

除草劑 bensulfuron과 imazaquin에 대한 1,8-naphthalic anhydride(NA)의 옥수수과 콩에 대한 藥害輕減作用機構

黃仁澤* · 崔貞燮* · 金鎮石* · 趙匡衍* · 全載哲**

Safening Mode of Action of 1,8-Naphthalic Anhydride on Corn and Soybean Against Herbicide Bensulfuron and Imazaquin

Hwang I.T.*, J.S. Choi*, J.S. Kim*, K.Y. Cho*, J.C. Chun**

ABSTRACT

The mode of safening action and potency of the 1,8-naphthalic anhydride(NA) were investigated in corn(*Zea mays*) and soybean(*Glycine max*) treated with herbicide bensulfuron[2-{{{(4,6-dimethoxy-2-pyrimidinyl)amino}carbonyl}amino}sulfonyl)methyl]benzoic acid] and imazaquin[2-{4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methylethyl)-5-oxo-1H-imidazol-2-yl} 3-quinolinonecarboxylic acid]. Seed dressing with 0.2%(w/w) NA showed successful protection in corn against injury from herbicide bensulfuron and imazaquin but not in soybean. Safening factors of NA against bensulfuron and imazaquin were 10.2 and 5.0, respectively, in corn, while they were both 1.3 in soybean.

In vivo, Glutathione-S-transferase(GST) activity of NA-treated corn and soybean increased 1.8- and 1.3-fold, respectively, but the activity was not affected by the herbicides *in vitro*.

Acetolactate synthase(ALS) levels of NA-treated corn was increased 1.3-fold, but not changed in soybean. Tolerance of ALS activity to the herbicides was slightly greater in ALS obtained from NA-treated corn than that from the untreated, whereas the difference was not found in soybean.

A significant increase of ACCase due to NA occurred in corn, but not in soybean. The herbicides did not affect *in vitro* ACCase activity.

Key words : 1,8-naphthalic anhydride, safening factor, glutathione-S-transfease, acetolactate synthase, acetyl Co-A carboxylase, bensulfuron, imazaquin.

緒 論

Sulfonylurea 및 imidazolinone系 除草劑는 最

近에 開發된 低藥量, 高活性 藥劑로서 人畜에 대한 毒性이 낮을 뿐 아니라 콩, 밀, 보리, 벼에 대한 選擇性藥劑로 使用되어 適用分野가 넓다. 그러나 이들 大部分의 藥劑는 土壤中 殘效性이 길

* 韓國化學研究所(KRICT, P.O. Box 9, Daedeogdanji, Daejeon 305-606, Korea)

** 全北大學校 農化學科(Dept. of Agricultural Chemistry, Jeonbug National University, Jeonju 560-756, Korea)

<1993. 9. 3 접수>

기 때문에 輪作栽培時 後作物에 대한 藥害가 發生되고 있어 이들의 藥害를 輕減시키기 위해서¹¹⁾, 또는 除草劑의 選擇性 增大 및 適用分野 擴大를 위해서 몇가지 藥害輕減劑들을 利用하는 方案이 研究되고 있다.

藥害輕減劑 NA는 1970년대 初期에 紹介되어¹²⁾ 效果에 대한 많은 研究가 進行되어 왔으나 아직까지 正確한 藥害輕減作用機構는 밝혀져 있지 않고, 몇가지 可能的한 作用機構만이 提示되어져 있다. Hatzios 등¹³⁾은 一般的으로 safener의 作用機構는 除草劑의 吸收 및 移行을 抑制하는 作用, 吸收된 除草劑의 代謝的 無毒化 促進, 除草劑 作用部位의 感受性 變化, 作用點 酵素의 生合成 增進, 除草劑에 의한 生長抑制를 克服하는 基質의 生合成 促進 등이며, safener는 特異성을 지니고 있어서 作物-除草劑-safener組合을 가지는 것으로 報告하였다. Sulfonylurea 및 imidazolinone系 藥劑에 대해서는 Rubin과 Casida¹⁵⁾가 NA의 保護機作이 ALS증가에 있다고 하였고, Sweetser 등¹⁸⁾은 chlorsulfuron에 대한 NA의 藥害輕減作用은 代謝的 無毒化作用에 의해서 發現된다고 하였으나, Frear 등¹⁹⁾은 naphthalic acid處理가 옥수수에서 chlorsulfuron의 代謝的 速度를 增加시키지 않았을 뿐만 아니라, ALS를 分離 精製해서 調査한 結果 ALS에 대한 效果는 거의 없는 것으로 報告하는 등 研究者에 따라 서로 다른 作用機作을 提案하고 있다. 한편 chlorsulfuron과 imazaquin에 대하여 NA, dichlormid, CGA-92194, 그리고 flurazole 處理로 옥수수, 밀, 벼, 수수 등의 藥害를 輕減시켰으나, 아직까지 廣葉作物에 대한 輕減效果는 없는 것으로 報告되어 있다^{5,8,10)}. 따라서 藥害輕減 作用機作研究도 禾本科作物만을 對象으로 研究되었을 뿐 廣葉作物과 相互 比較함으로써 藥害輕減作用을 解釋하려는 試圖는 없었다.

本 實驗은 構造는 다르지만 同一한 作用點^{13,16)}을 가지고 있는 sulfonylurea系의 bensulfuron과 imidazolinone系의 imazaquin을 對象으로 하여 옥수수와 콩에 대한 NA의 藥害輕減作用機構를 調査하고자 除草劑 處理에 대한 NA의 藥害輕減效果를 溫室條件에서 比較하고, 作物-除草劑-safener의 組合에 따라 草種間 藥害輕減作用의

差異를 酵素 水準에서 알아보고자 代謝的 無毒化作用에 關與하는 GST, 두 藥劑의 共通 除草作用點인 ALS 및 禾本科 選擇除草劑의 作用點인 ACCase의 作用에 미치는 影響을 調査하였다.

材料 및 方法

1. NA의 藥害輕減效果 實驗

NA를 粉衣處理한 種子와 處理하지 않은 種자를 플라스틱 포트에 播種하고, 溫室(20-30°C)에서 10일간 生育시킨 後 各各의 除草劑 原劑를 溶劑와 界面活性劑로 稀釋하여 莖葉處理(4ml/100cm²)하였다. 實驗에 使用한 種자는 國立種子供給所에서 分讓받은 옥수수(水原 19호)와 콩(황금콩)을 使用하였다. 粉衣處理는 種子 重量比로 0.2%의 NA를 直接 種자와 함께 三角플라스틱 내에 넣고 攪拌하였다. Bensulfuron 및 imazaquin은 除草劑實驗室에서 合成한 것을 使用하였다. 藥害輕減效果의 調査는 藥劑處理 21일 後에 地上部를 收穫하여 草長과 生體重을 測定한 다음 Probit analysis方法을 利用하여 50% 抑制濃度(GR₅₀)를 算出하였고, NA處理時의 GR₅₀에 대한 無處理時의 GR₅₀값의 比率로 藥害輕減效果指數를 얻었다.

2. 酵素活性調査를 위한 試料

種子 重量比로 0.2% NA를 處理한 種자와, 處理하지 않은 種자를 각각 플라스틱 포트에 播種하고 溫室(20-30°C)에서 10일간 生育시킨 후 藥劑를 處理하고 時間別로 植物體의 地上部를 收穫하여 *in vivo* 實驗材料로 使用하였다. *In vitro* 實驗의 境遇에는 除草劑를 處理하지 않은 植物體의 地上部를 使用하였다.

3. GST의 酵素抽出 및 活性檢定

Gronwald⁶⁾ 등의 方法을 利用하여 옥수수와 콩의 地上部 5g을 收穫한 後 液體窒素로 凍結시켜 磨碎하고 여기에 抽出溶液 25ml를 가하여 均質化시킨 後 8겹의 cheese cloth로 濾過하였다. 濾液은 20,000g로 4°C에서 20분간 遠心分離하여 上澄液을 粗酵素液으로 使用하였다. 抽出溶液은 1mM sodium metabisulfate를 溶解시킨 0.1M K

-phosphate buffer溶液(pH 6.8)을 사용하였다. 추출한 GST粗酵素의 活性分析은 1-chloro-2,4-dinitro benzene(CDNB)를 基質로 하는 Habig 등⁷⁾의 方法을 약간 修正하여 利用하였다. 粗酵素液 0.1ml, K-phosphate buffer溶液(pH 7.4) 1.9ml, 3.3mM GSH(還元型) 0.9ml를 4.5ml의 1回用 cuvette에 넣고, 無水에탄올에 溶解시킨 30mM CDNB 0.1ml를 添加하면서 反應을 開始하였다. 反應溫度는 25°C를 維持시켰고, 反應開始後 60초부터 180초까지의 吸光度(波長 340 nm)를 Kinetic Soft-Pac module을 裝着시킨 Beckman DU-65 spectrophotometer를 利用하여 測定한 後 反應速度를 計算하였다.

4. ALS의 抽出 및 酵素의 活性檢定

옥수수 的 境遇 Shaner 등¹⁶⁾의 方法을 利用하였고, 콩 的 境遇 Ray의 方法¹³⁾을 利用하였다. 植物體 試料 50g씩 收穫하여 液體窒素로 凍結시켜 粉碎하고 5mM MgCl₂, 10mM sodium pyruvate를 溶解시킨 0.1M phosphate buffer(pH 7.5)溶液 100ml를 넣어 glass homogenizer로 均質化시킨 後 8겹의 cheese cloth로 濾過하였다. 濾液을 옥수수 的 境遇 15,000g로 4°C에서 15분간 遠心分離하였고, 콩 的 境遇 濾液을 20,000g로 4°C에서 20분간 遠心分離하고 上澄液을 ammonium sulfate(25-50% saturation)로 分別 沈澱시켜 20,000g로 4°C에서 20분간 遠心分離하였다. 遠心分離로 모아진 沈澱物을 0.1M K-phosphate buffer溶液으로 懸濁시켜 同一 buffer溶液으로 飽和시킨 Sephadex G-25(1.5×30cm)컬럼을 通過시켰다(flow rate 250ml/hr). 컬럼으로부터 모아진 溶液을 分析用 粗酵素로 使用하였다. 酵素活性은 粗酵素液 1ml(蛋白質 含量 3-4mg/ml)에 0.9ml의 反應液(10mM MgCl₂, 10mM sodium pyruvate, 0.1mM thiamine pyrophosphate를 溶解시킨 50mM K-phosphate buffer溶液, pH 7.5)을 添加하고, 必要時 acetone에 溶解시킨 除草劑 溶液을 反應液에 0.1ml씩 處理하였다. 反應은 pyruvate를 添加하면서 開始하였고, 30°C의 水槽에서 30분간 反應시킨 後 10N H₂SO₄ 30μl씩을 加하여 終了시켰다. 酵素活性의 測定은 Westerfeld의 方法¹²⁾에 따라 生成된 acetoin의 含

量을 다음과 같이 測定하였다. 反應을 終了시킨 後 60°C의 恒溫水槽에서 15분간 decarboxylation 시키고 0.5%(w/v)의 creatine溶液 0.5ml와 10% NaOH에 溶解시켜 調製한 5%(w/v)의 1-naphthol溶液 0.5ml를 넣고 흔들어준 다음 60°C의 恒溫水槽에서 15분간 發色시켰다. 發色反應이 끝난 各 試料를 吸收波長 530nm에서 光學密度를 測定하였고, specific activity計算은 같은 方法으로 作成한 standard curve를 利用하였다.

5. ACCase의 酵素抽出 및 活性檢定

Burton³⁾의 方法에 따라 植物體 地上部를 收穫하여 液體窒素로 凍結시켜 磨碎한 後 2倍量의 抽出溶液으로 均質化시켜 cheese cloth로 濾過하였다. 抽出溶液은 10mM β-mercaptoethanol, 1mM Na₂-EDTA, 10% glycerol, 1mM phenyl methyl sulfonyl fluoride가 溶存된 1M tricine-KOH buffer(pH 8.0)을 使用하였고, 濾液을 30,000g로 4°C에서 20분간 遠心分離하여 上澄液을 粗酵素液으로 使用하였다. 酵素活性은 粗酵素 0.1ml에 50mM MgCl₂, 20mM dithiothreitol, 20mM ATP, 3mM acetyl Co-A를 各 20μl씩 liquid scintillation(LSC) vial에 담고 20mM NaH¹⁴CO₃ 20μl를 添加시키면서 反應을 開始하여 35°C 恒溫水槽에서 10분간 反應시키고 진한 鹽酸 30μl씩 添加하여 反應을 終了시켰다. 反應이 終了된 vial을 90°C 恒溫水槽에서 完全 乾燥시킨 後 蒸溜水 0.2ml로 溶解시키고 4ml의 cocktail(Lumagel)을 넣고 잘 섞은 後 放出되는 放射線量을 β-counter(Packard-tri carb 1500)로 測定하였다. 上記 모든 實驗의 蛋白質 含量은 Bradford법²⁾으로 定量하였다.

結果 및 考察

1. Bensulfuron과 imazaquin에 대한 NA의 藥害輕減效果

NA處理時 옥수수와 콩에 대한 bensulfuron과 imazaquin의 藥害輕減效果를 比較해 보면, 옥수수에 bensulfuron을 處理한 境遇 NA無處理에 대해서는 25g/ha의 적은 量에서도 심한 藥害를 보였으나, NA를 處理한 境遇에는 거의 完全한 藥

Table 1. GR₅₀ values and safening factor as affected by bensulfuron and imazaquin, and NA for corn and soybean.

Crop	Herbicide	GR ₅₀ value ^{a)}		
		Untreated	NA-treated (g/ha)	Safening factor ^{b)}
Corn	Bensulfuron	29.1	296.7	10.2
	Imazaquin	7.8	39.5	5.1
Soybean	Bensulfuron	16.4	20.7	1.3
	Imazaquin	4600	6000	1.3

a) GR₅₀ values were calculated by Probit analysis method.

b) Safening factor is the ratio of GR₅₀ value for NA-treated plant versus the GR₅₀ value of untreated plant.

害輕減效果를 나타내었다. Imazaquin處理의 境遇에도 藥害輕減效果는 優秀하였으나, bensulfuron의 境遇보다 낮은 傾向이었다. 50% 生育沮害濃度는 bensulfuron에 대해서는 無處理時의 29.1 g/ha에 比하여 NA 處理時 296.7g/ha로 나타나 藥害輕減指數 (safening factor)는 10.2이었다, imazaquin에 대해서는 無處理時의 7.8g/ha와 NA 處理時의 39.5g/ha로서 5.1을 보여주었다 (表 1). Parker 등¹²⁾과 Mills 등¹¹⁾도 옥수수에 0.5% NA 處理時 chlorsulfuron과 imazaquin에 대해서 4-8倍의 藥害輕減指數를 報告하여 비슷한 結果를 나타내었다. 그러나 콩에 대한 結果에서는 두 藥劑 모두에 대해서 微弱한 輕減效果를 나타내거나, 藥害輕減效果가 거의 없었다. 50% 生育沮害濃度로 比較할 境遇 bensulfuron에 대해서는 無處理時 16.4g/ha에 比하여 NA 處理時 20.7 g/ha로서 1.3의 藥害輕減指數를 보였고, imaza-

quin에 대해서는 無處理時 4.6kg/ha에 比해 NA 處理時 6kg/ha로서 역시 1.3의 藥害輕減指數를 나타내었다. 이와 같이 옥수수에 대한 NA의 藥害輕減指數가 同一한 除草作用點을 가진 bensulfuron과 imazaquin에 대해서 서로 다르게 나타난 것은 藥劑의 特性에 따라 NA와의 相互作用性이 相異함을 示唆하여 주었다.

2. GST에 대한 影響

옥수수로부터 抽出한 GST의 活性은 無處理區의 GST보다 NA 處理區의 GST가 약 1.8倍 높게 나타났다(表 2). 그러나 抽出된 GST의 GSH-CDNB conjugation 觸媒反應에 대하여 bensulfuron과 imazaquin은 影響을 주지 않았다. 한편 콩에 있어서는 NA 處理時 1.3倍의 GST增加를 나타내었고, 各 處理區에서 抽出한 GST의 CDNB를 基質로 하는 GSH-conjugation 觸媒反

Table 2. Effect of NA on the glutathione-s-transferase of corn shoot using CDNB

Herbicide	Concentration (M)	Enzyme activity(umol/mg protein · min)		B/A
		Untreated (A)	NA-treated (B)	
Control	0	0.93	1.64	1.76
Bensulfuron	10 ⁻⁸	0.88	1.67	1.89
	10 ⁻⁷	0.85	1.64	1.93
	10 ⁻⁶	0.91	1.64	1.80
	10 ⁻⁵	0.91	1.62	1.78
	10 ⁻⁴	0.92	1.62	1.76
Imazaquin	10 ⁻⁸	0.92	1.62	1.76
	10 ⁻⁷	0.90	1.62	1.80
	10 ⁻⁶	0.92	1.59	1.73
	10 ⁻⁵	0.95	1.65	1.74
	10 ⁻⁴	1.6	1.	
		N.S.*	N.S.*	

* N.S. means not significance at the 5% level according to the LSD.

Table 3. Effect of NA on the glutathione-s-transferase of soybean shoot using CDNB

Herbicide	Concentration (M)	Enzyme activity (nmol/mg protein · min)		B/A
		Untreated (A)	NA-treated (B)	
Control	0	11.3	15.0	1.33
Bensulfuron	10 ⁻⁸	10.8	16.5	1.53
	10 ⁻⁷	11.3	15.5	1.37
	10 ⁻⁶	11.7	17.0	1.45
	10 ⁻⁵	12.2	16.0	1.31
Imazaquin	10 ⁻⁸	12.2	15.5	1.27
	10 ⁻⁷	12.2	16.5	1.35
	10 ⁻⁶	11.7	16.0	1.37
	10 ⁻⁵	11.7	15.5	1.32
		N.S.*	N.S.*	

* N.S. means not significance at the 5% level according to the LSD.

應에 대한 bensulfuron과 imazaquin의 효과도 없었다(表 3). Dean 등¹⁶⁾은 safener處理時 GST의 isozyme이 생성된다고 하였고, Sweetser¹⁸⁾는 chlorsulfuron과 metsulfuron-methyl의代謝速度가 밀과 옥수수에서는 NA處理시 2-5배增加되었지만 廣葉作物과 雜草에서는增加되지 않았다고 한報告들로 미루어 보아代謝的無毒化作用에關與하는 GST增加幅이 옥수수와 콩에서 서로 다른 것이 이들 두草種에 대한 NA의藥害輕減差異와 어느程度關係가 있을 것으로推測된다.

3. ALS에 대한影響

NA處理 옥수수의境遇 無處理 옥수수보다 ALS活性은 1.3倍增加되었다(表 4). 各處理區로부터抽出한 ALS에 대한 bensulfuron과 imazaquin의抑制效果는類似하였지만, NA處理區에서抽出한 ALS의境遇 bensulfuron 및 imaza-

Table 4. Effect of NA on acetolactate synthase of corn and soybean^{a)}.

Crop	ALS activity (uM acetoin/mg protein)		
	Untreated (A)	NA-treated (B)	B/A ^{b)}
Corn	6.9	9.1	1.32
Soybean	49.9	52.4	1.05

^{a)} Enzyme activity of each crop was evaluated by different method.

^{b)} The ratio of activity in antidoted to that in untreated shoot.

quin의 낮은濃度에서는 NA處理에 의해增加된 ALS活性差異가維持되었기 때문에藥劑에 대한耐性を發現할可能性을 보여部分的인藥害輕減效果를認定할 수 있었다. 그러나 높은濃度에서

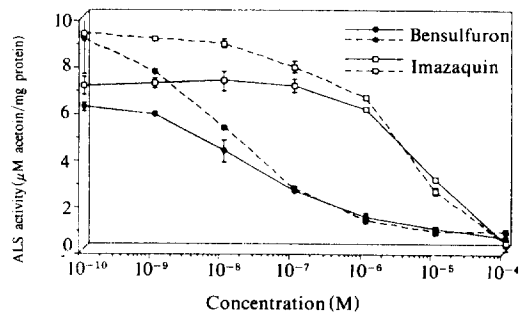


Fig. 1. Effect of bensulfuron and imazaquin on *in vitro* activity of acetolactate synthase obtained from NA-treated (···) and untreated (—) corn.

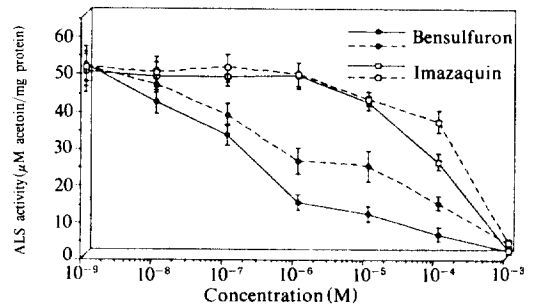


Fig. 2. Effect of bensulfuron and imazaquin on *in vitro* activity of acetolactate synthase obtained from NA-treated (···) and untreated (—) soybean.

는 NA無處理區와 同一한 抑制傾向을 나타내었다. Rubin과 Casida¹⁵⁾는 R-25788 處理時 옥수수에서 ALS가 25% 增加되었기 때문에 ALS 增加가 部分的으로 藥害輕減作用에 關與한다고 하였고, Barrett¹⁾은 imazaquin 處理時 옥수수의 ALS 活性을 減少시켰으나, NA 處理時 回復되었다고 하여 部分的이지만 藥害輕減作用과의 關聯性을 報告하였다. 한편 콩에 있어서는 NA處理에 의한 ALS 增加가 發見되지 않았을 뿐만 아니라 抽出한 ALS에 대한 두 藥劑의 抑制活性이 NA 處理 有無에 關係없이 同一한 傾向을 나타내었다 (그림 1, 2). 따라서 ALS 活性이 NA 處理에 의해서 옥수수에서는 1.3배 增加되었지만, 콩에서는 增加되지 않았고, NA 處理 옥수수에서 抽出한 ALS에 대한 抑制程度가 bensulfuron과 imazaquin의 낮은 濃度에서 耐性을 보였으나, 콩에서 抽出한 ALS에 대한 bensulfuron 및 imazaquin의 抑制活性은 NA 處理 有無에 關係없이 同一한 傾向을 보였던 事實 등이 두 草種에 대한 NA의 藥害輕減效果의 差異와 關係가 있는 것으로 생각되어진다. 그러나 實際 植物體에 있어서 나타난 藥害輕減效果의 큰 差異를 說明하기에는 그 效果가 크게 못미치고 있어 NA 誘導 ALS 增加로서만 이러한 效果를 說明할 수 없는 것으로 생각된다.

4. ACCase에 대한 影響

NA 處理 옥수수에서는 無處理에 比하여 3.2배의 ACCase 增加를 보여 주었으나, 콩에서는 거의 增加되지 않았다(表 5). NA 處理 또는 無處理 옥수수로부터 抽出한 ACCase에 대한 除草劑의 影響은 bensulfuron의 境遇 無處理區에서 抽出한 ACCase에 대한 反應性은 나타나지 않았으나, NA 處理區에서 抽出한 ACCase에 대해서는 약하지만 增加하는 傾向을 보였고, imazaquin의 境遇도 無處理區에서 抽出한 ACCase에 대해서는 影響을 주지 않았으나, NA 處理區에서 抽出한 ACCase에 대해서는 약간 抑制하는 傾向을 보였다(그림 3, 4). 그러나 이러한 微弱한 增減現象은 處理藥劑의 增加幅에 比較해서 아주 미약한 것으로 直接的인 相互 作用性은 아닌 것으로 보여진다. 따라서 이러한 結果는 NA 處理가 옥수

수 體內에서 ACCase 生合成을 增進시키거나, 이와 關聯된 過程에 關與하는 것으로 생각된다.

지금까지 研究된 safener의 作用 機作은 研究者들에 따라 多樣한 理論을 提示하였으나 最近 가장 認定되고 있는 safener의 作用理論은 處理된 除草劑가 活性을 喪失하지 않고 作用部位까지 到達되는 除草劑의 量과 形態에 影響을 주거나, 同一 作用部位에서 相互 競合의 作用하거나, 同一 代謝過程에서 拮抗의 作用으로 除草效果에 影響을 주는 것으로 報告되어 있다⁹⁾. 그러나 safener에 대한 作用機構 研究는 禾本科 作物만을 對象으로 研究되어 왔을 뿐 廣葉作物과의 比較를 通한 研究는 전혀 이루어지지 않았다. 本 研究에서는 이러한 觀點에서 옥수수와 콩을 對象으로 NA 效果를 直接 比較한 結果 옥수수에 대한 藥害輕減效果는 콩에 대한 藥害輕減效果 보다 크게 나타나 옥수수와 콩에 대한 NA의 藥害輕減 作用은 서로 다르다는 것을 알 수 있고, 그 原因으로서는 部分的으로 GST의 活性 差異에 의한 代謝의 無毒化 作用, bensulfuron과 imazaquin의 共

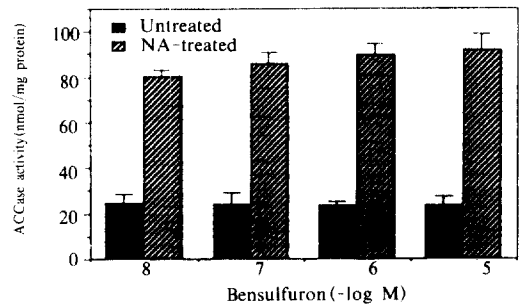


Fig. 3. Effect of bensulfuron on *in vitro* acetyl Co-A carboxylase activity of corn.

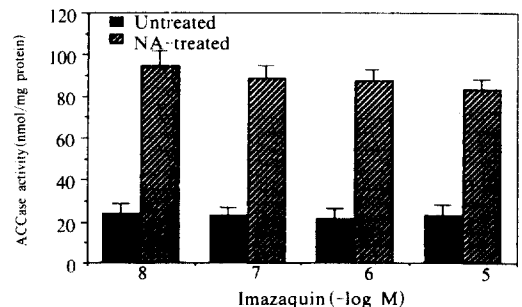


Fig. 4. Effect of imazaquin on *in vitro* acetyl Co-A carboxylase activity of corn.

通作用點인 ALS에 대한 NA와의 競合的反應性, 그리고 ACCase에 대한 生理的拮抗作用에 모두 關係가 있는 것으로 보여진다. 以上の 3가지 酵素中 ACCase에 대한 效果가 가장 큰 變化를 일으킨 것으로 보아 두 草種사이의 藥害輕減作用 差異를 究明하는데 重要的 酵素로 생각된다. 그러한 可能性으로는 isoleucin, valine, leucine 등의 아미노산 生合成 過程은 pyruvate를 前驅物質로 利用하여 進行되는데, 이러한 過程을 抑制하는 sulfonylurea系 藥劑가 處理되었을 境遇 pyruvate가 acetolactate로 轉換되지 못하고, α -amino-n-butyrate로 蓄積되어 除草作用을 나타낸다는 結果¹⁷⁾로 미루어 볼 때 脂肪酸 生合成의 境遇도 pyruvate로부터 形成되는 acetate를 前驅物質로 利用하기 때문에 NA 處理에 의해 ACCase 活性이 增加되면 sulfonylurea계 약제에 의해 pyruvate가 α -amino-n-butyrate로 蓄積되는 量이 減少되고, 이에 따라 藥害輕減效果를 誘起시킬 수 있기 때문이다. 또한 그동안 開發 使用되는 safener들이 모두 禾本科 作物에만 適用되고 있으며, ACCase는 高等植物에서 脂肪酸 生合成에 關與된 첫번째 酵素로 알려져 있고, 最近 開發된 禾本科 選擇 除草劑인 aryloxyphenoxy propionate系와 cyclohexanedione系 除草劑의 作用點¹⁾으로 밝혀져 있다. 이외에 NA를 包含한 safener들의 作用效果가 크게 나타나는 chloroacetanilide系 및 thiocarbamate系 除草劑들이, 感受性인 禾本科 草種은 lipid 生合成을 심하게 抑制하지만 廣葉草種에 대해서는 抑制作用이 나타나지 않는다고 하였다²⁰⁾. 또한 Hatzios⁹⁾ 등은 除草劑의 代謝的 無毒化過程이 acetyl Co-A의 代謝와 關聯되어 있어서 相互 競合的인 拮抗作用을 나타낸다는 假說을 提案하기도 하였다. 以上の 結果들로부터 NA 處理로 옥수수과 콩에서 나타난 藥害輕減 效果의 差異는 特定 酵素에 全的으로 依存되는 것이 아니고 複合的이며, 특히 NA는 廣葉보다는 禾本科 作物에 대해 植物體內 諸般 酵素들을 活性化시켜 相對的으로 抵抗性を 發現시키는 것으로 생각된다. 또한 NA 處理時 옥수수에 대한 bensulfuron과 imazaquin의 藥害輕減作用은 pyruvate로부터 acetyl Co-A로 이어지는 代謝過程에서 生理的 拮抗作用(physiological

antagonism)과도 깊이 關聯되어 있을 것으로 생각된다.

摘 要

1. NA의 bensulfuron 및 imazaquin에 대한 藥害輕減效果는 옥수수에 대해서 藥害輕減效果指數가 각각 10.2, 5.0이었으나, 콩에 대해서는 두 藥劑 모두 藥害輕減效果指數가 1.3程度로서 微弱한 效果를 보여 주었다.
2. 옥수수와 콩에 있어서 NA 處理時 內生 GST가 각각 1.8배, 1.3배 增加되었으나, 增加된 GST가 關與하는 GSH-CDNB conjugation 反應에 대한 bensulfuron 및 imazaquin의 抑制活性은 나타나지 않았다.
3. NA 處理時 옥수수에서만 ALS가 增加되었고, 抽出된 ALS에 대한 bensulfuron 및 imazaquin의 抑制活性은 낮은 濃度에서는 差異를 보였으나, 높은 濃度에서는 NA 處理 유무에 關係없이 同一한 傾向이었다. 콩에서는 ALS의 增加도 없었고, 두 藥劑의 抑制活性도 NA 處理에 關係없이 同一하였다.
4. NA 處理時 옥수수에서는 ACCase가 3.2배 增加되었으나, 콩에서는 거의 增加가 없었고, 酵素作用에 대한 두 除草劑의 影響은 아주 微弱하였다.

參 考 文 獻

1. Barrett M. 1989. Reduction of imazaquin injury to corn (*Zea mays*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) with antidotes. *Weed Sci.* 37 : 34-41.
2. Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.
3. Burton T. D. 1989. Inhibition of corn acetyl Co-A carboxylase by the herbicides sethoxydim and haloxyfop. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 148 : 1039-1044.

4. Dean J.V., J.W. Gronwald, and C.V. Eberlein. 1990. Induction of glutathione-S-transferase isozymes in sorghum by herbicide antidotes. *Plant Physiol.* 92 : 467-473.
5. Frear D.S., Swanson H.R., and Mansager D. 1987. 1,8-Naphthalic anhydride/ auxin protection against chlorsulfuron inhibition of corn seedling growth. *In* "Pesticide Science and Biotechnology" (R. Greenhalgh and T.R. Roberts, eds.) . pp.499-503. Blackwell Oxford.
6. Gronwald J.W., E.P Fuerst, C.V. Eberlein, and M.A. Egli. 1987. Effect of herbicide antidotes on glutathione content and glutathione-S-transferase activity of sorghum shoots. *Pestic. Biochem. Physiol.* 28 : 38-43.
7. Habig W.H., M.J. Pabst, and W.B. Jakoby. 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem.* 249 : 7130.
8. Hatzios K.K. 1989a. Mechanisms of action of herbicide safeners: An overview, *In* "Crop safeners for herbicides: Development, Uses, and Mechanisms of action" (K. K. Hatzios and R.E. Hoagland, Eds.) : pp.65-101 : Academic Press.
9. Hatzios K.K. 1989b. Recent developments in the physiology and biochemistry of herbicide safeners. *Br. Crop. Protec. Conf. Weeds.* 9B-4 : 1207-1216.
10. Hoffman O.L. 1969. Chemical antidotes for EPTC on corn. *Abstr. Weed Sci.Soc. Am.* : 9, 12.
11. Mills J.A., W.W. Witt, and G.L. Olson. 1987. Effect of tillage systems on imazaquin and AC263,499 persistence. *Proc. South Weed Sci. Soc.* 40, 378.
12. Parker C., W.G. Richardson, and T.M. West 1980. Potential for extending the selectivity of DPX4189 by use of herbicide safeners. *Proc. Br. Crop prot. Conf. Weeds.* pp.15-22.
13. Ray T.B. 1984. Site of action of chlorsulfuron: Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol.* 75 : 827-831
14. Rendina A.R. and J.M. Felts. 1988. Cyclohexanedione herbicides are selective and potent inhibitors of acetyl-CoA carboxylase from grasses. *Plant Physiol.* 86 : 983.
15. Rubin B. and J.E. Casida. 1985. R-25788 effects on chlorsulfuron injury and acetoxy acid synthase activity. *Weed Sci.* 33 : 462-468.
16. Shanner D.L., P.C. Anderson, and M.A. Stidham. 1984. Imidazolinones Potent inhibitors of acetoxy acid synthase: *Plant Physiol.* 76 : 545-546.
17. Shanner D.L., M.L. Reider. 1986. Physiological responses of corn (*Zea mays*) to AC243,997 in combination with valine, leucine, and isoleucine. *Pestic. Biochem. Physiol.* 25 : 248-257.
18. Sweetser P.B. 1985. Safening of sulfonylurea herbicides to cereal crops: Mode of herbicide antidote action. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weed 3* : 1147-1154.
19. Westerfeld W.W. 1945. A colorimetric determination of blood acetoin. *J. Biol. Chem.* 161 : 495-502.
20. Yenne S.P. and K.K. Hatzios, 1989. Influence of oxime ether safeners and metolachlor on acetate incorporation into lipids and acetyl Co-A carboxylase of grain sorghum. *Pestic. Biochem. and Physiol.* 35 : 146 -154.