicide와 phytopathogenic microorganism에 의해 유도되는 대표적인 생화학적 반응 중의 하나이며, 세포내 photosensitization을 통해 나타나는 생체막의 oxidative photodegradation 현상으로써 잘 알려져 있다.¹⁻⁴⁾ 식물조직에서 membrane lipid는 singlet oxygen($^1\text{O}_2$), superoxide radical($\text{O}_2^{\cdot-}$) 및 hydroxy radical(OH^{\cdot})과 같은 oxygen species(또는 li-

poxigenase, peroxidase와 같은) 酵素반응을 통하여 peroxidation이 유발되며,⁵⁻⁷⁾ lipid peroxidation을 연구하는 model system으로는 ascorbate- Fe^{2+} , Cu^{2+} , $-\text{H}_2\text{O}_2$, peroxidase- H_2O_2 등의 조합이 이용되고 있다.⁸⁾

Lipid peroxidation이 식물조직에 미치는 영향은 lipid peroxide가 pigment bleaching을 포함한 생체물질의 산화작용을 촉진하고, membrane lipid가 peroxidation 됨으로써 membrane permeability 및 fluidity가 변화되는데 그 결과로서 세포 또는 소기관에 존재하는 solutes의 누출(leakage) 및 정상적인 membrane 기능을 저하시킨다.⁹⁻¹¹⁾ 식물체에서 lipid의 photoperoxidation은 $\text{O}_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} 와 같은 radical(type

BSRI-90-416

本研究는 1990年度 文敎部 基礎科學育成 研究費 支援에 의한 것임

I reaction)을 경유하여 lipid peroxidation이 유도되거나, 1O_2 (type II reaction)과 직접 반응하여 hydroperoxide(ROOH)가 형성된다.¹²⁾ 생체내에서 lipid peroxide는 peroxidase[EC. 1. 11. 1. 7.], glutathione peroxidase[1. 11. 1. 9] 및 reductase와 같은 항산화 효소계에 의해 환원될 수 있으며, 이러한 경우에 polyunsaturated fatty acid(PUFA)가 특히 1O_2 에 대한 quencher로써 작용할 수 있다.^{4,13)}

人蔘이 태양 직사광선에 노출되었을 때 유발되는 chlorophyll bleaching은 엽록체에서 1O_2 이 광화학적 으로 생성되어 파괴된다고 보고되어 있으며,¹⁴⁻¹⁷⁾ 엽록체의 envelope 및 thylakoid membrane의 구조 또는 기능적 저하를 유발시킬 수 있는 lipid photoperoxidation이 葉燒病의 chlorophyll bleaching에 과정에서 직접, 또는 간접적으로 연관되어 있음을 배제할 수 없다.

본 연구에서는 人蔘葉燒病의 chlorophyll bleaching 현상과 thylakoid membrane의 peroxidation 특히 photoperoxidation과의 상호 관계를 밝히기 위하여, lipid photoperoxidation에 대한 quenching 실험과 광합성 전자전달계의 electron donor/acceptor 및 inhibitor와 heavy metal 처리에 따른 peroxidation 율과 chlorophyll의 bleaching 율을 비교, 조사하였다.

재료 및 방법

供試試料

본 실험에 사용한 高麗人蔘(*Panax ginseng* C. M. Meyer)은 苗蔘(생체중; 1.5g)을 光量 및 온도가 조절되는 growth chamber(30°C, 20 KLux)와 일반관행법¹⁸⁾에 준하여 재배하였으며, 콩(*Glycine max*)은 본 실험실의 일복된 야외포장에서 재배된 것을 사용하였다.

Thylakoid membrane 분리

시료 10g fw.을 Sun¹⁹⁾와 Camm, Green²⁰⁾의 방법에 준하여 thylakoid membrane을 분리하였다. 채취된 잎을 2mm로 자른 뒤 cold buffer[25 mM Tricine-NaOH(pH 7.6), 0.4M sucrose, 1 mM NaCl]로 마쇄한 후 8겹의 gauze로 여과, 원심분리하여 intact chloroplast을 얻었다. Chloroplast을 lysis하기 위하여 low osmotic buffer[25 mM Tricine-NaOH(pH 7.6), 1 mM KCl, 5 mM MgSO₄, 0.1% BSA]로 lysis한 후

12,000×g에서 원심분리 한 후 같은 buffer로 pellet을 재현탁하여 thylakoid membrane suspension을 얻는다. Thylakoid membrane 분리에 사용된 buffer는 proteinase inhibitor[3 mM ρ -aminobenzamide, 1 mM phenylmethylfonylfluorid, 4 mM ϵ -amino-n-carproic acid]가 함유되어 있다.

Lipid peroxidation 측정

Thylakoid membrane의 lipid peroxidation은 Ottolenghi²¹⁾의 thiobarbituric acid assay에 준하여 malondialdehyde의 생성으로 측정하였다. 光처리가 끝난 2 mL thylakoid membrane suspension에 0.6 mL 5 N HCl, 1.2 mL TCA 그리고 1% 1.2 mL 2-thiobarbituric acid를 첨가한다. 반응물을 혼합한 후 10분 동안 80°C에서 중탕시킨 후 ice에서 cooling시킨 다음 5분 동안 10,000×g에서 원심분리하여 상등액의 흡광도 값을 spectrophotometer[Hitachi U-3400], λ 532 nm에서 측정하였다. 형성된 malondialdehyde는 extinction coefficient($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)을 이용하여 계산하였다. 光量은 fluorescence lamp로 $60 \text{ w} \cdot \text{m}^{-2}$ [20 KLux]로 맞추었고 25 mg chl $\cdot \text{L}^{-1}$ 해당되는 thylakoid membrane suspension을 사용하였다.

Electron transport inhibitor와 acceptor 및 heavy metal의 영향

Lipid peroxidation에 미치는 electron transport inhibitor와 acceptor 및 heavy metal의 영향을 알아보기 위하여 electron transport inhibitor인 DCMU (50 μ M), KCN(5 mM), Carbonyl cyanid chlorophenylhydrazone[CCCP](10 μ M), Dibromomethyl isopropylbenzoquinone[DBMIB](10 μ M)와 electron acceptor인 DCPIP(0.1 mM), Fe-Cyanid(3 mM), Dimethylbenzoquinone[DMBQ](0.5 mM)를 처리하였다. 그리고 heavy metal로 MnSO₄(3 mM), CuSO₄(3 mM), ZnSO₄(3 mM), FeSO₄(3 mM), CoCl₂(3 mM)을 사용하여 실험하였다.

항산화제 및 항산화효소의 영향

항산화제 및 항산화효소가 lipid peroxidation에 미치는 영향을 알아보기 위하여 항산화 물질로 2,5-Dimethylfuran[DMF](5 mM), 1,3-Diphenylisobenzofuran[DIF](10⁻⁴M), Glutathion(5 mM), Ascorbate(3 mM), d- α -Tocopherol(2 mM), β -Carotene(10⁻⁴M)를 처리하였으며, 항산화 효소로는 SOD(450 U/mL), catalase(300 U/mL), Peroxidase(300 U/

mL)을 사용하였다. Lipid peroxidation의 model system으로 사용되고 있는 Cu^{2+} (3 mM) - H_2O_2 (50 mM), ascorbate (0.1 mM) - Fe^{2+} ($50 \mu\text{M}$), peroxidase (300 U/mL) - H_2O_2 (50 mM)을 암상태에서 처리하였으며, chlorophyll 함량은 Arnon²²⁾의 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

人蔘과 콩으로부터 분리한 thylakoid membrane에 60 w/m^2 [20 KLux] 광을 照射하면서 membrane peroxidation을 조사한 결과, 콩 thylakoid에서 peroxidation을 현저히 높게 나타났는데 3시간 처리시 malondialdehyde 양은 人蔘과 콩이 각각 7.27, 62.85 nM mg chl⁻¹로서 콩의 thylakoid에서 peroxidation이 8배 이상 높다는 사실을 확인하였다(Fig. 1). Thylakoid의 peroxidation을 chlorophyll bleaching과 비교해 보면 人蔘의 thylakoid peroxidation은 콩에 비하여 현저히 낮은 반면에 chlorophyll bleaching은 높음을 확인하였다. 엽록체에서 lipid peroxidation 즉 membrane destruction은 chlorophyll 파괴와 밀접한 관계가 있고,²³⁾ lipid peroxide 및 이로부터 유도되는 hydroxy radical은 직접적으로 chlorophyll을 파괴할 수 있다고 알려져 있다.²⁴⁾ 그리고 콩에서 lipid peroxidation율이 人蔘에 비하여 현저히 높음에도 불구하고, 그와 반대로 chlorophyll bleaching율은 비교적 낮다는 사실과 人蔘에서 chlorophyll bleaching이 80%까지 진행된 상황에서도 peroxidation율은 상당히 낮다는 사실을 주목해 볼 때 人蔘은 chlorophyll bleaching 과정에서 lipid peroxidation이 chlorophyll 파괴에 직접적으로 관여하지 않음을 알 수 있다. 이러한 현상은 photocybernetic effects에 의해 생성되는 oxygen species가 thylakoid membrane을 파괴하지 않고도 人蔘 chlorophyll bleaching chain의 방아쇠 작용을 하고 있음을 제시하여 주고 있다.

人蔘 thylakoid에서 membrane peroxidation이 직접적으로 chlorophyll을 bleaching시킬 수 있는지를 확인하기 위하여 암상태에서 peroxidation을 유발시키면서 chlorophyll 함량을 조사한 결과는 table 1에 제시하였다. Lipid peroxidation을 유발시키는 model system으로 PMS I [$\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$], PMS II [ascorbate- Fe^{2+}] 및 PMS III [peroxidase- H_2O_2] 조합을 이용하

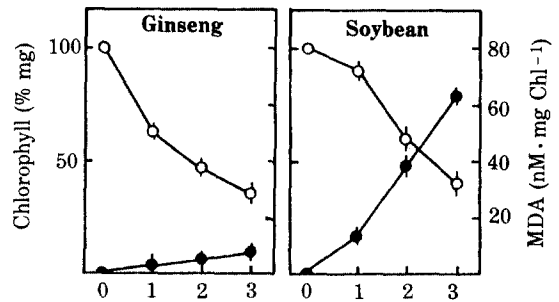


Fig. 1. Time course of thylakoid membrane peroxidation and chlorophyll bleaching induced by the treatment of light (60 w. m^{-2}) on the thylakoid membrane suspension (○: Chlorophyll, ●: Malondialdehyde)

였는데 각 system에 대한 人蔘과 콩의 thylakoid peroxidation 효율은 차이를 나타내었다. 人蔘 thylakoid에서 peroxidation율이 가장 높은 조합은 PMS I [$\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$]로써 광을 처리하였을 때 보다 3배 이상 높은 peroxidation율을 나타냈으며 chlorophyll 함량은 27% 감소하였다.

콩의 경우는 人蔘과는 달리 PMS II [ascorbate - Fe^{2+}] 조합이 가장 효과적이었으나 光처리에 비해 0.6배 정도의 peroxidation율을 나타내었고 chlorophyll의 파괴는 전혀 일어나지 않았다. PMS I [$\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$] system을 제외하고 나머지 두 system에서는 thylakoid의 peroxidation이 상당히 진행되었음에도 불구하고 chlorophyll의 파괴율은 1-7% 범위 내외로서 chlorophyll bleaching과 lipid peroxidation과는 상호 관계가 없음을 제시해 주고 있다. PMS I [$\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$] system에서 chlorophyll이 비교적 많이 파괴된 원인은 H_2O_2 의 autooxidation²⁵⁾에 의한 결과로 해석된다.

Membrane lipid의 peroxidation은 주로 $^1\text{O}_2$, O_2^- , OH^- 등과 같은 active oxygen species에 의해 유발되는데, 엽록체에서 active oxygen 생성은 대부분이 photosystem I과 II chlorophyll의 photosensitization과 광합성 전자전달계의 전자전달과정에서 주로 생성되기 때문에 thylakoid membrane peroxidation과 광합성 전자전달계와의 관계를 조사하여던 바 그 결과는 Fig. 2와 같다. 人蔘과 콩의 thylakoid에 광합성 전자전달계의 inhibitor를 처리한 후 광을 照射하면 DBMIB를 제외한 DCMU, KCN, CCCP, Triazine 처리구에서 공히 chlorophyll bleaching과 lipid peroxi-

Table 1. Effects of thylakoid membrane peroxidation on the chlorophyll bleaching. Peroxidation of thylakoid membrane was induced by the addition of $\text{Cu}^{2+}\text{-H}_2\text{O}_2$. Ascorbate [ASC]- Fe^{2+} , Peroxidase [PER]- H_2O_2 system in the dark

Peroxidation model system [PMS]	Ginseng		Soybean	
	Lipid peroxidation [MDA nM·mg chl ⁻¹]	Chlorophyll bleaching [mg chl]	Lipid peroxidation [MDA nM·mg chl ⁻¹]	Chlorophyll bleaching [mg chl]
DARK	0.45±0.05	0.00±0.00	0.88±0.41	0.00±0.00
PMS I. $\text{Cu}^{2+}\text{-H}_2\text{O}_2$	26.97±0.19	2.71±0.04	3.71±0.21	3.27±0.01
PMS II. ASC Fe^{2+}	7.36±0.31	0.11±0.07	39.32±0.84	0.11±0.08
PMS III. PER H_2O_2	13.07±0.44	0.84±0.04	6.53±0.62	0.68±0.13

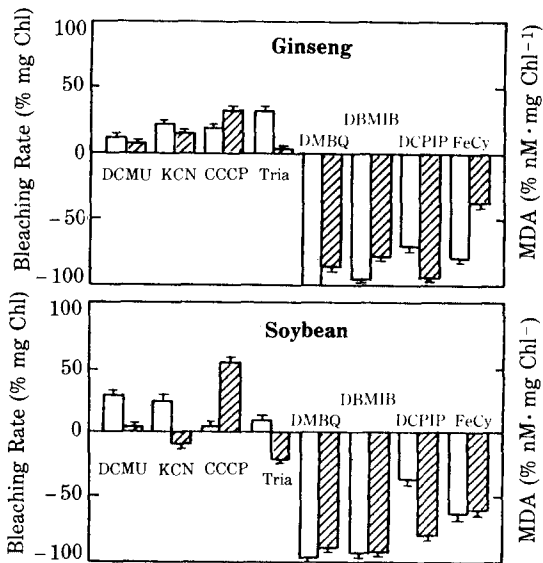


Fig. 2. Inhibition (-) and acceleration (+) effects of inhibitors and electron donors/acceptors of photosynthetic electron transport on the photoperoxidation of thylakoid membrane (□: Chlorophyll, ▨: Malondialdehyde)

oxidation이 증가였다. CCCP는 Tris와 마찬가지로 photosystem II의 oxidative side, 즉 물의 광분해과정의 inhibitor로써 작용하는데, CCCP는 두 식물에서 모두 비교적 높은 membrane peroxidation을 유발하였다. 그러나 photosystem II의 reductive side에서 bound-quinone(32 kD protein)에 결합하여 photoinhibition을 유발^{26,27)} 시키는 herbicide인 triazine은 人蔘 thylakoid에서 membrane peroxidation은 거의 유도하지 않았으나, chlorophyll bleaching 율은 34%로서 lipid peroxidation과 무관하게 chlorophyll이

파괴되고 있음을 보여 주고 있다. 광합성 전자전달계의 electron donor/acceptor의 처리효과는 이미 chlorophyll bleaching에 대하여 보고한 바와같이¹⁷⁾ membrane peroxidation과도 매우 밀접하게 연관되어 있음을 확인하였으며, 전자전달계가 활성화됨에 따라 대부분의 처리구에서 80% 이상의 현저한 억제효과를 나타내었다.

Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} 등과 같은 2가 금속이온들은 photolysis(Mn^{2+}), cytochrome(Fe^{2+}) plastocyanin (Cu^{2+}), metal-containing enzyme(superoxide dismutase, catalase, peroxidase 등)을 구성하는 필수성분일 뿐만 아니라 광합성 전자전달계의 활성화에 영향을 미치는 것으로 잘 알려져 있다.^{28,29)} 또한 heavy metal의 toxicity가 주로 lipid peroxidation³⁰⁾ 및 전자전달계의 활성화³¹⁾와 밀접하게 연관되어 있기 때문에 2가 금속이온 처리에 따른 thylakoid의 lipid peroxidation과 chlorophyll bleaching 율을 조사하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 제시하였다. Mn^{2+} 을 제외한 Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} 와 Co^{2+} 는 thylakoid의 peroxidation을 현저히 증가시키는 효과를 나타내었으며, 이와는 반대로 chlorophyll bleaching은 억제하였으나, Mn^{2+} 은 lipid peroxidation과 chlorophyll bleaching을 모두 억제하였다. Cu^{2+} 와 Zn^{2+} 는 Hill reaction과 O_2 evolution을 억제하여 식물체에 toxicity를 나타내는 금속이온으로써,^{29,32)} Cu^{2+} 와 Zn^{2+} 처리에 따른 membrane peroxidation 증가는 전자전달계의 활성화(특히 photosystem II)을 억제함으로써 나타나는 현상으로 생각된다. 그러나 Mn^{2+} 은 다른 금속이온들과는 달리, photolysis 즉 photosystem II의 oxidative side에서 electron donor로써 작용³³⁾ 하기 때문에 광합성 전자전달계를

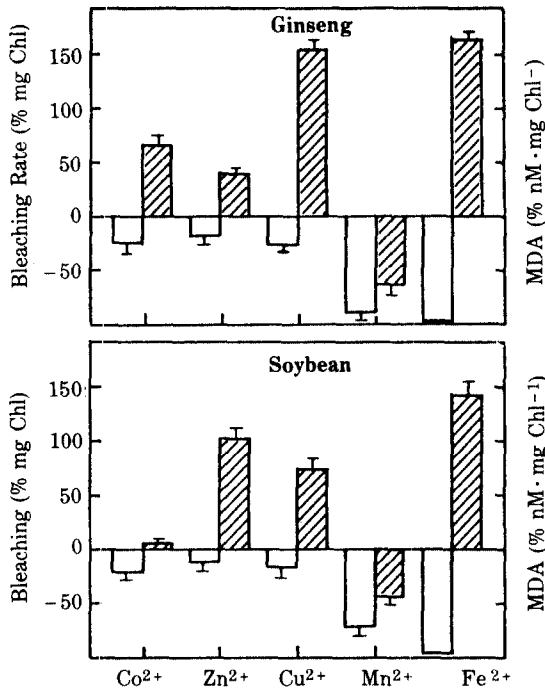


Fig. 3. Effects of divalent metal ions on the photoperoxidation of thylakoid membrane (\square : Chlorophyll, ▨ : Malondialdehyde)

활성화 시킴으로써 active oxygen의 생성을 억제하여 lipid peroxidation을 방지하는 것으로 생각된다. Chlorophyll bleaching에 대한 Mn^{2+} 및 Fe^{2+} 의 현저한 광산화 억제 효과는 reductant로써 전자전달체를 활성화시켜 강광하에서의 $^1\text{O}_2$ 생성을 억제하기 때문인 것으로 유추할 수 있다.

人蔘 thylakoid의 peroxidation을 유발시키는 active oxygen을 확인하고, lipid peroxidation에 대한 quenching 실험을 통하여 chlorophyll bleaching과 membrane peroxidation과의 관계를 밝히고자 active oxygen quencher와 항산화 酵素들을 처리하면서 chlorophyll bleaching 율 및 photoperoxidation을 비교, 조사하였다(Table 2). 人蔘과 콩의 thylakoid membrane peroxidation은 본 실험에서 사용한 모든 active oxygen scavenger 처리구에서 산화억제효과를 나타내었으며, 人蔘에서는 ascorbate와 d- α -tocopherol 처리구가 각각 56%와 84%로 가장 높았으며, 콩에서는 DMF와 d- α -tocopherol 처리구가 각각 23%와 31%로써 비교적 높았다. 그러나 chlorophyll bleaching에 대한 억제효과는 人蔘 thylakoid에서는 DMF와 ascorbate가 각각 65%, 88%로써 scavenger의 종류에

Table 2. Inhibitory effects of quenchers and antioxidative enzymes to active oxygen species on the photoperoxidation of thylakoid membrane

	Ginseng		Soybean	
	Lipid peroxidation [MDA nM · mg chl ⁻¹]	Chlorophyll bleaching [% mg chl]	Lipid peroxidation [MDA nM · mg chl ⁻¹]	Chlorophyll bleaching [% mg chl]
Light	13.67 ± 0.36	100.00 ± 0.00	50.76 ± 0.54 (100)	100.00 ± 0.00
Quenchers				
DMF	12.47 ± 0.47 (+9)*	34.55 ± 0.14	38.76 ± 0.73 (+24)	44.63 ± 0.07
DIF	12.57 ± 0.30 (+8)	84.71 ± 0.06	49.28 ± 0.5 (+3)	97.20 ± 0.12
GLU	11.22 ± 0.74 (+18)	55.34 ± 0.21	44.32 ± 0.77 (+13)	22.58 ± 0.04
ASC	6.00 ± 0.21 (+56)	11.39 ± 0.17	43.73 ± 0.67 (+14)	13.43 ± 0.31
α -TOC	2.01 ± 0.71 (+85)	78.02 ± 0.08	34.71 ± 0.53 (+32)	77.40 ± 0.09
β -CAR	11.75 ± 0.33 (+14)	85.81 ± 0.13	-**	94.18 ± 0.15
Enzymes				
SOD	14.57 ± 0.27 (-7)	97.11 ± 0.23	50.86 ± 0.38 (±0)	99.23 ± 0.07
CAT	14.69 ± 0.16 (-7)	94.86 ± 0.17	45.67 ± 0.12 (+10)	97.72 ± 0.14
PER	18.54 ± 0.39 (-36)	111.88 ± 0.3	68.25 ± 0.10 (-34)	100.87 ± 0.09
SOD+CAT	16.57 ± 0.08 (-21)	97.35 ± 0.07	49.68 ± 0.08 (+2)	88.33 ± 0.04
SOD+PER	17.28 ± 0.5 (-26)	112.96 ± 0.15	56.32 ± 0.84 (-11)	100.85 ± 0.27

*; Inhibition (+) and acceleration (-) rate (%), **; No detection

다른 차이를 나타내어 lipid peroxidation과 chlorophyll bleaching이 서로 다른 active oxygen에 의해 유도되고 있음을 암시해 주고 있다.

항산화 酵素인 superoxide dismutase(SOD), catalase와 peroxidase를 단독 및 복합처리하여 lipid peroxidation과 chlorophyll bleaching을 조사한 결과 (Table 3), 人蔘에서 peroxidase와 SOD-peroxidase 처리구에서 lipid peroxidation은 각각 35%, 26%가 증가하였으며, chlorophyll 파괴는 10% 정도 촉진시키는 효과를 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 强光 하에서 유발되는 人蔘 thylakoid membrane의 photoperoxidation은 직접적으로 chlorophyll bleaching에 영향을 미치지 않으나, 콩의 경우는 光처리 2시간 후에 chlorophyll bleaching과 lipid peroxidation이 공히 급격하게 증가하는 결과로 미루어 볼 때 lipid가 peroxidation됨으로 해서 간접적으로 chlorophyll bleaching을 촉진할 수 있음을 제시하고 있다. Thylakoid의 photoperoxidation은 광합성 전자전달계의 활성도에 매우 밀접한 관계가 있으며, 이러한 peroxidation에 관여하는 active oxygen species의 종류는 人蔘과 콩사이에서 차이가 있음을 제시하고 있으며, 특히 人蔘에서 DMF의 quenching 효과가 10% 미만으로써 chlorophyll bleaching과는 달리 1O_2 이 아닌 다른 oxygen radical이 人蔘의 membrane peroxidation에 관계하고 있음을 나타내고 있다.

요 약

人蔘葉燒病의 원인 구명을 위한 연구의 일환으로 人蔘 thylakoid membrane에서 lipid peroxidation이 chlorophyll bleaching에 미치는 영향을 조사하였다.

光상태에서 人蔘 thylakoid membrane의 lipid peroxidation 율은 콩에 비하여 현저히 낮았으며, 암상태에서 lipid peroxidation을 유발시켜 chlorophyll bleaching 율을 조사한 결과 人蔘 thylakoid membrane의 peroxidation과 chlorophyll bleaching과는 상호 연관성이 없음을 확인하였다.

Thylakoid의 membrane peroxidation은 chlorophyll bleaching과 마찬가지로 광합성 전자전달계의 활성과 밀접한 관계가 있었으며, quenching 실험에서 chlorophyll bleaching과는 달리 singlet oxygen(1O_2)

이 아닌 다른 oxygen radical에 의하여 주로 peroxidation이 유발됨을 알 수 있다.

인용문헌

1. Kenyon, W.H. and Duke, S.D.: *Plant Physiol.*, **79**, 862 (1985).
2. Schmidt, A. and Kunert, K.J.: *Plant Physiol.*, **82**, 700 (1986).
3. Daub, M.E.: *Plant Physiol.*, **69**, 1361 (1982).
4. Elstrer, E.F.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 73 (1982).
5. Badway, J.A. and Karnovsky, M.L.: *Ann. Rev. Biochem.*, **49**, 695 (1980).
6. Luthy, B., Matile, P. and Thomas, H.: *J. Plant Physiol.*, **123**, 169 (1986).
7. Fukozawa, K., Takase, S. and TsukaTan, H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **240**, 117 (1985).
8. Miller, D.M. and Aust, S.D.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **271**, 113 (1989).
9. Pauls, K.P. and Thompson, J.E.: *Plant Physiol.*, **75**, 1152 (1984).
10. Fukuzawa, K., Chida, H., Tokumura, A. and Tsukatari, H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **206**, 173 (1981).
11. Weenen, H. and Porter, N.A.: *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 5216 (1982).
12. Vever-Bizet, C., Dellinger, M., Brault, Rougee, M. and Bensasson, R.V.: *Photochem. Photobiol.*, **50**, 320 (1989).
13. Kunert, K.J. and Duke, S.O.: *Plant Physiol.*, **79**, 862 (1985).
14. Yang, D.C., Chae, Q., Lee, S.J., Kim, Y.H. and Kang, Y.H.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**(1), 57 (1990).
15. Yang, D.C., Lee, S.T., Lee, S.J., Kim, Y.H. and Kang, Y.H.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **13**(2), 158 (1989).
16. Yang, D.C., Kim, M.W., Chae, Q. and Kim, M.S.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **13**(1), 98 (1989).
17. Yang, D.C., Yoo, H.S. and Yoon, J.J.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**, 91 (1987).
18. Kim, D.J.: *Korean Ginseng Culture*, Ilhan, Seoul, 47 (1973).
19. Sun, G., Bailey, D., Jones, M.W. and Markwell, J.: *Plant Physiol.*, **89**, 283 (1989).
20. Camm, E.L. and Green, B.L.: *Plant Physiol.*, **67**, 1061 (1981).

21. Ottolenghi, A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **79**, 355 (1959).
22. Arnon, D.I.: *Plant Physiol.*, **24**, 1 (1949).
23. Martinoia, E., Dalling, M.J. and Matile, Ph.: *Z. Pflanzen Physiol.*, **107**, 269 (1982).
24. Stewart, R.C. and Bewley, J.D.: *Plant Physiol.*, **65**, 245 (1980).
25. Yang, D.C., Yoo, H.S. and Yoon, J.J.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**(2), 101 (1987).
26. Powles, S.B.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 15 (1984).
27. Schutlen, G., Dewit, M., Stachelim, L.A. and Ohad, I.: *J. Cell Biol.*, **103**, 71 (1986).
28. Barr, R. and Crane, F.L.: *Plant Physiol.*, **57**, 450 (1987).
29. Hsu, B.D. and Lee, J.Y.: *Plant Physiol.*, **87**, 116 (1988).
30. Minotti, G. and Aust, S.D.: *J. Biol. Chem.*, **262**, 1098 (1987).
31. Singh, D.P. and Singh, S.P.: *Plant Physiol.*, **83**, 12 (1987).
32. Hampp, R., Beulich, K. and Zieglen, H.: *Z. Pflanzen Physiol.*, **77**, 336 (1976).
33. Cogdell, R.J.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **34**, 21 (1983).