

新規 합성화합물들이 cyanobacteria의 광합성전자전달계에 미치는 영향

황인택* · 김진석* · 조광연* · 요네야마 코이치** · 요시다 시게오***

The Effect of Newly Synthesized Compounds on the Photosynthetic Electron Transport of Cyanobacteria(*Anacystis nidulans* R₂)

Hwang I.T.*, J.S. Kim*, K.Y. Cho*, K. Yoneyama**, S. Yoshida***

ABSTRACT

The Inhibiting activity of newly synthesized phenol(E-series) and triazine(T-series) derivatives was evaluated by using thylakoid membranes extracted from cyanobacteria(*Anacystis nidulans* R₂). There were no significant differences between phenol derivatives and dinoseb to the thylakoid membrane extracted from wild type in the Hill reaction. However, a phenol derivative, E-24 which has no -Cl at phenyl ring, did not show any activity. The longer the length of R substituents was in phenol derivatives, the lower inhibiting activity was in the Hill reaction. Triazine derivatives, T-27, T-28, T-40, T-41, T-47 and T-48 were also compared with diuron and atrazine. Among triazine compounds, T-27 and T-28 showed 10 and 30 times activity as high as atrazine to wild type, respectively. Other triazine derivatives, T-40, T-41, T-47 and T-48 showed low inhibiting activity to wild and mutant type. A structural difference of T-27 and T-28 from T-40, T-41, T-47 and T-48 was the presenced of -C-NH-. Both T-27 and T-28 were very closely associated with serine, an amino acid located at the 264th position of D1 protein because of the resistant ratio(R/S) to mutant G-264 were higher than that of atrazine.

Key words : cyanobacteria, thylakoid membrane, Hill reaction, D1 protein, wild type, mutant, serine, G-264

서 언

금후 개발될 신규 제초제는 환경보호관점이 중시되면서 기존 약제보다 강력하고 광범위한 제초활성을 발휘하면서 동물에는 피해를 주지 않고 식물에만 특이적으로 작용하는 것이 요구되고 있

다. 따라서 이러한 약제를 개발하기 위해서는 동물에는 없고 식물에만 존재하는 생리과정을 작용점으로 할 때 그 가능성이 높아질 수 있기 때문에 약제 개발에 있어서 새로운 접근방법 소위 생합리적 접근방법(biorational approach)이 시도되고 있다. 즉 식물체에서의 기존제초제의 작용점 또는 가능성있는 작용점을 대상으로 화합물

* 한국화학연구소(KRICT, P.O. Box 9, Daedeogdanji, Daejeon 305-606, Korea)

** 일본우쓰노미야대학교(Weed Control Research Institute, Utsunomiya University, Mine-machi, Utsunomiya, Tochigi 321, Japan)

*** 일본이화학연구소(RIKEN, The Institute of Physical and Chemical Research, Hirosawa 2-1, Wako-shi, Saitama 351-01, Japan) <1993. 4. 27 접수>

의 결합부위, 결합특성 등을 파악하여 이를 토대로 새로운 화합물을 만든 후에 활성을 평가하고 보다 큰 조직 또는 기관으로 확대하여 전체 식물체를 대상으로 적용 확인하는 방법으로서 예를 들면 측쇄 아미노산의 생합성 효소인 acetolactate synthase와 같은 효소를 대상으로 하거나, 식물체에서만 일어나는 광합성 전자전달계가 위치한 thylakoid membrane과 같은 작용부위를 대상으로 스크리닝을 시작해서 전체 식물체에 적용 확인하는 방법이다¹¹⁾.

이러한 의미에서 식물체에만 존재하는 엽록체는 가장 큰 관심의 대상이 되고 있으며 엽록체에서는 광합성 이외에 색소생합성, 필수아미노산, 지방산생합성 및 질소대사 등이 진행되는 곳으로 매우 중요한 기능을 보유하고 있다²⁾. 또한 현재 개발된 제초제의 50% 이상이 직접, 간접적으로 엽록체를 공격하여 활성을 나타내고 있으며, 특히 광합성 전자전달저해제의 경우 엽록체의 thylakoid membrane에 있는 D₁ 단백질(32KD)이 약제의 수용부이며 이의 아미노산 배열까지 밝혀져 있기 때문에 D₁ 단백질과 저해제간의 결합양식 및 구조활성 연구를 토대로 새로운 화합물을 개발하려는 시도가 다른 작용점에 비해서 많이 진행되고 있다. 이에 따라 많은 정보가 축적되어 있다^{9,12,13)}.

따라서 본 연구는 cyanobacteria의 광합성 전자전달계를 대상으로 하는 생합리적 스크리닝 방법을 이용하여 몇가지 합성화합물에 대한 전자전달 저해활성을 측정하여 구조활성간의 특징을 찾고, thermoluminescence를 통해서 결합부위를 비교 연구하였다.

재료 및 방법

Thylakoid membrane의 준비: 광합성박테리아의 일종인 cyanobacteria 표준형(wild type)과 D₁ 단백질의 아미노산 변이주인 Di-1, G-264, D-5, Di-22 등 4종의 균주를 BG-11 영양액³⁾으로 대량 배양한 후 이를 원심분리(35°C, 10min., 3,700g)하여 배양액으로부터 cyanobacteria를 분리하였다. Cyanobacteria로부터 thylakoid membrane의 준비는 전보¹⁴⁾

에서와 같이 소량의 완충용액(표 1의 medium 1)을 이용하여 원심분리(35°C, 10min., 4,800g)한 후 다시 上澄液을 버리고 Paterson과 Arntzen⁸⁾의 방법에 준해서 분리하였다. 먼저 35°C의 0.4M mannitol용액(medium-2)을 가해서 현탁액 중의 chlorophyll 최종농도가 0.25 mg/ml가 되도록 희석하였다. 현탁액 중에 lysozyme(EC, 3, 2, 1, 17 Grade-1, Sigma 시약)과 EDTA(medium-3)를 각각 최종농도 1.5mg/ml와 2mM이 되도록 넣고 10초간 흔들어진 다음 35°C shaking water bath에서 암조건으로 2시간 반응시켜 엽록체막을 파괴시켰다. 그 후 원심분리(35°C, 10min., 12,000g)로 thylakoid membrane을 침전시키고 여기에 100ml의 medium-2를 가하여 현탁시킨 후 다시 원심분리(35°C, 10min., 12,000g)하였다. 분리되지 않은 세포벽을 분해시키기 위해서 4ml의 medium-2를 가하여 현탁시킨 후 MgCl₂용액(medium-5) 0.3ml와 DNase-I 2-3방울(medium-6), 2M sucrose용액(medium-7) 15ml를 넣고 0°C로 보존된 HEPES buffer(medium-4)용액으로 전체가 60ml가 되도록 한 다음 5분간 35°C에서 shaking하였다. 이를 원심분리(0°C, 15min., 36,000g)하고, 또다시 1M sucrose(medium-8)용액을 가하여 현탁시킨 후 2-3회 원심분리(0°C, 15min., 36,000g)하여 정제하였다. 원심분리가 끝난 후 남은 thylakoid membrane 침전물에 3-5ml의 0.5M sucrose(medium-9)용액을 가하여 현탁시킨 후 chlorophyll함량을 측정¹⁾하고 이를 분리된 thylakoid membrane으로 실험에 사용하였다. 나머지는 액체질소 중에 보관하면서 다음 실험에 이용하였다.

화합물 및 Hill반응 측정: 실험 화합물의 구조는 그림 1, 2에 나타내었고, 그림 1에서 R위치를 각각 E-20, -21, -22, -23, -24와 같이 치환시킨 5개의 phenol화합물과, 그림 2의 R위치를 각각 T-27, -28, -29, -30, -31, -32와 같이 치환시킨 6개의 triazine화합물을 대상으로 Hill 반응 저해활성을 측정하였는데 전보¹⁴⁾에서와 같이 2, 6-dichlorophenol-indophenol(DCPIP)를 기질로 하는 비색법을 사용하였다.

Table 1. Compositions of media for extracting thylakoid membrane from cyanobacteria.

Medium 1.	Potassium phosphate buffer solution : 50mM (pH 6.8)
Medium 2.	Mannitol solution : 0.4M mannitol solved in 50mM potassium phosphate buffer (pH 6.8)
Medium 3.	EDTA stock soln. : 200mM EDTA solved in potassium phosphate buffer (pH 6.8)
Medium 4.	HEPES buffer soln. : 20mM HEPES (pH 7.0) ... Keep in 0.5°C
Medium 5.	MgCl ₂ stock soln. : 1M MgCl ₂ solved in 20mM HEPES buffer (pH 7.0)
Medium 6.	DNase-1 stock soln. : 5mg/5ml ... Keep in 0-5°C
Medium 7.	Sucrose solution(1) : 2M sucrose and 40mM MgCl ₂ solved in 200mM HEPES buffer solution (pH 7.0)
Medium 8.	Sucrose solution(2) : 1M sucrose and 10mM MgCl ₂ solved in 50mM HEPES buffer solution (pH 7.0)
Medium 9.	Sucrose solution(3) : 0.5M sucrose and 10mM MgCl ₂ solved in 50mM HEPES buffer solution (pH 7.0)

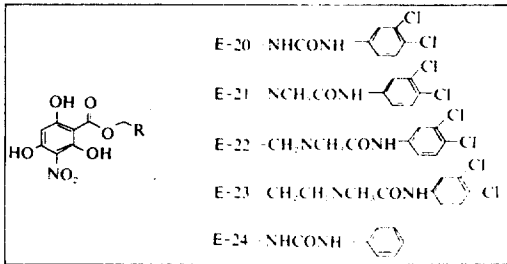


Fig. 1. Structure of phenol derivatives used in the Hill reaction.

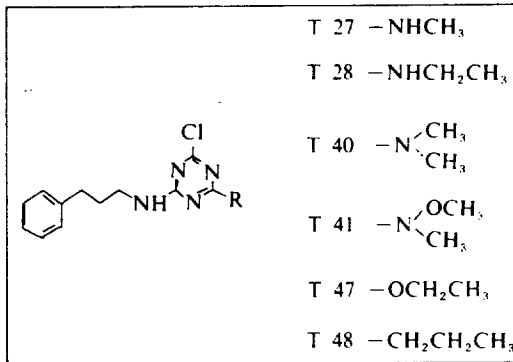


Fig. 2. Structure of triazine derivatives used in the Hill reaction.

반응혼합액(20mM methylamine, 50uM DCPIP, 10mM NaCl)을 녹인 10mM HEPES buffer pH 7.0) 1.9ml씩 1회용 spectrophotometer cell(Kartel cuvettes)에 넣고 합성한 화합물을 methanol에 용해시켜 20μl씩 처리하였다. 여기에 50mM potassium phosphate buffer (medium-1) 용액으로 thylakoid membrane 현탁액을 0.1mg.chl./ml 농도로 희

석시켜 80μl씩 첨가하여 전체가 2ml가 되도록 한 후, 광(5,000Lux)을 照射시켜 반응을 진행시켰다. 반응시작 5분 후 발생된 H⁺에 의해서 지시약(전자흡수체) DCPIP가 변화되는 색상을 spectrophotometer를 이용하여 590nm에서 흡광도를 측정하였다^{4,6)}. Dinoseb, diuron, atrazine을 대조약제로 사용하였다.

Thermoluminescence를 이용한 결합부위의 비교실험 : 열발광장치는 크게 여기장치(섬광발생장치), 냉각장치, 가온장치, 전자수 측정장치, 발생에너지 측정장치, 기록장치로 구분되어 있는 일본 이화학연구소 태양광에너지연구실의 자체 조립장치를 이용하였다. 실험방법은 전보¹⁴⁾에서와 같이 1cm²의 filter paper에 thylakoid membrane suspension을 분산 흡수시키고 합성 화합물을 methanol에 용해 희석하여 처리한 후 암조건에서 10⁻⁷초 동안의 섬광을 照射시킨 직후 액체질소에 넣어 -190°C 정도로 급격하게 온도를 내리고 다시 +80°C 까지 서서히 올려주면서 나타나는 열발광 peak를 조사하였다⁵⁾.

결과 및 고찰

Phenol 화합물과 urea유도체를 결합시킨 화합물(Fig. 1)의 Hill반응 저해활성을 diuron 및 dinoseb과 비교하였고, triazine계열 화합물(Fig. 2)의 Hill반응 저해활성을 atrazine과 비교하였다. 먼저 urea유도체와 phenol구조의 복합화합물 5종류를 조사하였는데, 그림 5에서 R 치환체로 E-20, E-21, E-22, E-23, E-24를

Table 2. Responses of the Hill reaction in thylakoid membrane extracted from cyanobacteria as affected by several phenol derivatives.

Compounds	Wild	50% inhibition concentration (M)		
	Type I ₅₀ (M)	Di-1 264Ser. → Ala	G-264 264Ser. → Gly	Di-22 255Phe. → Leu. 264Ser. → Ala.
Diuron	2.2 × 10 ⁻⁸	2 × 10 ⁻⁶ (100)	4.8 × 10 ⁻⁷ (20)	3.2 × 10 ⁻⁵ (1500)
Dinoseb	1.4 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁷ (0.2)	8.5 × 10 ⁻⁷ (0.6)	2.3 × 10 ⁻⁶ (1.6)
E 20	1.8 × 10 ⁻⁷	3 × 10 ⁻⁷ (1.7)	4.7 × 10 ⁻⁶ (26)	1.6 × 10 ⁻⁷ (1)
E 21	2.6 × 10 ⁻⁷	6.5 × 10 ⁻⁷ (2.5)	1.2 × 10 ⁻⁶ (50)	1 × 10 ⁻⁶ (4)
E 22	3 × 10 ⁻⁷	8 × 10 ⁻⁷ (2.7)	3 × 10 ⁻⁶ (10)	1.5 × 10 ⁻⁷ (0.5)
E 23	1 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁷ (0.3)	5.7 × 10 ⁻⁷ (0.6)	1.2 × 10 ⁻⁷ (0.1)
E 24	-	-	-	5 × 10 ⁻⁶

(Note) The values in parentheses are relative resistant ratio(R/S) calculated from the I₅₀ of relative resistant mutants and wild type.

연결시켰을 경우 Hill반응에 대한 효과는 wild type에 대해서 dinoseb과 비슷한 정도였다 (Table 2). 즉 urea 단독효과보다 phenol 화합물의 복합체 모두가 Hill반응 저해활성이 약하게 나타났다. 그러나 특기할 사항으로 치환기 R에 해당되는 urea유도체 가운데 phenyl ring의 Cl 치환기를 제거한 E-24 결합체에서는 Hill반응에 대한 저해활성이 거의 나타나지 않아 phenyl ring의 Cl 치환기 또는 이들의 복합체가 Hill반응에 대해서 중요한 역할을 하는 작용기로 생각되었다⁷⁾. 또한 E-20으로 부터 E-23번까지에서 R 치환체의 길이가 길어질수록 Hill반응에 대한 저해활성이 감소되는 것으로 나타났다. 이는 phenol 구조와 치환체 구조에 각각 하나 또는 그 이상의 수용부가 존재하기 때문에 이들 간격이 멀어지면서 D₁ 단백질의 아미노산 수용부와 결합하기 어려워지는 것으로 추측할 수도 있는 결과였다.

따라서 D₁ 단백질의 264번 변이주 Di-1과 G-264에 대해서 이들 화합물의 Hill반응 저해활성을 측정한 결과 E-24 화합물은 wild type에서와 같이 저해활성을 전혀 나타내지 않았고, 변이주 Di-1에 대한 각 화합물의 Hill반응 50% 저해농도는 wild type에 비해 각각 1.7, 2.5, 2.7, 0.3배의 저항성을 보였다. 이에 대해서 dinoseb은 0.2배의 저항성을 보여 비슷한 정도였으나, diuron은 100배의 저항성을 보였다. 이는 실험 화합물의 경우 diuron의 수용부인 264번 위치와 상호 부합되지 않는 것으로 생각된다. 변이주 G

-264에 대한 반응성 비교에서도 유사한 경향으로 나타났으나, diuron이나 dinoseb보다 E-20, 21, 22 복합체의 저해활성이 감소되어 264번 위치의 glycine이 이들 화합물의 결합에 불리한 것으로 생각되었다. 255번 위치와 264번 위치가 동시에 치환된 변이주 Di-22에 대한 반응성을 비교할 경우 diuron에 대한 저항성을 가지고 있는 변

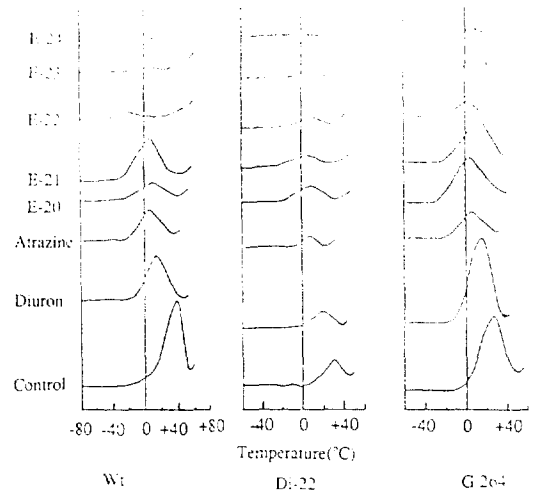


Fig. 3. Effect of phenol compounds on thermoluminescence glow peak

Sample thylakoids treated with 20 μM each of the inhibitors were illuminated with one flash at 0°C, rapidly cooled to -180°C, and then gradually warmed in darkness (0.8°C/sec).

Thermoluminescence during warming was recorded against sample temperature.

Table 3. Responses of the Hill reaction in thylakoid membrane extracted from cyanobacteria as affected by several phenol derivatives.

Compounds	Wild Type I_{50} (M)	50% inhibition concentration (M)		
		Di-1 264Ser. → Ala	G-264 264Ser. → Gly	Di-22 255Phe. → Leu. 264Ser. → Ala.
Diuron	2.2×10^{-8}	2×10^{-6} (100)	4.8×10^{-7} (20)	3.2×10^{-5} (1500)
Atrazine	3×10^{-7}	1.2×10^{-4} (400)	3×10^{-4} (1000)	2×10^{-6} (7)
T 27	3×10^{-8}	5×10^{-4} (17000)	4.2×10^{-5} (1400)	1.6×10^{-6} (50)
T 28	9.1×10^{-9}	2×10^{-4} (20000)	7.2×10^{-5} (8000)	2.2×10^{-7} (25)
T 40	6×10^{-5}	1.3×10^{-4} (2)	3×10^{-4} (5)	3×10^{-4} (5)
T 41	1.7×10^{-4}	4.6×10^{-5} (0.3)	2.5×10^{-5} (0.1)	1.9×10^{-6} (51)
T 47	4×10^{-7}	-	-	1.1×10^{-4}
T 48	4×10^{-5}	-	-	-

Note) The values in parentheses are relative resistant ratio (R/S) calculated from the I_{50} of relative resistant mutants and wild type.

이주임에도 불구하고 거의 변화가 없는 것으로 보아 urea 구조와 phenol 구조의 복합체는 구조 중에서 phenol부위에 의해 D_1 단백질의 아미노산 변이부에 대한 결합력이 상실되었거나, 화합물의 길이가 증대되어 결합부위의 틀과 부합되지 못하게 된 것으로 추측된다. 그러나 Hill반응 저해활성은 diuron과 dinoseb 단독처리보다 높게 나타났다.

실험화합물 중에서 E-20, 21, 22 화합물이 변이주 G-264에 대해서 미약한 저항성을 보여 diuron, dinoseb과 함께 열발광을 조사하였다. 그 결과 E-20은 diuron과 유사한 온도에서 peak를 보였지만 E-21, 22는 전혀 다르게 나타남으로써 서로 다른 결합부위를 가지는 것으로 추정할 수 있었고 (Fig. 3), E-20이 diuron과 가장 가까운 구조였던 점으로 미루어 볼때 phenol구조보다는 R 치환기의 길이가 증가됨에 의해 결합부위가 diuron의 결합부위로부터 멀어져 간다고 생각할 수 있었다. Wild type에 대해서는 이들 화합물들이 모두 diuron보다 Hill반응 저해활성이 약했지만 변이주 Di-22에 대해서는 저해활성이 강하게 나타나 (Table 2) D_1 단백질 내에서도 제조제 수용부는 다양하게 존재할 수 있음을 보여준 결과였다.

다음으로는 triazine 유도체 T-27, 28, 40, 41, 47, 48에 대한 반응성을 비교 조사하였다 (Table 3). 먼저 wild type에 대한 Hill반응 저해활성을 비교해 보면 대조약제 atrazine보다 T

-27은 10배, T-28은 30배의 높은 저해활성을 보였는데, 다른 화합물과 비교할 때 T-27, 28은 -C-NH-기를 가지는 구조적 특징을 보였다. 변이주들에 대한 반응성을 비교할 경우 264번 위치가 alanine으로 치환된 Di-1에 대해서 T-27은 17,000배, T-28 화합물은 20,000배의 저항성을

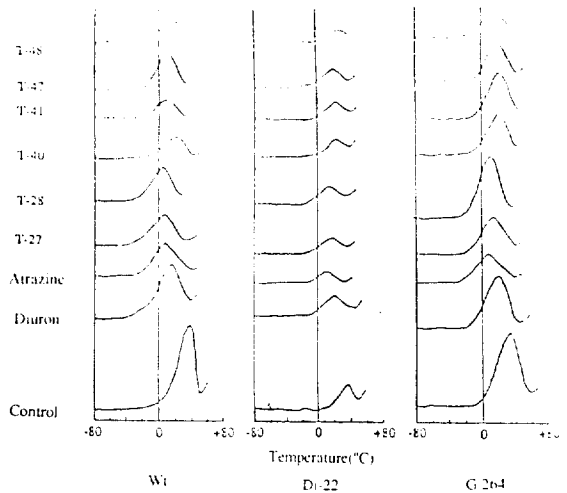


Fig. 4. Effect of triazine compounds on thermoluminescence glow peak
Sample thylakoids treated with $20\mu\text{M}$ each of the inhibitors were illuminated with one flash at 0°C , rapidly cooled to -18°C , and then gradually warmed in darkness ($0.8^\circ\text{C}/\text{sec}$). Thermoluminescence during warming was recorded against sample temperature.

보였고 동일한 264번 위치가 glycine으로 치환된 G-264 변이주에 대해서는 T-27 화합물이 1,400배, T-28 화합물이 8,000배의 저항성을 보여 T-27과 T-28 화합물은 공통적으로 D₁ 단백질의 264번 위치의 아미노산인 serine과 아주 깊은 관계를 가지고 있으며, Hill반응 저해활성 부위일 것으로 추측할 수 있고, 또한 이 위치에서 -C-NH-기의 작용이 중요한 역할을 하는 것으로 보여진다¹⁰⁾.

T-27, 28 화합물을 제외한 T-40, 41, 47, 48화합물에는 -C-NH-기가 없고 wild type에 대한 저해활성도 낮을 뿐 아니라 D₁ 단백질의 아미노산 변이주들에 대한 활성변이가 거의 나타나지 않았기 때문에 작용부위가 atrazine과 다른 곳이라 생각할 수 있으며 이들의 thermoluminescence band¹⁰⁾를 조사한 결과, 광합성 PS-II에서 전자전달을 방해하는 활성을 지니고 있으나 atrazine과는 결합부위가 조금씩 다른 것으로 보였고, 그 저해활성의 정도도 약하게 나타났다(Fig. 4). 그러나 명료하게 분석할 수는 없었다. 이상과 같이 bio-rational screening방법을 통해서 새로운 제초제의 탐색을 위한 합성 및 스크리닝이 진행된다면 보다 빠르고 합리적인 광합성 전자전달저해제의 개발이 가능하게 될 것으로 예상되었다.

적 요

광합성 전자전달저해제의 탐색을 위한 bio-rational screening 방법으로 광합성 박테리아의 일종인 cyanobacteria의 표준형(wild type)과 D₁ 단백질의 구성 아미노산이 변환된 변이주 Di-1, G-264, Di-22 등 4종을 사용하여 신규합성 화합물에 대한 광합성 전자전달저해활성을 조사하여 구조-활성간의 특성을 검토하였고, 이들의 thermoluminescence band를 이용하여 결합부위를 비교하였다.

1. Phenol 화합물(E-series)들은 cyanobacteria를 이용한 광합성 전자전달 저해활성의 양상을 볼 때 diuron보다는 dinoseb과 비슷하였다.
2. 합성한 Phenol화합물에서 나타난 구조활성간

의 특징으로는 치환기의 phenyl ring에 Cl이 치환되지 않은 경우 Hill반응 저해활성이 나타나지 않았고, 화합물에 있는 두개의 ring을 연결하는 bridge의 길이가 길어질수록 Hill반응 저해활성은 약하게 나타났다.

3. Triazine 화합물(T-series)의 경우 T-27, T-28화합물은 대조약제 atrazine보다 각각 10, 30배 강한 저해활성을 나타내었고, 변이주 G-264에 대한 저항성 비율이 atrazine보다 더욱 크게 나타나 이들 화합물들의 결합부위가 D₁ 단백질의 264번 위치와 깊은 관계가 있을 것으로 생각되었다.
4. Triazine 화합물에 있어서 치환기 -C-NH-는 전자전달계에 중요한 작용기로 생각되었다.
5. Thermoluminescence band를 이용하여 결합부위를 비교할 수는 있었지만, 명료하게 구분되지 않았다.

인 용 문 헌

1. Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24 : 1-15.
2. Arntzen C.T., P. Boger, D.E. Moreland, K. Steinback, A. Trebst. 1987. Herbicide affecting chloroplast functions. Z. Naturforsch., 42, 661-662.
3. Castenholz R.W. 1988. Culturing method for Cyanobacteria. pp.68-92, In Lester Packer, Alexandria N. Glazer ed, "Methods in enzymology" Vol.167, Academic Press.
4. Fuerst E.P., C.J. Arntzen, K. Pfister, and D. Penner. 1986. Herbicide cross-resistance in triazine-resistant biotypes of four species. Weed Sci. 34 : 344-353.
5. Inoue Y. and K. Shibata. 1979. Thermoluminescence from the oxygen-evolving system in photosynthesis. Trans Biochim. Sci. 4 : 182-184.
6. Katoh S. 1981. "Method in Photosynthesis

- Research."ed by S. Katoh, S. Miyjai and Y. Murata, Kyoritsu Shuppan Inc., Tokyo, pp.251-253.
7. Kakkis E, V.C. Palmire, Jr., C.D. Strong, W. Bertsch, C. Hansch, and U. Schirmer. 1984. Quantitative structure-activity relationships in the inhibition of photosystem II in chloroplasts by phenylureas. *J. Agric. Food Chem.*, 32 : 133-144.
 8. Paterson D.R. and C.J. Arntzen. 1982. Detection of altered inhibition of photosystem-II reactions in herbicide resistant mutants. Pages 109-118 in M. Edelman, R. B. Hallick, and N.H. Chua, eds. *Methods in Chloroplast Molecular Biology*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
 9. Achim Trebst. 1986. The three-dimensional structure of the herbicide binding niche on the reaction center polypeptides of photosystem II. *Z. Naturforsch*, 42C : 742-750.
 10. Vass, I., G. Horvath, T. Hweczeg, and S. Demeter. 1981. Photosynthetic energy conservation investigated by thermoluminescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 634 : 140-152.
 11. 光山 弘一. 1989. 光合成 電子傳達阻害型 除草劑. *日本農藝化學會誌* 63(10) : 1622-1624.
 12. 吉田 茂男. 1989. 除草劑 研究に ちける 動向. *日本農藝化學會誌* 63(10) : 1615-1617.
 13. Yoshida S. 1990. Heuristic approaches to finding new herbicides active in the chloroplast. *Z. Naturforsch* 45C : 329-3354.
 14. 황인택·홍경식·조광연·요시다 시게오. 1993. Cyanobacteria를 이용한 광합성 전자전달저해제의 생합리적 스크리닝. *한국잡초학회지* 13(2) : 81~88