

除草劑 Cyhalofop-butyl ester의 벼와 피間의 選擇性機作

Ⅲ. 吸收, 轉移 및 代謝

金吉雄* · 朴載邑**

Selective Mechanism of Cyhalofop-butyl ester between Rice(*Oryzae sativa* L.) and *Echinochloa crus-galli*

Ⅲ. Uptake, Translocation, and Metabolism of ¹⁴C-cyhalofop-butyl ester

Kim, K.U.* and J.E. Park**

ABSTRACT

This experiment was conducted to determine the selective mechanism of cyhalofop-butyl ester on uptake, traslocation, and metabolism of the herbicide in both rice and *Echinochloa crus-galli*.

Uptake and translocation of ¹⁴C-cyhalofop-butyl ester was higher in *E. crus-galli* than rice when treated to shoot. ¹⁴C-uptake by root of *E. crus-galli* increased rapidly at 30 minute after treatment and reached the maximum at 12 hours after treatment. After that, uptake was leveled off.

Uptake pattern in rice root was not significantly affected by the duration of herbicide treatment. In *E. crus-galli*, the absorbed ¹⁴C-cyhalofop-butyl ester seemed to be rapidly metabolized into free acid and the content of changed free acid was higher than rice.

Key words : Cyhalofop, Selective mechanism, Site of action, Traslocation

緒 論

禾本科 雜草 防除用 除草劑로는 diclofop을 포함한 fluazifop-butyl, haloxyfop-methyl, fenoxaprop-ethyl 및 propanil 등 페녹시계 除草劑가 主種을 이루고 있으며 이들은 밭에 發生되는 禾本科雜草를 效果의으로 防除할 수 있는 禾本科 專用 밭除草劑이다^{1,3,4,6)}.

그러나 最近에 開發된 벼 乾畚直播用 除草劑인 cyhalofop-butyl ester(이하 cyhalofop-BE)는

生育期에 禾本科 雜草 防除用으로 開發되어 있으며 특히 피, 바랭이에는 效果가 높으나 벼에는 강한 耐性을 보여 벼와 피間에 選擇성이 높은 除草劑로 알려져 있다.

이와같이 논에 發生되는 禾本科雜草만 效果的으로 防除하기 위해서는 禾本科 屬間 높은 選擇성이 要求되며 이러한 選擇성은 作物과 雜草間의 感受性 部位差異, 吸收移行差異 및 生化學的 不活性差異에 의해 選擇성을 보인다고 알려져 있다^{11,15)}.

現在까지 알려진 禾本科 屬間 選擇성을 보

* 慶北大學校 農科大學 農學科(Dept. of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea)

** 農業科學技術院(National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea)

(1997. 4. 2 접수)

이는 除草劑의 作用機作은 生育初期 皮防除用으로 使用中인 酸amide系의 propanil은 aryl acylamidase I 酵素의 加水分解 作用에 의해 選擇性を 보이며⁷⁾, quinoline carboxylic acids系의 quinclorac은 phenoxy系의 作用機作과 유사한 脂肪酸 生合成에 關聯된 機作으로 選擇性を 보인다고 알려져 있으나^{2,12)} 正確한 作用機作은 研究中에 있다.

그러나 cyhalofop-BE는 前報^{17,18)}에서 報告한 바 같이 禾本科 雜草間에 特異인 選擇性を 보여 주었으며 解剖學的으로 볼 때 作用點은 一般 페녹시系 除草劑와 同一하게 分裂組織을 沮害시키는 데 그 沮害程度가 벼와 皮間에 顯著한 差異를 보였다.

이와같이 벼와 皮間에 生物學的 反應差異를 보이는 原因을 究明하고자 ¹⁴C-cyhalofop-BE의 放射線 同位元素를 利用하여 벼와 皮間의 吸收樣相, 吸收後 體內 分布程度, 移行性 및 體內 代謝 與否를 試驗한 結果 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

벼와 皮의 屬間選擇性 機作을 究明하기 위해 皮와 秋晴벼를 供試하여 19.23 mM의 ¹⁴C-cyhalofop-BE(specific activity : 26.0 mCi/mmol) 2ml를 1% Tween 20이 包含된 acetone 50ml에 넣어 溶解시킨 다음 그 中 5ml를 取하여 同位元素를 含有하지 않은 cyhalofop-BE 0.75g를 넣고 蒸溜水를 加하여 50ml로 만들었다. 이때 最終 藥劑 濃度는 50 ppm이고 最終 放射能 非活性은 9.22 mCi/mmol이었다. 이렇게 稀釋된 放射線 同位元素를 autoradiogram試驗과 吸收 時間別 放射線 分布量 測定 및 體內代謝 試驗에 使用하였다.

1. Autoradiogram

Cyhalofop-BE에 對한 벼와 皮의 吸收程度를 比較하기 위하여 벼와 皮의 3葉期에 9.2 mCi/mmol 濃度의 放射線 同位元素를 줄기 上端에 cotton wool로 묶은 後에 同位元素 稀釋液 0.2

ml를 1ml用 注射器로 處理部位에 接種하였으며 處理後 24時間後에 即時 60℃의 乾燥機에 펼쳐 넣어 組織을 乾燥시켰으며 乾燥된 試料은 X-ray film를 附着하여 빛이 들어가지 않게 植物標本 製作器속에 넣은 後 暗室에서 2週間 露出시켰다.

2. 吸收時間別 體內分布量

¹⁴C-cyhalofop-BE의 根部로 吸收시키기 위해 直徑 5cm의 試驗管에 稀釋液 1ml씩을 分注하고 3葉期의 벼와 皮의 健全한 植物體 10本씩 試驗管에 넣어 根部 끝만 담구어 吸收시켰다. 吸收始作 30分, 1, 3, 6, 12, 24時間後에 蒸溜水로 表面에 附着된 藥液을 完全히 씻어내고 即時 60℃ 乾燥機에 넣어 乾燥시켰으며 乾燥된 뿌리와 줄기의 試料 全體 무게를 秤量하였고 微細粉碎機로 곱게 粉碎한 後 一定量씩 分取하여 sample oxidizer(Packard model 306)로 燃燒시켜 cocktail buffer에 捕集된 放射線 同位元素를 liquid scintillation analyzer(Packard model 1600TR)로 放射線 同位元素의 量을 DPM으로 測定하였다. 放射線 同位元素 吸收量을 求하기 위해 試料 무게를 곱하였고 이것을 다시 試驗에 따라 mg當 또는 g當으로 換算하여 DPM을 求하였다.

3. 體內代謝

Cyhalofop-BE을 吸收한 벼와 皮의 體內에서 除草劑의 代謝產物의 生成與否를 比較하기 위해 Imai와 Kuwatsuka의 方法¹⁵⁾에 따라 試驗管에 1ml씩 24時間 吸收시킨 벼와 皮의 試料 各 2g를 10ml methanol로 抽出한 後 濃縮機로 同一하게 methanol를 完全히 除去시킨 後 均一하게 2ml의 methanol를 넣어 다시 溶解시킨 다음 silicagel TLC plate(Merck社, 60F, 254, 0.25mm)에 20 μ l씩 spotting한 다음 benzene : ethyl acetate : methanol=6 : 3 : 3 展開溶媒로하여 展開시켰다. 母化合物의 R_f값을 求하기 위해 原液 10 μ l를 同一하게 展開시켜 母化合物과 抽出된 試料의 R_f값을 相互 比較하였다. 展開된 TLC plate는 TLC radioscaner(Berthold model LB 2723)로 R_f 位置別 同位元素 分布 peak와 分布量을 CPM

으로 求하였다.

結果 및 考察

1. Autoradiogram

^{14}C -cyhalofop-BE를 利用한 벼와 피의 體內 吸收程度를 調査한 結果는 그림 1과 같이 줄

기部位에 處理된 藥劑는 吸收後 體內에 移行 되어 있었으며 吸收量 및 移行量이 벼보다 피가 높은 樣相을 보여 주었다. 이와같이 同一한 接種量과 接種時間에서 벼와 피間에 吸收量이 相異한 樣相을 보여주는 것은 두 植物間의 生態的 特性差異로 생각되며 細胞膜 構造 및 膜 構成物質 差異에서 나타나는 結果로 思料되나

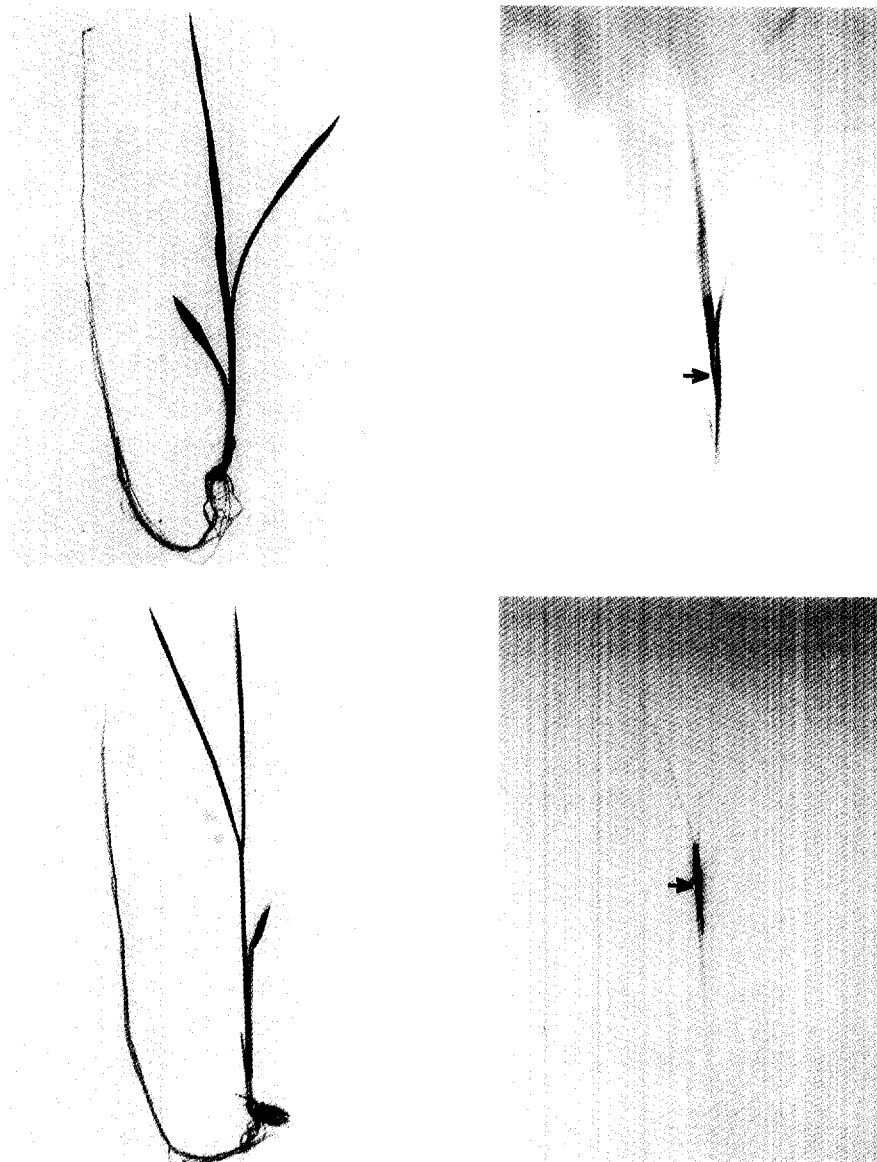


Fig. 1. Autoradiograph of *Echinochloa crus-galli*(A) and rice(B) plants treated with ^{14}C -cyhalofop-butyl ester at the upper stem. The plant mount is on the left and the autoradiograph is on the right on the autoradiograph, the arrow indicates the ^{14}C application area.

이 부분에 대한 追後 細密한 試驗이 要求된다.

2. 體內 轉移 및 分布量

^{14}C -cyhalofop-BE를 利用한 벼와 피의 體內 吸收時間을 調査한 試驗은 그림 2와 같다. 피의 境遇는 吸收 30分後에 5,558DPM에서부터 1時間後에 5,993DPM으로 時間이 지나면서 계속 增加하여 12時間後에는 15,514DPM으로 最大를 보이고 그 以後부터는 12時間과 큰 差異를 보이지 않았다. 反面에 벼의 境遇에는 30分後는

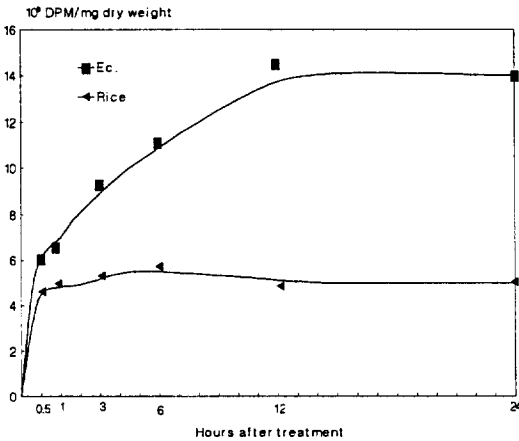


Fig. 2. Uptake of ^{14}C -compounds by *Echinochloa crus-galli* and rice after the application of ^{14}C -cyhalofop-butyl ester at the root tips.

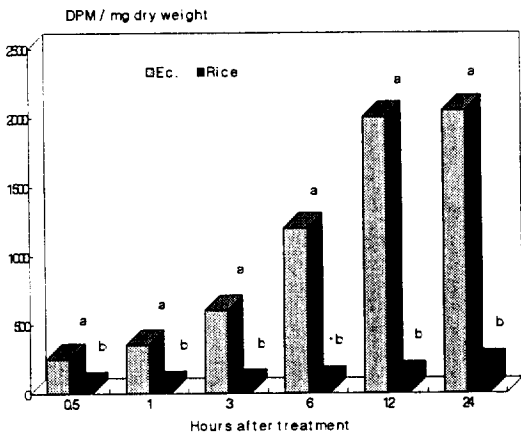


Fig. 3. Translocation of ^{14}C -compounds to shoots of *Echinochloa crus-galli* and rice after the application of ^{14}C -cyhalofop-butyl ester at the root tips.

4,527DPM, 1時間後가 4,620DPM, 3時間後에는 5,369DPM으로 時間이 지남에 따라 큰 差異를 보이지 않고 있다. 따라서 피는 12時間까지 吸收時間이 지나면서 꾸준히 增加하는 傾向을 보이거나 벼의 境遇는 吸收 30分부터 3時間後까지 增加하다가 그 以後에는 큰 變化를 보이지 않고 있다. 또한 吸收 時間別로 比較해 볼 때 全體 吸收量이 最大를 보인 吸收 12時間後에 피가 벼의 3배가량 差異를 보였다. 그리고 뿌리 吸收로부터 地上部로의 移行程度를 調査한 結果는 그림 3에서와 같이 피의 境遇는 30分後가 158DPM, 1時間後는 293DPM, 3時間後는 508DPM, 6時間後는 1,200DPM, 그리고 12時間後는 1,959DPM로 最大를 보이고 있으며 벼의 境遇는 30分後가 27DPM, 1時間後는 30DPM으로 6時間後까지 差異를 보이지 않았으며 12時間後에는 85DPM, 그리고 24時間後가 141DPM으로 地上部로의 移行程度가 피에 比하여 매우 낮았다. 또한 最大의 移行程度를 보인 12時間後에 피가 20배 程度 높았다. 따라서 벼와 피의 吸收量에 있어 큰 差異를 보여 주고 있는데 이것은 피에 比해 벼가 극히 적은 量이 體內에 吸收되고 또한 吸收된 藥劑의 體內 移行性도 매우 낮은 樣相을 보여 吸收된 藥劑에 의해 벼와 피의 作用點인 生長點의 細胞分裂 沮害 程度에 差異가 클 것으로 思料되며 벼와 피의 cyhalofop-BE에 對한 吸收 및 移行의 差異는 屬間 選擇性을 나타내는 큰 原因으로 생각된다.

Sethoxydim은 感受性植物이나 耐性植物에 同一한 樣相으로 吸收 및 轉移가 되나 耐性植物에는 感受性 植物보다 代謝가 빨리 일어난다고 했으며^{5,8,13,16}, Buhler 등⁴)은 haloxyfop는 處理한 藥量中 體內에 吸收되어 移行되는 比率는 10-20% 程度가 移行된다고 報告하여 處理量에 比해 移行量은 극히 적음을 보여 주었으며 吸收量의 差異는 結局 沮害部位로 移行되는 移行量이 制限되어 耐性을 보이는 境遇로 생각되고 本 試驗에서도 벼가 cyhalofop에 耐性을 보이는 것은 吸收量과 移行量의 差異에서 起因된 것으로 思料된다.

3. 體內代謝

Cyhalofop-BE을 吸收한 벼와 피의 體內에서 除草劑의 代謝產物 生成與否를 調査한 試驗 結果는 그림 4와 表 1과 같다.

植物體內에서 抽出된 ^{14}C -cyhalofop 藥劑의 抽出物로부터 TLC-radioscanner에 依한 部位別 放射線 同位元素의 分布量은 母化合物의 R_f 值가 0.78程度에서 peak를 보여 母化合物의 R_f 值가 0.78임을 보여준 反面, 벼와 피는 R_f 值가 0.23-0.24의 部位에서 peak를 보여 化合物의 性質이 相異함을 나타내었다. 또한 R_f 別 放射線 同位元素의 分布量을 調査한 結果는 表 1에서와 같이 벼에서 R_f 0.23部位의 分布量이 4,485CPM인데 비해 피는 R_f 0.24部位의 分布量은 16,587 CPM으로 量的으로 볼 때 分布量에 있어 相當한 差異를 보였다. 이와같이 母化合物의 R_f 值를 比較해 볼 때 R_f 0.24部位의 化合物은 展開溶媒의 性質로 보아 極성이 높은 cyhalofop의 acid 化合物로 推定된다.

一般的으로 殺草系 除草劑는 그 自體로는 浸透能力을 보이지 못하고 ester 形態로 體內에 浸透와 同時에 加水分解作用으로 acid 化合物로 轉換되어 作用點에 移行하여 殺草效果를 보이는 것으로 알려져 있으며 이것은 Hoppe 等¹⁴⁾이 diclofop의 ester와 acid形態의 2種類를 利用해 옥수수 幼苗의 脂肪酸 生合成 阻害程度를 比較한 試驗에서도 acid 形態가 阻害能이 높게 보여 준다는 것은 本 試驗의 結果와 類似한 것으로 思料된다.

以上에서 볼 때 피는 生態的인 特性에 의해 cyhalofop-BE의 吸收程度가 벼 보다 높아 活性物質로 推定되는 acid化合物로의 轉換이 相對的으로 많았으며 이것이 作用點인 生長點의 分裂組織에 移行되어 殺草作用을 보여 벼와 피間에 選擇性을 보이는 原因으로 思料된다.

摘 要

벼와 피의 屬間 選擇性을 究明하기 위해 ^{14}C -cyhalofop-BE를 利用하여 피와 벼의 吸收程度 및 轉移의 差異와 代謝作用의 機作을 究

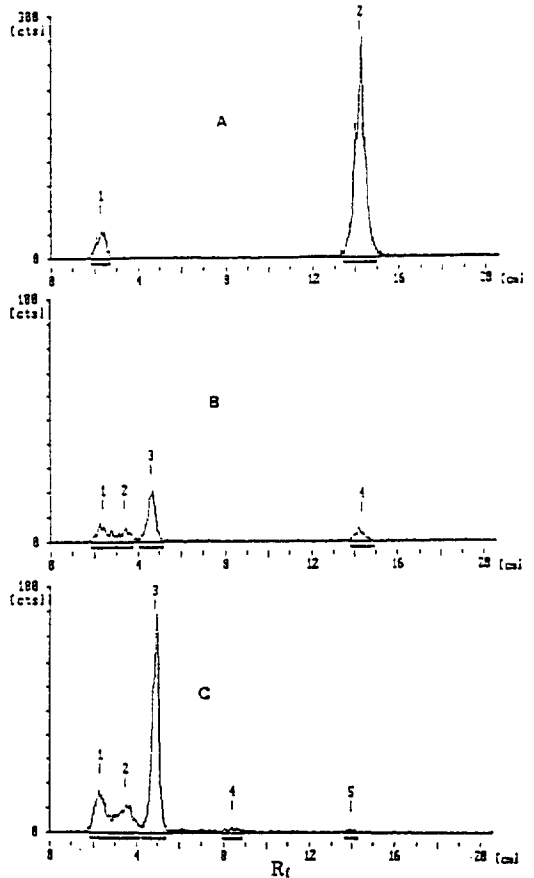


Fig. 4. Radiochromatograph of extracts by TLC radioscanner of *Echinochloa crus-galli* and rice at 24 hours after application of ^{14}C -cyhalofop-butyl ester. (A : standards, B : rice and C : *E. crus-galli*)

Table 1. Distribution of each metabolite of rice and *Echinochloa crus-galli* as affected by ^{14}C -cyhalofop-butyl ester.

Plant	Name	R_f	Net (cpm/ml)	ROIs (%)
Rice	1	0.12	1,982	22
	2	0.17	1,258	14
	3	0.23	4,485	50
	4	0.72	1,208	14
E.C	1	0.12	4,797	18
	2	0.17	4,756	18
	3	0.24	16,587	61
	4	0.42	589	2
	5	0.70	303	1

* Samples were corrected at 24 hr after treatment. TLC solvent system (Benzene : Ethyl acetate : Methanol = 6 : 3 : 3)

명한 試驗 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. ¹⁴C-cyhalofop-BE를 줄기에 處理할 경우 벼와 피 모두 體內 吸收 및 移行이 잘 되었으나 벼 보다 피가 吸收量이 높았고 體內 移行 程度가 높은 樣相을 보여 주었다.
2. ¹⁴C-cyhalofop-BE의 피 體內 吸收時間은 吸收 30分後부터 急激히 增加하기 시작하여 吸收 12時間 後에 最大를 보여 주었으나 벼는 吸收 30分後부터 增加하다가 時間이 지나면서 큰 變化를 보이지 않아 吸收量에서도 벼가 顯著히 낮았고, 줄기로부터 上方 및 下方 移動도 피가 훨씬 높은 傾向을 보였다.
3. ¹⁴C-cyhalofop-BE가 피 體內에 吸收後 活性 物質인 acid 化合物로 轉換이 높았으나 벼는 顯著히 낮은 傾向을 보였다.

● 引用 文 獻

1. Beardmore, R.A. and D.L. Linscott. 1989. Relative susceptibility of oats(*Avena sativa*) and wheat(*Triticum aestivum*) to fluazifop, haloxyfop, and sethoxydim. Weed Technology. 3 : 76-81.
2. Berghaus, R. and B. Wuerer. 1989. The uptake, translocation and metabolism of quinclorac (BAS 514 H) in rice and barnyardgrass. Twelfth Conference of APWSS. PP. 133-139.
3. Boldt, L.D. and M. Barrett. 1991. Effects of diclofop and haloxyfop on lipid synthesis in corn(*Zea mays*) and bean(*Phaseolus vulgaris*). Weed Sci. 39 : 143-148.
4. Buhler, D.D., B.A. Swisher and O.C. Burnside. 1985. Behavior of ¹⁴C-haloxyfop-methyl in intact plants and cell cultures. Weed Sci. 33 : 291-299.
5. Chandrasena, N.R. and G.R. Sagar. 1987. The effect of site of application of ¹⁴C-fluazifop on its uptake and translocation by quackgrass (*Agropyron repens*). Weed Sci. 35 : 457-462.
6. Chandrasena, N.R. and G.R. Sagar. 1989.

Fluazifop toxicity to quackgrass(*Agropyron repens*) as influenced by some application factor and site of application. Weed Sci. 37 : 790-796.

7. Chen, J.J. and S. Matsunaka. 1989. Distribution of propanil hydrolyzing enzyme, aryl acylamidase I in genus oryza. Twelfth Conference of APWSS. pp. 479-486.
8. Derr, J.F., T.J. Monaco and T.J. Sheets. 1985. Uptake and translocation of fluazifop by three annual grasses. Weed Sci. 33 : 612-617.
9. Fielding, R.J. and E.W. Stoller. 1990. Effects of additives on the efficacy, uptake, and translocation of the methyl ester of thifensulfuron. Weed Sci. 38 : 172-178.
10. Grafstrom, L.D. and J.D. Nalewaja. 1988. Uptake and translocation of fluazifop in green foxtail(*Setaria viridis*). Weed Sci. 36 : 153-158.
11. Griffin, J.L. and J.B. Baker. 1990. Tolerance of rice(*Oryza sativa*)cultivars to fenoxaprop, sethoxydim, and haloxyfop. Weed Sci. 38 : 528-531.
12. Guh, J.O., W.H. Im, S.U. Han and Y.I. Kuk. 1992. Application rate modification of paddy herbicide quinclorac depending on different cultural patterns. Kor. J. Weed Sci. 12(2) : 124-131.
13. Hitoshi, S. 1982. Current trends in foliage-applied herbicides. J. Pesticide Information. 42 : 28-35.
14. Hoppe, H.H. and H. Zacher. 1985. Inhibition of fatty acid biosynthesis in isolated bean and maize chloroplasts by herbicidal phenoxyphenoxypropionic acid derivatives and structurally related compounds. Pesticide Biochemistry and Physiology. 24 : 298-305.
15. Imai, Y. and S. Kuwatsuka. 1984. Uptake, translocation, and metabolic fate of the herbicide molinate in plants. J. Pesticide Sci. 9 : 79-90.

16. 石川尙雄. ナフ乳劑の研究開發とその生理作用. 農藥時代. 153 : 36-38.
17. 朴載邑·柳甲喜·李仁龍·李漢圭·申鉉承·李正云·金吉雄. 1994. 除草劑 cyhalofop-butyl ester의 벼와 피間 選擇性 機作. I. 除草劑 cyhalpofop-butyl ester에 對한 벼와 피間 反應差異. 韓雜誌 14(2) : 94-100.
18. 朴載邑·柳甲喜·李仁龍·李漢圭·申鉉承·李正云·金吉雄. 1994. 除草劑 cyhalofop-butyl ester의 벼와 피間 選擇性 機作. II. 除草劑 cyhalpofop-butyl ester의 벼와 피間에 미친 解剖學的 影響. 韓雜誌 14(3) : 223-227.