

Diphenyl Ether계 제초제 Oxyfluorfen에 대한 벼 품종간 저항성기구**

최성환 · 김노열 · 이증주*

Mechanisms of Tolerance to Diphenyl Ether Herbicide Oxyfluorfen in Rice Cultivars**

Choi S.H., N.Y. Kim and J.J. Lee*

ABSTRACT

In this study, the relationships between sensitivity to oxyfluorfen, absorption of the herbicide, protoporphyrin IX(Proto IX) accumulation and activities of antioxidative enzymes were examined to identify the tolerance mechanism against oxyfluorfen in various rice cultivars having different level of tolerance to this herbicide. Absorption of oxyfluorfen in tolerant rice cultivars was slower than in susceptible cultivars. Proto IX accumulation in various rice cultivars treated with oxyfluorfen was higher in susceptible cultivars than in tolerant ones. In susceptible cultivars especially, Proto IX accumulated rapidly during the herbicide treatment in the dark. Large amounts of Proto IX accumulation were considered to cause membrane lipid peroxidation in the light. However, among the tested rice cultivars, there was little relationship between their tolerance to oxyfluorfen and the activities of antioxidative enzymes. Therefore, it is assumed that differential susceptibility of rice cultivars to oxyfluorfen was due to difference in their capability to absorb the herbicide and to subsequently accumulate Proto IX.

Key words : oxyfluorfen, protoporphyrin IX, absorption, antioxidative enzymes.

緒 言

Oxyfluorfen을 비롯한 diphenyl ether(DPE)계의 많은 약제들은 한쪽의 benzene고리의 2, 4위치에 치환기가 있고, 다른 한쪽의 고리의 4위치에 nitro(NO₂)기를 갖고 있는데, 이들 약제는 식물체에 대한 제초작용의 발현에 반드시 광을 필요로 하는 것으로 알려져 있다. DPE계 제초

제는 세포막, 엽록체막, 액포막 등의 세포내막계에 과산화적 손상을 일으킨다^{4,7)}. 막의 손상은 막중에 다량으로 존재하는 불포화 지방산이 과산화과정을 통해 분해되는 것에 기인한다^{7,10)}. 산소분자는 호기성 생물에 반드시 필요하지만, 유해작용도 있다¹⁾. 산소장해는 반응성이 높은 산소의 환원분자종(O₂⁻, H₂O₂, ·OH) 및 여기분자종(¹O₂)에 의해 표적분자가 산화됨으로써 일어나는데, 이 산소 분자종을 활성산소라고 하며

* 경상대학교 농생물학과 (Dept. of Agricultural Biology, Geongsang National Univ., Chinju 660-701, Korea)

** 본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구비 지원(951-0611-064-1)으로 수행되었음 <1996. 9. 3. 접수>

불포화지질의 산화물(LOO·, L·, LOOH, LO·)도 같은 작용을 하기 때문에 이것들도 활성산소에 포함된다²⁾. 그러므로 활성산소 생성과정의 어느 부분이 DPE계 제초제의 특징인 광요구성과 관련되는가를 밝히는 일이 약제의 작용기구 해명에 필수적인 것으로 생각되고 있다¹⁸⁾. 한편, 활성산소의 소거 작용을 행하는 항산화계의 작용을 검토하여, 활성산소 관여의 기구를 밝히기 위한 연구도 행해졌다. Vitamin C는 vitamin E radical을 원래의 vitamin E로 재생시키는 작용이 있으므로, 이것들의 식물체내 함량과 작용과의 관계가 조사되어, vitamin C와 E의 양적 비율이나 그 총량이 약제에 대한 저항성과 관계가 있는 것이 식물⁸⁾ 및 조류¹¹⁾에서 보고되었다. 또 약제의 처리에 의한 vitamin C⁸⁾나 glutathione 함량의 변화 및 항산화효소의 저해^{25,26)} 등도 보고되었다.

광요구형 DPE계 제초제의 작용기구와 관련된 광증감 작용에 의한 활성산소 생성의 원인물질로, Matringe 등¹⁷⁾은 DPE계 제초제인 acifluorfen methyl(AFM)을 처리한 콩의 배양세포에서 엽록소 생합성의 중간체인 tetrapyrrole 구조를 갖는 protoporphyrin IX(Proto IX)이 축적되는 것을 발견하였다. 그리고, 이 물질의 축적량과 약제의 활성간에 상관성이 있으며, 약제의 작용에 유효한 광의 파장과 이 물질의 흡수 spectrum이 일치하는 것 등으로부터, Proto IX이 활성산소 생성의 원인물질인 것으로 제안하였다. Proto IX은 광증감 반응에 의해, 강한 산화력을 갖는 활성산소인 일중항산소(¹O₂)를 발생시키는 성질이 있으므로⁶⁾, Proto IX의 축적이 막지질 등을 과산화시키는 원인이 되는 것으로 생각되었다. 또한, Matringe 등¹⁷⁾과 Witkowski 등²⁷⁾은 Proto IX 축적의 원인으로 protoporphyrinogen IX(Protophen)으로부터 Proto IX으로의 산화를 촉매하는 효소인 protoporphyrinogen oxidase (Protox)가 매우 낮은 농도의 AFM에 의해 저해되는 것을 발견하였으며, 이것이 DPE계 제초제의 작용점인 것으로 보고하였다. 이들 제초제에 의해 Protox가 저해되면, Protophen이 엽록체내에서 축적되어, 세포질로 누출되며, 그 후

비효소적인 자동산화 또는 원형질막 및 ER막과 결합된 Protox 유사효소에 의해 Proto IX으로 산화되는 경로^{14,15,24)}도 제안되었다. 이상의 연구들로부터 현재는 DPE계 제초제의 Protox의 저해 → Proto IX의 축적 → 일중항산소 분자의 생성 → 막의 과산화라고 하는 활성발현의 과정이 정설로 받아들여지고 있다¹⁸⁾.

DPE계 약제인 oxyfluorfen에 대한 이종식물간의 내성요인을 조사한 결과, oxyfluorfen에 높은 내성을 나타낸 식물에서는 약제의 흡수량이 적고 항산화 효소의 활성이 높으나, 감수성이 큰 식물에서는 약제의 흡수량 및 Proto IX의 축적량이 많거나 항산화소계의 활성도 낮은 것으로 나타났다^{12,13,19,20)}. 그러나, 이종식물을 재료로 한 연구 결과로는 각 식물종간의 생물리적, 생화학적 특성이 다르므로 약제에 대해 각 식물종이 나타내는 저항성 또는 감수성의 원인 중 중요한 역할을 하는 것이 어느 것인지 정확히 판단하기에 어려움이 따른다. 그러므로 비슷한 생리, 생태적 특성을 지니고 있는 하나의 식물종내에서 약제에 대한 저항성 기구를 밝혀나간다면, 관련된 여러 가지 정보를 얻을 수 있으리라 판단된다.

따라서 본 연구에서는 광요구형 DPE계 제초제인 oxyfluorfen에 대한 내성의 정도가 서로 다른 벼 품종들을 재료로 하여 약제에 대한 반응성과 관련된 여러 요인들을 조사·비교하고, 본 약제에 대한 내성에서 중요한 역할을 하는 요인이 무엇인가를 파악하기 위해 oxyfluorfen의 흡수 및 제초활성의 차이, Proto IX의 축적량, 항산화효소의 활성 및 감수성과의 관련성 등을 평가하였다.

材料 및 方法

1. 벼 품종간 Oxyfluorfen의 선택성

1) 식물재료

공식식물로 전남대학교에서 제공된 벼 품종인 Baru, Hawon, Hunan 31, HP 907, HP 857, HP 1033 및 Weld pelly를 growth chamber(30/25℃, 주간 14시간/야간 10시간, 상대습도 70%,

광도 30,000 Lux)에서 14일간 생육시킨 다음 실험에 사용하였다.

2) Oxyfluorfen의 선택 활성화

각 벼 품종의 경엽부를 0.1% acetone을 포함한 10^{-6} M의 oxyfluorfen 수용액에 2시간동안 침적처리한 후, 경시적으로 식물체의 경엽부를 채취하여 생체중과 건물중을 측정하고, 각 식물체의 수분함량의 감소율을 조사하였다. 근부처리의 경우는, 10^{-6} M의 oxyfluorfen 수용액에 근부를 24시간동안 암상태에서 침적처리한 후, 약제를 포함하지 않은 수경액에 옮겨 생육시키면서 생체중의 변화를 조사하였다.

3) 엽록소 함량의 측정⁹⁾

경시적으로 채취한 식물체 경엽부의 생체중을 측정된 후, 60℃에서 dimethyl sulphoxide로 6시간동안 엽록소를 추출하였다. 추출한 엽록소는 UV-VIS spectrophotometer로 645, 663nm에서 흡광도값을 측정된 다음, 엽록소의 함량을 계산하였다.

4) 14 C-oxyfluorfen의 흡수

각 식물의 근부 또는 경엽부를 일정시간별로 0.1% acetone을 포함한 10^{-6} M의 14 C-oxyfluorfen 수용액에 침적처리한 후, 처리부위를 증류수로 세정하고, 95℃에서 24시간동안 건조하였다. 건조된 부위는 건물중을 측정된 후, automatic sample combustion system으로 연소시켜, 14 CO₂로서 포집된 방사능량을 liquid scintillation spectrometer로 측정하였다.

2. Proto IX의 정량³⁾

각 식물의 경엽부(0.2~0.6g)를 액체질소를 이용하여 동결·분쇄한 후, 6ml의 알칼리성 methanol(HPLC용 methanol : 0.1N NH₄OH(9 : 1,v/v))을 넣어 함께 마쇄하여 Proto IX을 추출하였다. 알칼리성methanol 추출액은 2℃, 30,000×g로 10분간 원심분리하여 1회째의 상층액을 취한 후, 남은 잔사에 3ml의 methanol을 첨가하여 초음파기로 5분간 재현탁하고, 다시 30,000×g로 10분간 원심분리하여 두번째의 상층액을 취하였다. 1회째와 2회째의 추출 후 합한 상층액을 rotary evaporater를 사용하여 40℃에서 감압증류

하였다. 감압증류시킨 잔사에 1ml의 알칼리성 methanol을 첨가하여 용해시키고, 직경 0.22μm의 전처리용 nylon syringe filter로 여과하여, HPLC로 Proto IX을 분석하였다.

HPLC의 시스템은 송액펌프와 형광검출기로 구성하며, 분석은 ODS column과, 메탄올 : 20mM 인산암모늄완충액(pH 5.8)(9 : 1, v/v)의 이동상(1ml/min의 유속)을 이용하여, 여기파장 400nm와 형광파장 630nm에서 Proto IX을 검출하였다.

3. 항산화효소활성의 측정

1) 식물재료

각 식물체 0.25-0.5g을 액체질소로 동결·분쇄한 후, 5mM EDTA 및 5mM dithiothreitol을 포함한 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 5ml와 10%의 polyvinylpyrrolidone(w/w)를 넣어 마쇄하여 추출하였다. 이 추출액을 7,000×g로 20분간 원심분리하여, 상층액을 조효소액으로 사용하였다.

각 효소의 활성화는 25℃에서 UV-VIS spectrophotometer로 단위 시간내의 흡광도의 경시적 변화를 측정하여 결정하였다.

2) superoxide dismutase(SOD) 활성화측정²¹⁾

반응액(1.5ml)은 potassium phosphate buffer(pH 7.8) 50mM, EDTA 0.1mM, cytochrome C 10μM, xanthin monosodium salt 0.05mM, xanthin oxidase(XOD) 0.008U(blank의 흡광도 변화율이 약 0.020/min가 되는 양), H₂O₂ 0.5ml 및 조효소액(2℃에 약 12시간 투석한 것) 150μl로 조정하였다. XOD의 첨가로 반응을 개시하여 cytochrome C의 환원을 A_{550nm}의 증가로 측정하였다.

3) ascorbate peroxidase(AP) 활성화측정²²⁾

반응액(1.5ml)은 potassium phosphate buffer(pH 7.0) 50mM, ascorbic acid 0.5mM, H₂O₂ 0.1mM 및 조효소액 75μl로 조성하였다 AP는 불안정하여 활성을 잃기 쉬우므로 조효소액의 조제 후 곧 바로 측정에 사용하였다. H₂O₂의 첨가로 반응을 개시하여 ascorbic acid의 산화를 A_{290nm}의 감소로 측정하였다.

4) glutathione reductase(GR) 활성측정²⁵⁾

반응액(1.5ml)은 potassium phosphate buffer(pH 7.8) 100mM, NADPH 0.2mM, GSSG 0.5mM, MgCl₂ 3mM 및 조효소액 150 μ l로 조성하였다. GSSG의 첨가로 반응을 개시하여 NADPH의 산화를 A_{340nm}의 감소로 측정하였다.

5) monodehydroascorbate reductase(MDAR) 활성측정⁸⁾

반응액(1.5ml)은 potassium phosphate buffer(pH 7.6) 50mM, NADH 0.2mM, ascorbate 1mM, ascorbate oxidase 1unit 및 조효소액 300 μ l로 조성하였다. ascorbate oxidase의 첨가로 반응을 개시하여 NADH의 산화를 A_{340nm}의 감소로 측정하였다.

6) catalase 활성측정²³⁾

반응액(1.5ml)은 potassium phosphate buffer(pH 6.9) 45mM, H₂O₂ 7.2mM 및 조효소액 75 μ l로 조성하였다. H₂O₂의 첨가로 반응을 개시하여, H₂O₂의 감소를 A_{470nm}의 감소로 측정하였다.

7) 가용성 단백질의 정량⁵⁾

Bradford 방법에 의해 coomassie brilliant blue G와 단백질 복합체의 흡광도를 595nm에서 측정하여 단백질을 정량하였다.

結果 및 考察

1. 벼 품종간 oxyfluorfen의 선택성

공시된 7품종의 벼에 대한 oxyfluorfen의 살초 활성을 파악하기 위해, 수분손실률을 조사한 결과(그림 1), oxyfluorfen에 대해 내성 품종으로 보고된 Baru, Hawon 및 Hunan 31 품종은 약제 처리 30시간 후에도 수분손실률이 적었으나, 감수성 품종으로 보고된 Weld pelly, HP 907 및 HP 857은 광조사 시간이 경과함에 따라 수분의 손실률이 크게 증가하였으며, 그 중에서도 HP 907은 광조사 30시간 후에는 16% 이상의 수분이 소실되어 가장 높은 감수성을 나타내었다. 한편, 내성 품종인 Hunan 31은 광조사 30시간 후에도 수분손실률은 0.5%에 지나지 않았다. 내성 및 감수성 품종에서 oxyfluorfen에 의한 엽록소 함량의 감소를 조사한 결과(그림 2),

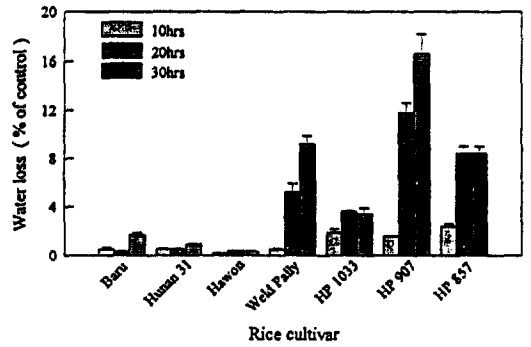


Fig. 1. Desiccation of shoots of rice plants by oxyfluorfen in the light. Shoots of the plants were soaked in 10⁻⁶M oxyfluorfen solution for 2hrs and then exposed to light until each sampling time.

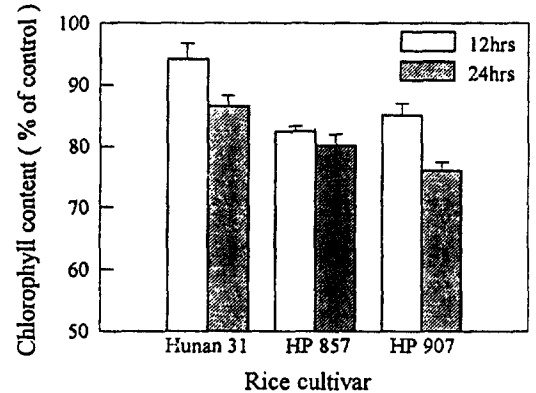


Fig. 2. Chlorophyll loss of shoots of rice plants by oxyfluorfen in the light. Shoots of the plants were soaked in 10⁻⁶M oxyfluorfen solution for 2hrs and then exposed to light until each sampling time.

내성 품종인 Hunan 31은 약제처리 12시간 경과시 무처리에 비해 94% 이상의 엽록소 함량을 나타내었으며 24시간 경과 후에도 86.5%의 함량을 나타내었으나, 감수성 품종인 HP 857 및 HP 907은 약제처리 12시간 경과 후 85% 이하로 감소되었으며, 특히 HP 907은 24시간 경과 후 76%로 감소되었다. Oxyfluorfen의 근부처리시 각 품종의 생육에 미치는 영향을 처리 2일 후에 조사한 결과, 경엽처리에서 내성을 나타냈던 Baru, Hawon, Hunan 31 품종은 근부처리에서도 Weld pelly, HP 1033, HP 907 및 HP

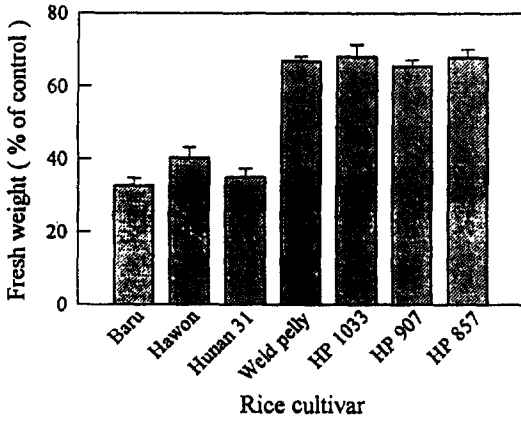


Fig. 3. Effects of $10^{-6}M$ oxyfluorfen on growth of rice cultivars. The herbicide was applied to roots in darkness for 24hrs. After the treatment, the plants were washed and grown for 2days in a herbicide-free nutrient solution.

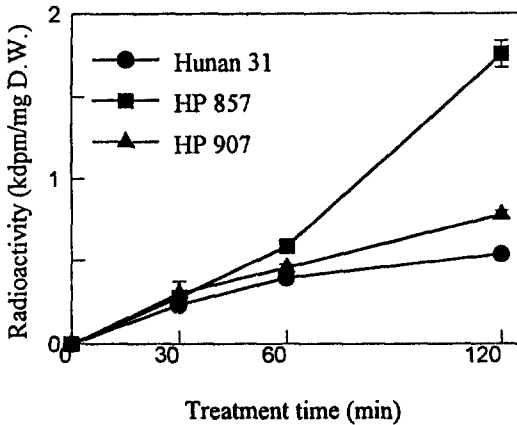


Fig. 4. Absorption of $10^{-6}M$ ^{14}C -oxyfluorfen by leaves of rice plants in darkness.

857에 비하여 높은 내성을 나타내었다(그림 3). 감수성 품종들은 약제에 의한 피해율이 65% 이상으로 높고, 품종간에 별다른 차이가 없었으나, 내성 품종인 Baru와 Hunan 31은 약제에 의한 피해율이 각각 32.7%와 35%의 낮은 정도를 나타내었다. 경엽처리 실험에서 약제에 대한 내성이 강한 것으로 나타난 Hunan 31과 높은 감수성을 보인 HP 907 및 HP 857을 선발하여, oxyfluorfen에 대한 각 품종의 내성의 차이가 약제의 흡수량과 어떤 관계를 갖고 있는지

Table 1. Absorption of $10^{-6}M$ ^{14}C -oxyfluorfen by roots and translocation to shoots in the dark.

Treatment time	Rice cultivar		
	Hunan 31	HP 857	HP 907
	kdpm/mg D. W.		
12hr	Root absorption	8.260	8.690
	Shoot translocation	0.006	0.012
24hr	Root absorption	9.081	10.203
	Shoot translocation	0.017	0.028

조사한 결과, oxyfluorfen에 대해 강한 내성을 나타낸 Hunan 31은 감수성 품종에 비하여 흡수율의 증가가 적었으나, 감수성 품종인 HP 857과 HP 907은 약제 처리동안 Hunan 31에 비하여 흡수율이 높은 경향이였다(그림 4). 특히, HP 857은 HP 907에 비하여 약제처리 60분 이후에 흡수율이 급격히 증가하여 120분 후에는 2배 이상의 흡수율을 나타냈다. 그러므로 Hunan 31, HP 857 및 HP 907의 oxyfluorfen에 대한 감수성은 각 품종에 의한 약제의 흡수량이 클수록 그 정도가 증가하는 것으로 사료된다. Oxyfluorfen의 근부처리에서 내성을 나타냈던 Hunan 31과 감수성을 나타낸 HP 857 및 HP 907을 선정하여 ^{14}C -oxyfluorfen의 흡수율의 변화를 경시적으로 조사한 결과, 감수성품종인 HP 857은 내성품종인 Hunan 31에 비하여 흡수율이 높은 경향이였으나, HP 907은 Hunan 31 보다 낮은 흡수율을 나타내었으며, 처리시간이 12시간에서 24시간으로 증가하여도 지상부로의 이행의 증가는 극히 미미한 경향이였다(표 1). 근부처리의 경우 약제처리시간이 길어져 ^{14}C -oxyfluorfen의 흡수율은 경엽처리보다 현저히 높으나, 약제의 살초활성은 광의 직접적인 조사가 없는 근부에 처리할 때보다 광이 접촉되는 경엽에 처리할 때 더욱 뚜렷한 것으로 관찰되었다. 그러나, 내성과 감수성 품종간에 이행율이 극히 미미하며, Hunan 31의 흡수율이 HP 907 보다 적음에도 불구하고, HP 857 및 HP 907에 비하여 높은 내성을 나타내는 과정을 밝히기 위한

추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

2. Proto IX 축적에 대한 벼 품종간 차이

Proto IX은 광의 존재하에서 유해한 활성산소를 생성하는 광증감색소로서, 그 축적은 DPE계 제초제의 살초작용에서 핵심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 Proto IX의 축적이 약제의 살초활성에 미치는 영향을 경시적으로 조사한 결과, 광조사 12시간 경과 후 Proto IX의 축적량이 가장 높았으며, 24시간 후에는 축적량이 현저히 감소하였다(그림 5). 또한, 감수성 품종인 HP 857과 HP 907은 내성 품종인 Hunan 31보다 경시적으로 Proto IX 축적량이 높은 경향이였다. 특히, Hunan 31은 2시간의 약제처리 후 Proto IX의 축적량이 1.1nmol/g F.W.로 낮았으나, 감수성 품종에 있어서는 5nmol 이상의 축적량을 나타내어 Hunan 31보다 4배 이상이 축적되었다. 그러므로 내성 품종인 Hunan 31은 암상태에서 Proto IX의 축적량이 감수성 품종에 비해 현저히 낮은 결과, 약제처리 후 광을 조사하여도 활성 산소에 의한 과산화가 느리게 진행되나, 감수성 품종에 있어서는 2시간의 암조건하에서의 약제처리에도 Proto IX의 축적이 현저히 증가되어 광이 조사되었을 때 Hunan 31에 비하여 과산화가 진행이

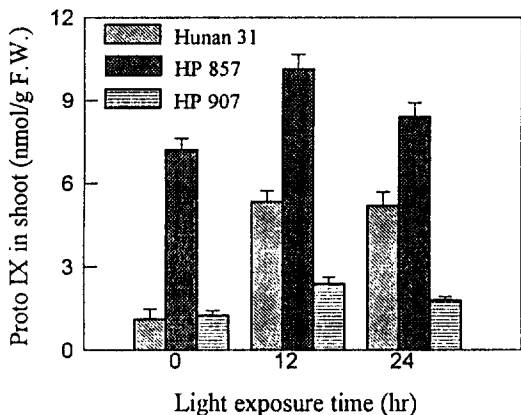


Fig. 5. Proto IX accumulation in intact rice plants during light exposure. Shoots of the plants were soaked in 10^{-6} M oxyfluorfen solution for 2hrs in darkness prior to being exposed to light.

빠르게 진행되어 수분손실률이 크게 증가한 것으로 사료된다. 한편 황화식물체의 plastid로부터 추출한 Protox의 oxyfluorfen에 대한 감수성 정도를 조사한 결과, Oxyfluorfen에 대하여 감수성 품종인 HP857의 I_{50} 농도는 14nM로 내성 품종인 Hunan 31의 50nM 보다 낮은 경향이였다(결과 미제시). Oxyfluorfen을 포함한 DPE계 제초제는 매우 낮은 농도에서 Protox를 저해하는 것으로 보고되었는데, 옥수수의 etioplast로부터 추출된 Protox는 DPE계 제초제인 AFM 4nM에서 I_{50} 을 나타내었으며¹⁶⁾, 또한, 오이의 경우도 Protox에 대한 AFM의 I_{50} 농도는 27nM인 것이 보고되어 있다²⁷⁾. Oxyfluorfen 처리에 의한 식물체의 Proto IX 축적량과 Protox의 감수성의 관련성이 검토된 결과, Proto IX의 축적속도가 빠른 벼나 강피에서는 oxyfluorfen에 대한 Protox

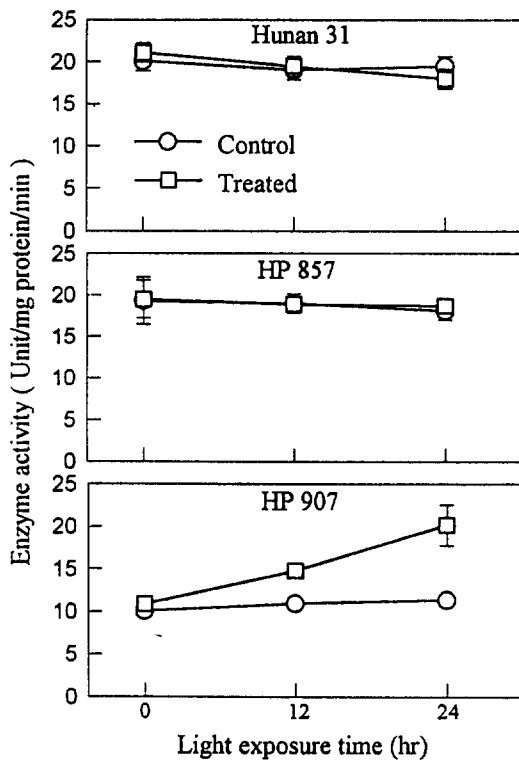


Fig. 6. Effect of oxyfluorfen on superoxide dismutase activity in rice plants. Shoots of the plants were soaked in 10^{-6} M oxyfluorfen solution for 2hrs in darkness prior to being exposed to light.

의 감수성도 다른 식물보다 높은 것이 밝혀져, 일부의 이종식물간에 있어서 Proto IX 축적에 Protox 감수성이 관여하고 있을 가능성이 시사되었다^{13,19}.

3) 항산화효소활성과 oxyfluorfen에 대한 감수성의 관계

Oxyfluorfen에 대하여 서로 다른 감수성을 나타내는 품종들을 $10^{-6}M$ 의 oxyfluorfen수용액에 2시간동안 침적처리한 후, 광조건하에서 경시적으로 항산화효소활성의 변화를 조사하였다(그림 6,7,8,9,10). 경엽부에 대한 약제처리 후 광조사시간의 경과와 더불어 수분손실률은 증가되는 경향이었으나(그림 1), AP, GR 및 MDAR은 무처리에 비하여 약제처리구에서 그 활성이 더 증가되는 경향을 나타내었다(그림 7,8,9). 약제

처리 후 광조사 시간이 경과함에 따라 감수성 품종인 HP 857과 HP 907에서는 catalase의 활성이 저하되었다(그림 10). SOD의 경우는 감수성인 HP 907만이 약제처리 후 광조사 시간이 경과함에 따라 무처리에 비하여 효소활성이 현저히 증가되었다(그림 6). 한편, 각 품종에 내재되어 있는 항산화효소의 이종식물간에서 현저한 차이가 있으며, oxyfluorfen에 대한 내성이 큰 벼에서는 전체적으로 효소활성이 높고, 감수성이 큰 메밀에서는 낮은 것으로 보고되었으나²⁰, 본 실험에서 공시된 벼 품종간에서는 큰 차이가 없었으며, 다만, SOD의 경우 감수성 품종인 HP 907은 내성품종인 Hunan 31 및 또 다른 감수성 품종인 HP 857보다 50% 정도의 낮은 활성을 나타내었다(표 2). 그러므로 catalase를 제외한 다른 항산화효소들은 약제처리 후, 광조

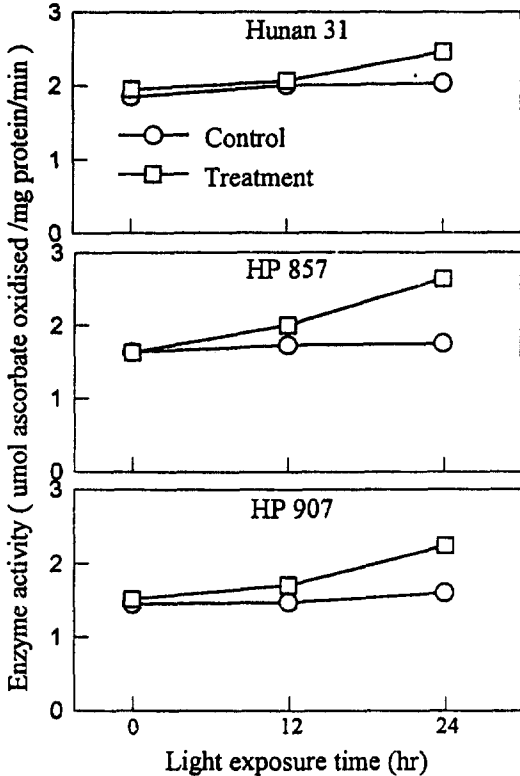


Fig. 7. Effect of oxyfluorfen on ascorbate peroxidase activity in rice plants. Shoots of the plants were soaked in $10^{-6}M$ oxyfluorfen solution, for 2hrs in darkness prior to being exposed to light

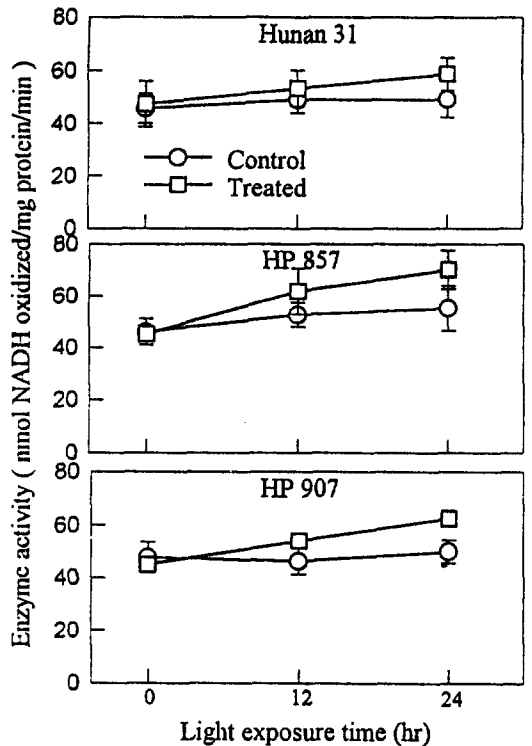


Fig. 8. Effect of oxyfluorfen on glutathione reductase activity in rice plants. Shoots of the plants were soaked in $10^{-6}M$ oxyfluorfen solution, for 2hrs in darkness prior to being exposed to light

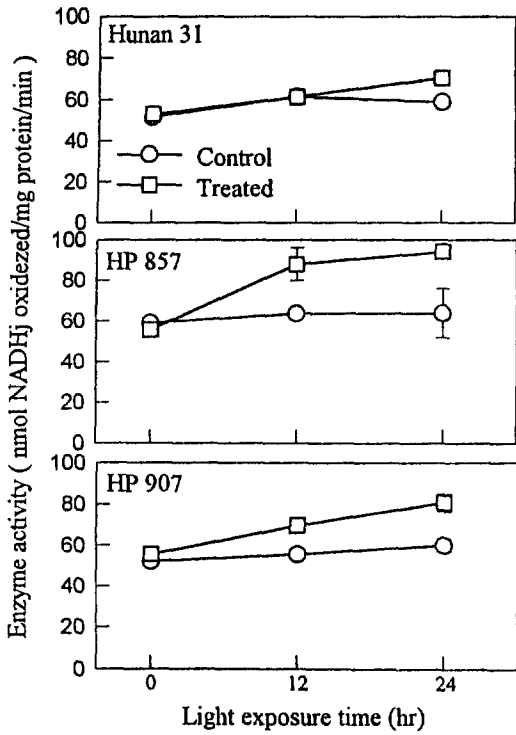


Fig. 9. Effect of oxyfluorfen on monodehydro-ascorbate reductase activity in rice plants. Shoots of the plants were soaked in $10^{-6}M$ oxyfluorfen solution in darkness prior to being exposed to light

사 24시간 이후까지 약해의 진행에도 불구하고 효소활성의 저하가 없는 것으로 보아, 과산화적 손상에 의한 직접적인 영향은 적으며 내재된 항산화효소의 활성의 차이는 oxyfluorfen에 대한 품종간 감수성과 관련이 적은 것으로 사료된다.

따라서, DPE계 제초제 oxyfluorfen에 대한 벼 품종간 감수성의 차이는 약제의 흡수량 및 흡수된 약제에 의한 Proto IX 축적량의 차이가 중요한 요인으로 작용하는 것으로 사료된다.

摘 要

Oxyfluorfen에 대한 감수성이 상이한 것으로 보고된 7품종을 공시하여, oxyfluorfen에 대한 내성 및 감수성의 정도를 검정하고, 약제에 대

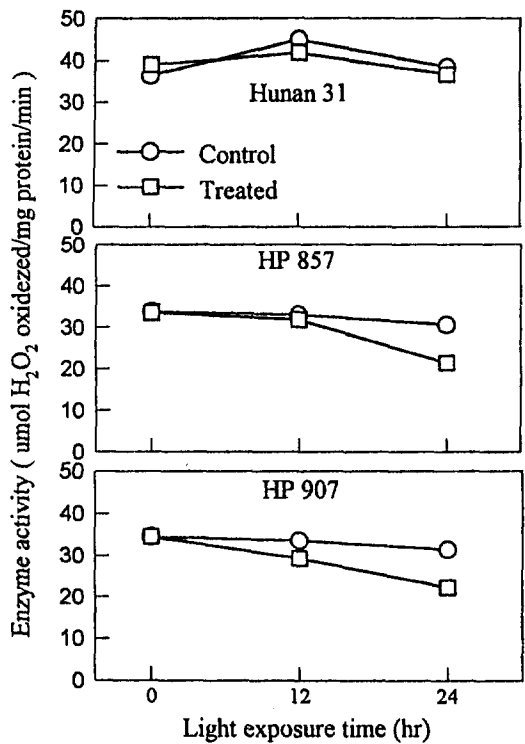


Fig. 10. Effect of oxyfluorfen on catalase activity in rice plants. Shoots of the plants were soaked in $10^{-6}M$ oxyfluorfen solution for 2hrs in darkness prior to being exposed to light

Table 2. Activity of antioxidative enzymes in various rice cultivars.¹⁾

Rice Cultivar	Hunan 31	HP 857	HP 907
	mg protein/min		
SOD	20.1(±1.2)	19.3(±2.9)	10.1(±0.2)
GR	45.7(±5.6)	46.1(±5.1)	47.7(±2.0)
AP	1.85(±0.04)	1.63(±0.1)	1.44(±0.02)
MDAR	51.7(±1.8)	59.2(±2.9)	52.3(±1.4)
Catalase	36.4(±1.5)	33.8(±1.8)	34.6(±0.9)

¹⁾ Units of enzyme activities were as follows ; SOD (superoxide dismutase), units/mg protein/min ; GR (glutathione reductase), nmol NADPH oxidized/mg protein/min ; AP(ascorbate peroxidase), μ mol ascorbic acid oxidized/mg protein/min ; MDAR (monodehydroascorbate reductase), nmol NADH oxidized/mg protein/min ; Catalase, μ mol H_2O_2 oxidized/mg protein/min.

²⁾ Values in parenthesis indicate standard error of the mean.

해 각 품종이 나타내는 반응성의 차이를 해명하기 위하여 살초활성발현에 관여되는 작용기구에 대한 연구를 수행하였다.

1. Oxyfluorfen에 대한 감수성이 다른 7 품종에 대하여 경엽 및 근부처리를 실시한 결과 Baru, Hawon 및 Hunan 31이 내성 품종으로 Weld pelly, HP 1033, HP 907 및 HP 857이 감수성 품종으로 구분되었다. 각각의 품종 중에서 내성품종으로 Hunan 31과 감수성 품종인 HP 907 및 HP 857을 선정하여 ¹⁴C-oxyfluorfen의 흡수율을 조사한 결과, 경엽처리 시에는 Hunan 31에 비하여 감수성 품종의 경시적인 흡수율이 현저히 증가하는 경향이었는데, HP 857의 경우는 Hunan 31에 비하여 약제처리 120분 후의 흡수율이 3.2 배에 달하였다.
2. 활성산소를 생성하는 것으로 알려진 광증감 색소인 Proto IX의 축적량을 내성 및 감수성 품종들에서 조사한 결과, 약제처리 후 0, 12, 24시간의 광조건하에서 감수성 품종은 내성 품종보다 Proto IX의 축적량이 많았다. 특히, 2시간의 약제처리후 HP 857 및 HP 907은 Hunan 31에 비하여 Proto IX의 축적량이 4.7배 이상 높은 것으로 나타나 광조사 개시기의 Proto IX 축적량과 약제에 대한 감수성은 높은 상관성이 있는 것으로 사료되었다.
3. 활성산소에 의한 과산화작용을 방어하는 각종의 항산화효소활성은 약제에 대한 품종간 감수성과 관련성이 적은 것으로 나타났는데, SOD, AP, GR 및 MDAR의 활성은, 각 품종에서 광조사시간이 경과함에 따라 수분손실 등의 약해가 증가중임에도 불구하고 무처리보다 처리의 경우가 더 증가하는 경향이였다.

謝 辭

본 연구를 수행하는 과정에서 oxyfluorfen과 연구재료인 벼 품종을 제공해 주시고 귀중한 여러 가지 조언을 해주신 전남대학교의 구자욱 교수님, 박노동 교수님과 국용인 박사님께 감

사드립니다.

引用 文 獻

1. 淺田 浩二. 1985. 植物の光酵素障害-その抑制と増幅. 日本農藥學會誌 10 : 729-743.
2. 淺田 浩二. 1988. 活性酵素の生成・消去・作用. 蛋白質 核酸 酵素 臨時 増刊「活性酵素」 33 : 2659-2664.
3. Becerril, J.M. and S.O. Duke. 1989. Acifluorfen effects on intermediates of chlorophyll synthesis in green cucumber cotyledon tissues. Pestic. Biochem. Physiol. 35 : 119-126.
4. Böger, P. 1984. Multiple modes of action of diphenyl ethers. Z. Naturforsch. 39c : 468-475.
5. 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.
6. Cox, G.S. and D.G. Whirten. 1983. Excites stste interactions of proto porphyrin IX and related porphyrins with molecular oxygen in solutions and organised assemblies. In "Porphyrin Photosensitization" ed. by D. Kessel and T.J. Dongherty, New York, pp.279-292.
7. Derrick, PM., A.H. Cobb and K.E. Pallet. 1988. Ultrastructural effects of the diphenyl ether herbicide acifluorfen and the experimental herbicide M&B 39279. Pestic. Biochem. Physiol. 32 : 153-163.
8. Finckh, B.F and K.J. Kunert. 1985. Vitamin C and E : An antioxidative system against herbicide-induced lipid peroxidation in higher plants. J. Agric. Food Chem. 33, 574-577.
9. Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57 : 1332-1334.
10. Kenyon, W.H, S.O. Duke and K.C. Vaughn.

1985. Sequence of effects of acifluorfen on physiological and ultrastructural parameters in cucumber cotyledon discs. *Pestic. Biochem. Physiol.* 24 : 240-250.
11. Lambert, R., K.J. Kunert, and P. Böger. 1979. On the phytotoxic mode of action of nitrofen. *Pestic. Biochem. Physiol.* 11, 267-274.
 12. Lee, J.J., H. Matsumoto, J.Y. Pyon and K. Ishizuka. 1991. Mechanism of selectivity of diphenyl ether herbicides oxyfluorfen and chlomethoxynil in several plants. *Weed Res. Japan.* 36 : 162-170.
 13. Lee, J.J., H. Matsumoto, and K. Ishizuka. 1992. Light involvement in oxyfluorfen-induced protoporphyrin IX accumulation in several species of intact plants. *Pestic. Biochem. Physiol.* 44 : 119-125.
 14. Lee, H.J., M.V. Duke, and S.O. Duke. 1993. Cellular localization of protoporphyrin-oxidizing activities of etiolated barley(*Hordeum vulgare* L.. leaves. *Plant Physiol.* 102 : 881-889.
 15. Lee, H.J. and S.O. Duke. 1994. Protoporphyrin IX-oxidizing activities involved in the mode of action of peroxidizing herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 2610-2618.
 16. 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.
 17. Matringe, M. and R. Scalla. 1988. Effects of acifluorfen-methyl on cucumber cotyledon : porphyrin accumulation. *Pestic. Biochem. Physiol.* 32 : 164-172.
 18. 松本 宏. 1990. ジフェニルエーテル系除草剤の作用機構研究の新展開. *雑草研究.* 35 : 1-12.
 19. Matsumoto, H, J.J. Lee, and K. Ishizuka. 1993. A rapid and strong inhibition of protoporphyrinogen oxidase from several plant species by oxyfluorfen. *Pestic. Biochem. Physiol.* 47 : 113-118.
 20. Matsumoto, H., J.J. Lee, and K. Ishizuka. 1994. Variation in crop response to protoporphyrinogen oxidase inhibitors. *Amer. Chem. Soc. symp. Ser.* 559 : 120-132.
 21. McCord, J.M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 244 : 6049-6055.
 22. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 22 : 867-880.
 23. 二木 鋭雄. 1990. 生体内における酵素毒性に対する防御活性酵素種化学 季刊 化学總説 7 : 177-190.
 24. Retzlaff, K. and P. Böger. 1996. An endoplasmic reticulum plant enzyme has protoporphyrinogen IX oxidase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.* 54 : 105-114.
 25. Schaedle, M. and J.A. Bassham. 1977. Chloroplast glutathione reductase. *Plant Physiol.* 59 : 1101-1112.
 26. Schmidt, A. and K.J. Kunert. 1986. Lipid peroxidation in higher plants the role of glutathione reductase. *Plant Physiol.* 82 : 700-702.
 27. Witkowski, D.A. and B.P. Halling. 1989. Inhibition of plant protoporphyrinogen oxidase by the herbicide acifluorfen-methyl. *Plant Physiol.* 87 : 632-637.