

## Acetolactate synthase 저해 제초제인 chlorsulfuron의 작용기작

김성문<sup>1</sup> · 김용호<sup>1</sup> · 허장현<sup>1</sup> · 한대성<sup>1</sup>

강원대학교 농업생명과학대학 농업과학연구소, <sup>1</sup>강원대학교 농업생명과학대학 자원생물환경학부

### I. 서론

현재 전세계적인 제초제 개발 선두회사에서는 저 약량투여, 고 선택성, 저 인축독성, 저 환경오염으로 특징지어지는 화합물을 새로운 제초제로 개발 중에 있다. 이러한 특징을 지닌 화합물들은 기존에 사용되고 있던 제초제들을 대체하면서 큰 시장성을 확보하고 있다. 실제로 지난 1991년부터 1997년까지 Brighton Crop Protection Conference-Weeds에 보고되었던 신규 제초제 51종 중 branched-chain 아미노산 [BCAA: leucine (LEU), valine (VAL), isoleucine (ILE)] 생합성 과정(그림 1)에 관여하는 효소 acetolactate synthase(ALS, E.C. 4.1.3.18, 혹은 acetohydroxyacid synthase)를 저해하는 제초제가 19종으로 가장 많이 개발되었음은 이를 뒷받침하고 있다 (Pallett, 1997).

ALS 저해 제초제인 chlorsulfuron의 개발 이래로 BCAA 생합성경로에 관여하는 효소들을 제초제의 작용점(target)으로 개발하려는 시도가 이루어져 threonine deaminase, acetolactate reductoisomerase(Schulz 등, 1988), isopropylmalate dehydrogenase(Wittenbach 등, 1994)를 저해하는 화합물들이 합성되었고, 이 화합물들의 제초효과 검정이 이루어졌다. 이러한 실험용 약제들의 *in vitro* 효소저해활성은 기존 제초제들의 효소저해활성과 비교하여 거의 비슷하거나 혹은 약간 높은 수준이었지만, *in vivo* 제초활성은 기존 제초제들의 그것과 비교하여 훨씬 낮은 것으로 판명되었다.

현재까지 개발된 BCAA 생합성 저해제들은 sulfonylureas(SU), imidazolinones(IM), triazolopyrimidines sulfonanilides(TP), pyrimidinyl thiobenzoates(PTB)로 대별할 수 있다 (그림 2). 이들 화합물은 비록 화학구조

는 상이하지만 식물체내에 존재하는 ALS를 공통적으로 저해한다 (Shaner와 Singh, 1992). 식물체내에서 ALS 저해 제초제들은 1차적으로 작용점인 ALS와 반응한 후, 이의 결과로서 2차적으로 다양한 생리생화학반응을 교란시키는 것으로 알려져 있다. ALS 저해 제초제의 살초기작은 BCAA의 결핍, 독성산물의 축적, 광합성산물의 결핍 등 식물의 생장에 필수적인 생리생화학 반응의 교란에 의한 것이라 제안되었지만 (Bestman 등, 1990a; Shaner와 Singh, 1992), 명확한 살초기작은 알려져 있지 않다.

식물체에 처리된 제초제의 살초기작은 제초제-작용점간의 반응으로부터 유도되는 상호유기적인 생리생화학반응의 전체 과정을 명확히 알아야 하지만 그 이해는 쉽지 않다 (Duke, 1990). 본 논문의 목적은 BCAA 생합성을 저해하는 ALS 저해 제초제들의 살초기작을 이해하는데 있다. 본 논문에서는 ALS 저해 제초제들 중 현재까지 가장 많은 연구가 이루어져 있는 SU계 제초제인 chlorsulfuron을 그 대상으로 삼고, chlorsulfuron과 ALS와의 반응(1차 작용기작: mode of action)과 1차 작용기작으로부터 기인되는 여러 생리생화학반응(2차 작용기작: mechanism of action)을 소개한다.

### II. Chlorsulfuron의 살초기작

#### 1. Chlorsulfuron의 1차 작용기작 (mode of action)

Chlorsulfuron (2-chloro-N-[(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl) aminocarbonyl] benzenesulfonamide)은 발아전 혹은 발아후 처리로 많은 일년생 및 다년생의 광엽(broad-leaved) 및 협엽(narrow-leaved)잡초를 선택적으로 방제할 수 있는 SU계 제초제이다 (Levitt 등, 1981). 이 제초제의 특징은 적은 양(10~20 g ha<sup>-1</sup>)의

\*연락처

투여로도 많은 잡초를 선택적으로 방제할 수 있다는 데 있다. Chlorsulfuron에 투여된 식물체에서는 다양한 약해증상이 발현되는데, 어린 생장 잎(sink)에서 먼저 황백화(chlorosis)현상이 나타나고, 서서히 성숙 잎(source)에서 안토시아닌(anthocyanin)의 축적과 잎말이

현상(leaf rolling)이 나타난다. 이와 같은 약해증상이 나타난 식물체는 약 1~3주 후 치사되는 것으로 알려져 있다 (Ray, 1982b; Kim, 1995).

식물체내에서 chlorsulfuron의 작용점은 BCAA 생합성 과정에 관여하는 첫번째 공통효소인 ALS이다 (그림

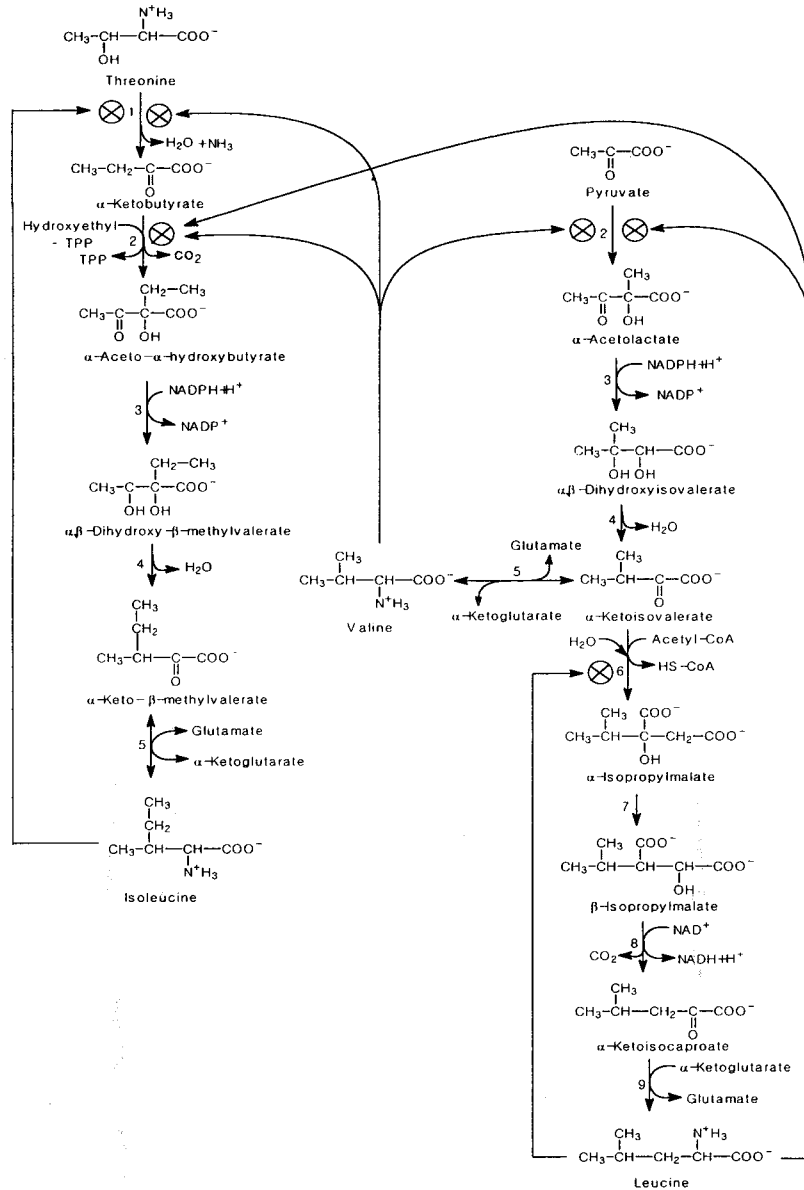


Fig. 1. Biosynthesis of branched-chain amino acids. Numbered steps are catalyzed by enzymes: 1, threonine deaminase; 2, acetolactate synthase; 3, acetolactate reductoisomerase; 4, dihydroxyacid dehydratase; 5, aminotransferase; 6, isopropylmalate synthase; 7, isopropylmalate isomerase; 8, isopropylmalate dehydrogenase; 9, aminotransferase. Three enzymes are target of herbicides and experimental chemicals: 2, sulfonylureas, imidazolinones, triazolopyrimidine sulfonanilides, and pyrimidinyl thiobenzoates; 3, 2-methyl-phosphinoyl-2-hydroxyacetic acid (HOE-704) and *N*-isopropyl oxalylhydroxamate (IpOHA); 8, *O*-isobutenyl oxalylhydroxamate (O-IbOHA). The dashed arrows indicate an inhibitory effect of a metabolite on specific enzyme of the pathway.

1; LaRossa와 Schloss, 1984; Ray, 1984). 이 효소는 SU계 제초제 이외에도 구조적으로 서로 다른 IM계 제초제 (Shaner 등, 1984; Muhitch 등, 1987; Hawkes, 1989; Stidham과 Shaner, 1990), TP계 제초제 (Gerwick 등, 1990; Kleschick 등, 1990), PTB계 제초제(Takahashi 등, 1991; Hanai 등, 1993; Shimizu 등, 1994)에 의해 저해를 받는다.

Chlorsulfuron의 생리적 작용점(physiological target)인 BCAA 생합성 과정으로부터 LEU, VAL, ILE 뿐만 아니라 pantothenic acid 역시 생성된다 (Ray, 1980). 식물체내에서 BCAA 생합성 과정의 저해로 말미암아 LEU, VAL, ILE이 결핍되고, 이러한 결과로 많은 생리생화학적 반응이 교란된다. Chlorsulfuron이 처리된 식물은 BCAA 뿐만 아니라 지방산 생합성 과정에 중요한 역할을 담당하는 pantothenic acid 역시 결핍될 것이 예상된다. Chlorsulfuron이 처리된 식물체는 지방산 함량이 감소된다는 결과들이 발표되었으나 (Hatzios와 Howe, 1982; Trufanova 등, 1990a, 1990b), 지방산 감소가 pantothenic acid의 결핍에 의한 것인지 아니면 제2차 작용기작의 일부인지는 명확하지 않다.

ALS는 pyruvate 2분자를 축합하여  $\alpha$ -acetolactate와 CO<sub>2</sub>가 생성되도록 촉매 역할을 하거나 ILE 생합성 과정에서 pyruvate 1분자와  $\alpha$ -ketobutyrate 1분자를 축합하여  $\alpha$ -aceto- $\alpha$ -hydroxybutyrate와 CO<sub>2</sub>를 생성시키는 촉매효소이다 (그림 1). 이 효소는 보조인자(cofactor)로서 thiamine pyrophosphate(TPP), 2가 중금속 이온인 Mn<sup>2+</sup> 또는 Mg<sup>2+</sup>, 그리고 flavin adenine dinucleotide(FAD)를 필요로 한다 (Schloss 등, 1988; Singh과 Schmitt, 1989; Durner와 Böger, 1990). 그 증거로서 Royuela 등(1998)은 TPP 또는 Mg<sup>2+</sup>의 결핍이 *Rhizobium* ALS의 활성을 65~71%로 감소시키고, pea의 ALS 활성을 60%로 감소시킨다고 보고하였다. TPP는 ALS에 결합하여 pyruvate 탈탄산화(decarboxylation)를 촉매하므로 ALS의 기능에 필수적이다.

ALS는 BCAA 생합성과정의 최종산물인 VAL과 LEU에 의해 피드백 조절(feedback regulation)을 받는다. BCAA 생합성과정에 관여하는 효소들 중 ALS 이외에도 threonine deaminase는 ILE과 VAL에 의해, isopropylmalate synthase는 LEU에 의해 각각 피드백 저해를 받는 것으로 알려져 있다 (Bryan, 1990).

ALS는 고등식물을 비롯하여 균류(fungi), 박테리아(bacteria), 조류(algae)에서만 존재하며, 고등식물에서 ALS는 총 단백질의 0.01% 이하를 차지할 정도로 소량이 색소체(plastid)에 존재한다 (Mifflin, 1974; Schloss 등, 1985; Bryan, 1990). 현재까지 *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*과 같은 박테리아와 *Arabidopsis thaliana* (Haughn 등, 1988), *Nicotiana tabacum* (Relton 등, 1986), *Brassica napus* (Bekkaoui 등, 1993)와 같은 고등식물로부터 ALS가 추출되었고, 그 기능과 구조에 관한 연구가 이루어졌다. 박테리아로부터 추출된 ALS는 세가지 isozyme(I, II, III)으로 존재하며, 이들 각각의 isozyme은 유전자 *ihvBN*(ALS I), *ihvGM*(ALS II), *ihvIH*(ALS III)에 암호화되어 있으며(Schloss, 1990), 각기 다른 조절기작에 의하여 생합성되는 것으로 밝혀졌다 (Kishore, 1988).

ALS는 색소체와 핵에 존재하는 각각의 DNA로부터 생합성된 polypeptide가 색소체에서 결합된다. ALS의 small subunit(SSU) 유전자는 색소체의 게놈(genome)에 존재하며, large subunit(LSU) 유전자는 핵내에 존재하여 세포질에서 합성된다. 합성된 LSU는 세포질로부터 색소체내로 이동되어 SSU와 결합하여 하나의 완전효소를 형성한다. ALS 효소의 생성과정은 엽록체에 존재하는 ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco)의 그것과 유사하다 (Duggleby, 1997).

ALS의 구조는 매우 복잡하고 다양한 것으로 보고되었다. 미생물기원 ALS isozyme II는 2개의 LSU (60 kDa)와 2개의 SSU (9.7 kDa)로 구성되어 있는 tetramer이며, isozyme I, III도 분자량과 기능면에서 차이는 있으나 isozyme II와 동일한 tetramer로 구성되어 있다. 식물기원 ALS의 구조는 미생물기원 ALS보다는 훨씬 더 다양하고 복잡한 것으로 알려져 있다. 여러 식물종에서 non-denatured된 ALS의 구조는 종에 따라 55 kDa부터 440 kDa까지 다양하며, 동종간에도 ALS의 구조는 차이를 나타내는 것으로 보고되었다 (Durner와 Böger, 1988).

ALS의 isozyme들은 기질인 pyruvate와 2-ketobutyrate에 대한 특이성을 보인다. *S. typhimurium*으로부터 추출된 isozyme II는 2-ketobutyrate와 경쟁적 반응을 보이지만, isozyme I은 2-ketobutyrate를 이용한다 (De Felice 등, 1982). ALS의 isozyme들은 기질에 대해 특

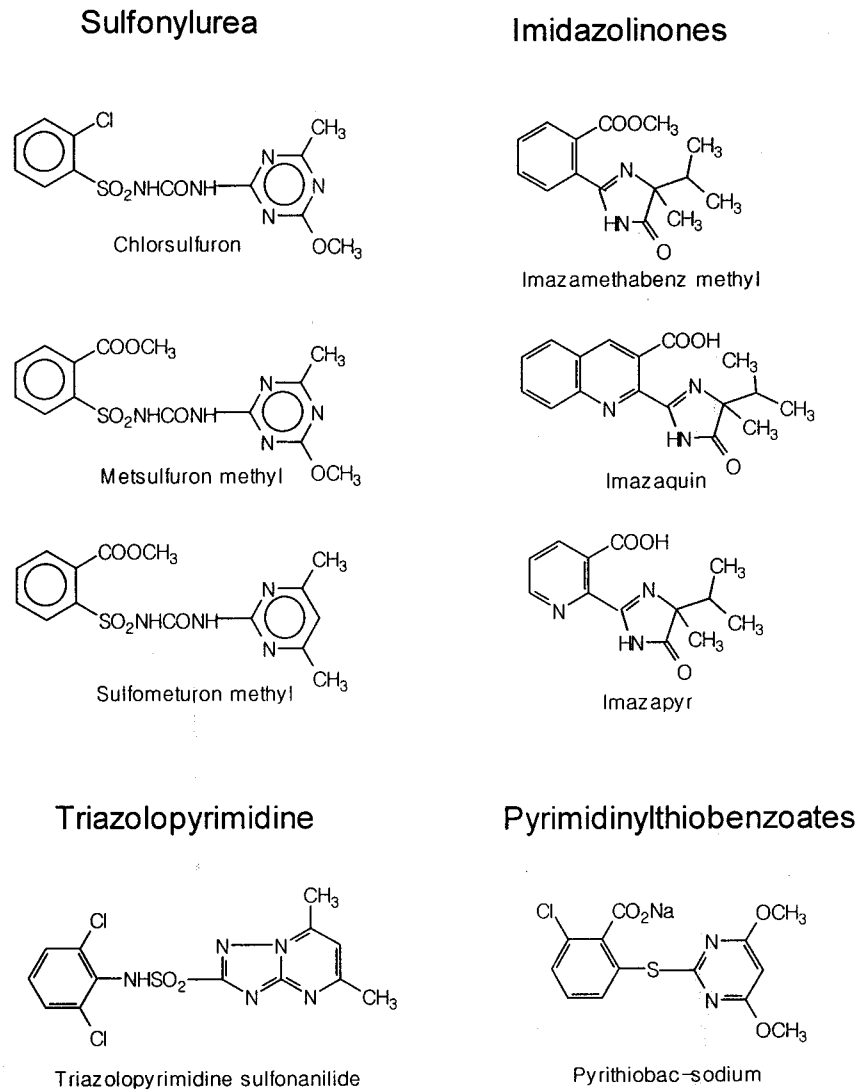


Fig. 2. Chemical structures of ALS-inhibiting herbicides.

이한 반응을 보일 뿐만 아니라 제초제에 대해서도 상이한 반응을 보이는 것으로 알려져 있다. Schloss 등(1988)은 SU계 제초제에 대한 반응면에 있어서 isozyme I, II, III는 모두 다르나, 일반적으로 ALS II가 가장 민감하다고 보고하였다.

ALS는 VAL과 LEU에 의해 피드백 조절을 받는다. 피드백 조절자리(feedback regulatory site)와 chlorsulfuron의 활성자리(active site)가 동일한 것인지 혹은 서로 다른 것인지에 대해서는 명확하지는 않지만(Hawkes, 1993), Subramanian 등(1991)은 돌연변이 효소가 교차 저항성을 일으킨다는 점을 들어 chlorsulfuron의 활성자리와 VAL, LEU에 의한 피드백

조절자리가 일치한다고 추론하였다. Joo 등(1997) 역시 chlorsulfuron과 유사한 구조를 가진 SU계 화합물인 K11570과 sulfonylurea ally가 LEU의 결합부위와 최소한 부분적으로 중복되고 있다는 점을 들어 활성자리와 피드백 조절자리가 일치한다고 제안하였다. Schloss 등(1988)은 2종의 ubiquinone 동족체 Q<sub>0</sub>와 Q<sub>1</sub>이 박테리아 내에 존재하는 ALS isozyme의 강력한 저해제이며, chlorsulfuron은 적어도 하나의 ALS isozyme과 시간의존성 저해(time-dependent inhibition)를 보였다는 결과로부터 ALS내의 chlorsulfuron 결합부위가 pyruvate의 quinone 결합부위가 진화되고 남은 부위(evolutionary vestige)일 것이라 제안하였다.

ALS가 chlorsulfuron의 작용점이라는 증거로는 첫째, ALS의 반응속도, 둘째, BCAA 첨가시 chlorsulfuron 처리식물의 약해회복, 셋째, 제초제 저항성 작용기작 연구를 들 수 있다. 박테리아와 고등식물로부터 추출된 ALS의 반응속도 연구결과들은 chlorsulfuron의 작용점이 ALS임을, 그리고 어떻게 chlorsulfuron이 ALS와 반응을 일으키는지를 설명하고 있다. Bastide와 Orteta(1995), 그리고 Schloss(1993)는 chlorsulfuron이 ALS에 가역적이고도 아주 느린 속도로 결합한다는 점을 보고하였다. 그러나 Durner 등(1991)은 chlorsulfuron을 ALS로부터 물리적으로 분리해 낼 경우 ALS 그 자체의 활성도가 저해된다는 점을 들어 chlorsulfuron은 ALS에 가역적으로 반응한다는 점에 의문을 제기하였다. 이 점에 대해 Hawkes(1993)는 ALS와 chlorsulfuron의 느린 반응속도가 단단한 복합체 형성(the formation of a tight complex)과는 관련이 없으며, 오히려 느린 반응속도는 가역적으로 구조가 변화된, 그러나 활성도에는 변화가 없는 효소구조와 관련이 있다고 제안하였다.

Ray(1984)는 chlorsulfuron이 처리된 완두콩 뿌리에 BCAA 중 VAL과 ILE을 외부로부터 공급하였을 때, 뿌리부위의 성장저해가 회복됨을 보고하였다. 이러한 점은 chlorsulfuron의 성장저해가 BCAA 생합성과정으로부터 생성되는 VAL과 ILE의 결핍과 관련이 있음을 시사한다. 이와 유사한 결과들은 많이 연구자들에 의해 보고되었다 (de Agagio와 Giardina, 1987; Mersie와 Foy, 1987; Devine 등, 1990; Brown, 1990). 예를 들면 Brown(1990)은 수경재배 하에서 자라는 완두콩 뿌리 절편과 고형 아가(agar)배지 내의 완두콩 유식물에 chlorsulfuron을 처리하면 뿌리와 유식물의 성장이 저해되는데, 이러한 뿌리절편과 유식물의 성장저해는 액체배양액(liquid culture)과 고형배지(solid agar medium)에 BCAA를 첨가하면 회복된다는 점을 보고하였다.

SU계 제초제에 대한 저항성식물 연구로부터 저항성은 단일 반우성 핵 유전자 돌연변이(a single semi-dominant nuclear gene mutation)와 연관이 있다는 점이 밝혀졌다 (Chaleff와 Mauvais, 1984). Lee 등(1988)은 제초제 저항성 *Nicotiana thaliana*의 한 돌연변이체(C3)는 ALS 유전자의 196번 proline이 glutamine으로 교체됨으로써 일어났으며, 또 다른 돌연변이(S4-Hra)

는 ALS 유전자의 196번 proline과 573번 tryptophan이 alanine과 LEU으로 각각 교체됨으로써 일어났다는 점을 발표하였다. 이와 유사한 결과들이 *Arabidopsis* (Haughn 등, 1988), *Brassica* (Bekkaoui 등, 1993), *Zea* (Fang 등, 1992), sugarbeet (Wright 등, 1998)를 비롯한 몇몇 식물에서도 보고되었다. 이러한 제초제 저항성 연구결과들은 ALS 유전자의 아미노산 배열 중 chlorsulfuron을 비롯한 ALS 저해 제초제와 반응하는 부위에 관여하는 아미노산이 다른 아미노산으로 교체될 경우 저항성을 일으킨다는 점을 시사한다. ALS 유전자의 하나 혹은 그 이상의 아미노산이 교체되면 유전자로부터 발현되는 ALS 효소의 활성이 저해된다는 사실은 *Solanum nigrum*과 *Amaranthus retroflexus*의 *psb* 유전자 중 264번 serine이 glycine으로 교체되면 광합성 저해 제초제인 atrazine에 대한 저항성을 나타낸다는 사실(Hirschberg 등, 1984)과 유사하다.

결론적으로 chlorsulfuron의 작용점은 BCAA 생합성 과정에 관여하는 ALS 효소라는 점이 여러 연구로부터 밝혀졌다. 많은 연구자들이 순수한 ALS 효소를 정제하기 위하여 다각도의 노력을 기울였으나, 현재까지 ALS의 3차원구조와 4차원구조를 밝히고 또 ALS 내에 존재하는 chlorsulfuron의 작용부위를 밝히는데 결정적인 정보를 제공할 수 있는 순수정제된 ALS를 얻지 못하였다 (Schloss 등, 1988; Durner와 Böger, 1990; Durner 등, 1991). 비록 Andrea 등(1992)이 일련의 SU계 화합물을 가지고 행한 구조-활성실험의 결과를 바탕으로 chlorsulfuron을 포함하는 SU계 제초제가 작용하는 ALS내의 가상적 작용부위 구조를 제안하였지만, 그들의 제안 이후에 이와 관련된 연구는 현재까지 이루어지고 있지 않다.

## 2. Chlorsulfuron의 2차 작용기작 (mechanism of action)

식물체내에서 chlorsulfuron과 작용점인 ALS와의 상호작용으로 작용점효소의 기능저해가 일어나면, 그 결과로서 식물의 성장에 중요한 역할을 하는 많은 생리생화학적 반응이 저해된다. 이러한 생리생화학적 반응의 저해가 chlorsulfuron에 처리된 식물의 살초기작으로 제안되고는 있지만, 식물체내에서 대부분의 생리생화학적 반응들이 상호연관되어 있기에 chlor-

sulfuron이 처리된 식물의 살초기작을 이해하기는 쉽지 않다. 현재까지 chlorsulfuron이 처리된 식물의 살초기작으로 제안된 생리생화학적 변화는 (1) 독성산물로 알려진 2-oxobutyrate의 축적(LaRossa와 Van Dyk, 1987; LaRossa 등, 1987; Schloss, 1989)과 (2) 광합성산물의 이행저해(Vanden Born 등, 1988; Bestman 등, 1990a)를 들 수 있다. 비록 이와 같은 점이 살초기작으로 제안되기는 하였지만, 정확한 살초기작은 알려져 있지 않다. 따라서 이 장에서는 chlorsulfuron이 처리된 식물체 내에서 일어나는 여러 가지 생리생화학적 변화들을 소개하고 (표 1), 그 변화들이 어떻게 유기적으로 상호연관을 갖고 있는지를 설명하고자 한다.

### 2.1. 세포분열 저해

세포분열은 식물의 분열조직에서 1개의 모세포로부터 2개의 딸세포가 생성되는 현상으로 식물 생장에 있어서 필수적이다. 세포분열의 전 과정은 다음과 같은 4개의 세포주기, 즉, DNA 합성전기 (Gap 1; G1) → DNA 합성기 (Synthesis; S) → 유사분열전기 (Gap 2; G2) → 유사분열기(Mitosis; M)로 구분된다. 세포분열은 세포의 직접적인 분열과는 관계가 없는 준비기간인 중간기(G1기, S기, G2기)와 세포의 직접적인 분열기간인 유사분열기로 나뉘어진다. 유사분열기는 세포분열의 정도에 따라 초기(prophase), 중기(interphase), 후기(anaphase), 말기(telophase)로 세분된다 (Francis, 1992). 세포분열의 전 과정 중 어느 한 과정이라도 저해를 받게 되면 분열조직내 세포들은 더 이상 분열되지 않고, 식물은 더 이상 성장하지 못한다 (Hess, 1987).

Chlorsulfuron은 분열조직내 세포의 분열을 저해한다는 것이 여러 단자엽식물과 쌍자엽식물을 이용한 실험을 통하여 밝혀졌다 (Ray, 1980, 1984; Rost, 1984; Rost와 Reynold, 1985; Robbins와 Rost, 1987). 옥수수과 완두콩의 뿌리에 존재하는 유사분열(mitosis) 조직에 chlorsulfuron 1 mg kg<sup>-1</sup>이 처리되었을 때 세포분열지수는 크게 감소되었다 (Ray, 1980, 1982a). 완두콩 뿌리에 chlorsulfuron이 처리되었을 때 유사분열과 DNA합성에는 직접적인 영향 없이 세포주기의 G1기와 G2기가 저해되었음은 chlorsulfuron에 의한 세포주기 저해과정 중 G2가 1차 저해점이고, G1은 2차 저해점이라

는 점을 시사한다 (Rost, 1984). Chlorsulfuron에 의한 세포분열 저해는 VAL과 ILE의 공급에 의해 회복되었다 (Rost와 Reynolds, 1985; Robbins와 Rost, 1987). 이와 같은 사실은 chlorsulfuron에 의한 세포분열의 저해가 BCAA 생합성 저해로 인한 2차 대사반응이라는 점과 BCAA가 세포주기 조절기작으로 작용할지도 모른다는 점을 시사한다.

세포주기는 탄수화물이 결핍되면 G1기와 G2기에서 더 이상 진행되지 않는 것으로 알려져 있다 (Gould 등, 1981). Chlorsulfuron이 처리된 식물체에서는 광합성산물의 이행이 저해되고, 그 결과 sink부위에서는 탄수화물의 결핍이 일어난다 (Vanden Born 등, 1988; Bestman 등, 1990a, 1990b; Hall과 Devine, 1993; Kim과 Vanden Born, 1996, 1997). Chlorsulfuron이 처리된 식물체의 분열조직에서는 탄수화물의 결핍으로 세포주기의 진행이 저해되고, 이의 결과로 생장 저해가 일어난다는 점이 추론되지만, 현재까지 chlorsulfuron이 처리된 식물체의 sink부위에서 탄수화물의 결핍이 세포주기 진행에 어떠한 영향을 미치는지에 대해서는 연구가 이루어져 있지 않다.

세포주기를 결정하는 요인으로는 탄수화물 뿐만 아니라 세포주기 특이성 단백질과 RNA를 들 수 있다 (Webster와 van't Hof, 1970). Chlorsulfuron은 단백질 생합성 (de Villiers 등, 1980; Hatzios와 Howe, 1982; Ray, 1982a; Clayton와 Reynolds, 1991) 및 RNA 생합성(de Villiers 등, 1980; Rost, 1984)에 영향을 주는 것으로 보고되었다. 그러나 chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 세포분열과 관련된 세포주기 특이성 단백질과 RNA의 생합성이 영향을 받았는지는 밝혀져 있지 않다. 향후 세포주기를 포함한 세포분열에 관련된 연구결과들은 chlorsulfuron에 의한 1차 반응기작이 어떻게 세포주기 저해를 일으켰는지를 이해하는데 많은 도움을 줄 것이다.

### 2.2. Polyamine 함량

Spermidine, spermine, putrescine, cadaverine과 같은 polyamine은 식물의 세포주기를 조절하여 세포분열을 조절하는 것으로 알려져 있다 (Evans와 Malmberg, 1989; Smith, 1990). Polyamine이 세포분열과 밀접한 관련이 있다는 증거는 *Helianthus tuberosus*의 분열세포

Table 1. Physiological and metabolic changes in chlorsulfuron-treated plants

Physiological and metabolic change	Effect <sup>a)</sup>	Species	Reference	
DNA synthesis	-	Corn	Ray (1980)	
	no/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	De Villiers <i>et al.</i> (1980)	
	no	Corn	Ray (1982a)	
	-	Corn	Ray (1982b)	
	-	<i>Pisum sativum</i>	Ray (1984)	
	-	<i>Pisum sativum</i>	Rost (1984)	
RNA synthesis	no/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villiers <i>et al.</i> (1980)	
	-	Corn	Ray (1982b)	
	-	Soybean	Hatzios and Howe (1982)	
	-	<i>Pisum sativum</i>	Rost (1984)	
Protein synthesis	no	Corn	Ray (1982a)	
	no	Corn	Ray (1982b)	
	no	<i>Pisum sativum</i>	Rost (1984)	
	no	<i>Pisum sativum</i>	Clayton and Reynolds (1991)	
	+/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villiers <i>et al.</i> (1980)	
	+/-	Soybean	Hatzios and Howe (1982)	
Lipid biosynthesis	no/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villiers <i>et al.</i> (1980)	
	-	Soybean	Hatzios and Howe (1982)	
	-	Cotton	Trufanova (1990a, 1990b)	
Cell wall synthesis	no	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Heim <i>et al.</i> (1990)	
Plant growth regulator Ethylene synthesis	+	Soybean	Suttle and Schreiner (1982)	
	+	Sunflower	Suttle <i>et al.</i> (1983)	
	+	Valvetleaf	Hageman and Behrens (1984)	
Anthocyanins production	+	Soybean	Suttle and Schreiner (1982)	
Polyamines				
	Spermidine	-	Maize	Giardina and Carosi (1990)
		no	Pea	DiTomaso (1988)
	Putrescine	+	Pea	DiTomaso (1988)
	+	Pea	DiTomaso (1988)	
	+	Pea	DiTomaso (1988)	
Toxic metabolites				
	2-oxobutyrate			
2-aminobutyrate	+	<i>Lemna minor</i>	Rhodes <i>et al.</i> (1987)	
	no	Maize	Shaner and Singh (1993)	
Amino acid content				
	Free amino acid	+	Field pennycress	Bestman <i>et al.</i> (1990a)
		+	Maize	Royuela <i>et al.</i> (1991)
		+	Canola	Kim (1995)
		no	Soybean	Scheel and Casida (1985)
	BCAA	-	<i>Lemna minor</i>	Rhodes <i>et al.</i> (1987)
	-	Maize	Royuela <i>et al.</i> (1991)	
	-	Soybean	Scheel and Casida (1985)	

<sup>a)</sup>- designates negative effects such as inhibition and reduction, while + represents positive effects such as activation and stimulation. +/- designates that herbicide effects are positive at lower concentrations while they are negative at higher concentrations. No/- designates that herbicide effects are not apparent at lower concentrations while they are negative at higher concentrations.

Physiological and metabolic change	Effect <sup>a)</sup>	Species	Reference
Cell division	-	Pea	Ray (1980)
	-	Pea, lettuce	Ray (1982b)
	-	<i>Pisum sativum</i>	Rost (1984)
Cell elongation	no	pea, cucumber, lettuce	Ray (1980)
Carbon production and translocation			
Oxygen evolution	no	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villers <i>et al.</i> (1980)
Carbon fixation	no	Pea	Ray (1980)
	+/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villers <i>et al.</i> (1980)
	no	Corn	Ray (1982a)
	no	Spinach	Ray (1982b)
	no	Soybean	Hatzios and Howe (1982)
	no/-	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villers <i>et al.</i> (1985)
	no	Wheat	Cink <i>et al.</i> (1985)
	no	<i>Thlaspi arvense</i>	Bestman <i>et al.</i> (1990b)
	no	Canola	Kim and Vanden Born (1997)
Assimilate transport	-	Field pennycress	Vanden Born <i>et al.</i> (1988)
	-	<i>Thlaspi arvense</i>	Bestman <i>et al.</i> (1990b)
	-	Tartary buckwheat	Devine <i>et al.</i> (1990)
	-	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Hall and Devine (1990)
	-	Canola	Kim and Venen Born (1996, 1997)
Sugar content	+	<i>Thlaspi arvense</i>	Bestman <i>et al.</i> (1990b), Lowther (1990)
	+	Canola	Kim and Vanden Born (1997)
Respiration	no	<i>Pisum sativum</i>	Ray (1982b)
	no	Canola	Kim (1995)
PAL activity	+	Soybean	Suttle and Schreiner (1982)
ATPase activity	no	<i>Phaseolus vulgaris</i>	de Villers <i>et al.</i> (1980)
	no	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Hall and Devine (1990)
Ion uptake and transport			
Ca <sup>2+</sup> absorption	-	Maize	Crowley and Predeville (1985)
K <sup>+</sup> uptake/ H <sup>+</sup> extrusion	-	Maize	de Agazio and Giardina (1987)
Ultrastructural change	-	Canola	Kim <i>et al.</i> (1997b)
Plant growth	-	Many	Many researchers

에서 G1기에 DNA 생합성이 개시되기 전 polyamine의 함량이 크게 증가된다는 점(Seraffini-Francassini 등, 1980)과 *Acer saccharum* 종자에서 polyamine의 생합성 저해시 세포분열지수가 크게 감소된다는 점(Walker 등, 1985)을 들 수 있다. Polyamine이 식물의 세포주기에 영향을 주기 때문에 식물의 생장은 polyamine의 함량에 큰 영향을 받는다.

Chlorsulfuron이 처리된 식물체내에서 polyamine의

함량은 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 chlorsulfuron이 처리된 완두 유묘에서는 polyamine 중 spermidine과 spermine의 함량에는 변화가 없었지만, putrescine과 cadaverine의 함량은 크게 증가하였다 (DiTomaso, 1988). Giardina와 Carosi (1990) 역시 chlorsulfuron이 처리된 옥수수 유묘의 분열조직인 뿌리정단에서 spermidine의 함량이 감소되지만, 분열조직보다 아래쪽의 조직에서 spermidine의 함량은 영향을



받지 않는다는 사실을 보고하였다. 이와 같은 사실은 spermidine의 결핍이 세포주기의 G1기와 G2기로부터 다음 단계로의 진행에 영향을 주는 요인으로 작용한다는 점을 시사한다.

현재까지 몇몇 연구자들은 chlorsulfuron이 분열조직 내에서 세포주기의 진행에 중요한 역할을 하는 polyamine의 함량에 영향을 준다는 점을 밝혔다. 그러나 chlorsulfuron이 어떠한 작용기작으로 polyamine의 함량에 영향을 주었는지는 밝혀진 바가 없다.

### 2.3. DNA, RNA, 단백질 생합성 저해

Chlorsulfuron은 몇몇 식물체에서 DNA 합성을 저해하는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 옥수수 뿌리 정단부에  $2.8 \times 10^{-6}$  M의 chlorsulfuron을 처리시  $^3\text{H}$ -thymidine이 DNA로 생합성되는 과정이 80~90% 저해되었다(Ray, 1980; Rost, 1984). DNA 생합성이 저해되는 옥수수(Ray, 1982b)와 pea(de Villiers 등, 1980) 식물체에서는 세포신장, 호흡, 광합성, RNA 생합성, 단백질 생합성, 지질 생합성은 저해되지 않았다. 이와 같은 결과들은 chlorsulfuron이 DNA의 생합성에 영향을 미친다는 점을 시사하지만, chlorsulfuron의 저해효과가 1차작용기작에 의한 것인지는 명확하지가 않다. 이 점을 규명하기 위하여 Ray(1980, 1982a)는 옥수수 뿌리의 정단조직에 chlorsulfuron을 처리한 후, DNA합성에 중요한 역할을 하는 효소인 DNA polymerase와 thymidine kinase의 활성도를 측정하였다. 이의 결과 옥수수 뿌리의 정단조직에서 세포분열은 chlorsulfuron에 의해 70~80%나 감소되었지만, DNA 합성에 관여하는 효소들의 활성도는 거의 영향을 받지 않았다. 이와 같은 사실은 chlorsulfuron이 DNA의 생합성과정을 저해하지만, 그 저해는 chlorsulfuron에 의한 1차작용기작에 의한 것이 아니라 2차작용기작에 의한 것이라는 점을 나타낸다.

RNA는 DNA의 유전정보를 전사받는 기능(mRNA), 아미노산을 운반하는 기능(tRNA), 세포질의 리보솜(ribosome)을 구성하는 구성원으로서의 기능을 한다. RNA 합성은 세포주기의 G1기와 G2기에서 증가되는데(Mitchell, 1969), 이 과정은 세포분열을 위해 필수적으로 요구되는 과정이기 때문에 세포분열 또는 DNA 합성이 이루어지지 않는다면 저해를 받게 된다.

Chlorsulfuron은 DNA 합성 뿐만 아니라 RNA 합성 역시 저해하는 것으로 알려져 있다. de Villiers 등(1980)은 *Phaseolus vulgaris* 세포의 RNA 생합성이  $5 \times 10^{-4}$  M의 chlorsulfuron 처리에 의해 67%나 감소되었다고 보고하였다. 또한 Rost(1984)는 chlorsulfuron이 처리된 완두콩 뿌리에서  $^3\text{H}$ -uridine이 RNA로 생합성되는 양이 무처리 뿌리에서의 그것보다 적다는 점을 보고하였다. Ray(1982b)는  $2.8 \times 10^{-6}$  M의 chlorsulfuron을 옥수수 뿌리의 정단조직에 처리시 RNA합성은 28% 감소된 반면, DNA합성은 80~90% 감소되었다고 보고하였다. 이러한 결과들은 chlorsulfuron의 DNA 생합성에 대한 영향이 RNA 생합성에 대한 영향보다 크다는 점을 나타낸다.

Chlorsulfuron은 고농도에서 단백질생합성을 저해한다. de Villiers 등(1980)은  $36 \text{ g ml}^{-1}$  chlorsulfuron에 처리된 *Phaseolus vulgaris*의 단백질 생합성은 약 1/2정도 저해된다고 보고하였으며, Hatzios와 Howe (1982) 역시 chlorsulfuron에 처리된 대두 유묘에서 de Villiers 등(1980)과 유사한 결과를 얻었다. Chlorsulfuron의 1차작용기작, 즉 ALS의 저해 때문에 BCAA의 결핍이 예상되며, 그 결과로서 단백질 생합성이 둔화 혹은 저해되어 식물체내에 존재하는 단백질의 조성이 변화될 것이 예상된다. 그러나 chlorsulfuron은 *Pisum sativum*의 뿌리정단부에 존재하는 단백질의 조성에는 영향을 미치지 못하였다 (Clayton과 Reynolds, 1991). Kim (1995) 역시 chlorsulfuron은 canola 유식물의 source 잎에 존재하는 단백질의 조성에 영향을 미치지 못하였다는 결과를 얻었다. 이와 같은 결과는 chlorsulfuron이 단백질의 생합성에 영향을 미치지 못하였거나 또는 비록 단백질의 생합성에 영향을 주었다 하더라도 식물체의 단백질 총량의 크기로 인하여 영향을 받지 않은 것처럼 나타났을지도 모른다. Chlorsulfuron과 ALS와의 상호작용의 결과 단백질의 신생합성이 감소/저해될 것이 예상되지만, 단백질 신생합성저해가 BCAA의 부족에 의한 것인지 아니면 단백질 생합성과정에 관여하는 다른 요인에 의한 것인지는 명확하지가 않다.

### 2.4. 유리 아미노산 (Free amino acids) 함량

식물체에는 다양한 아미노산이 존재하며, 이 아미노산들은 단백질, 호르몬 및 수 많은 2차대사산물의

전구물질로, 그리고 질소이동원으로 작용한다 (Coruzzi, 1991). 아미노산 생합성경로 중 한 과정이 저해되면 많은 생리생화학적 반응의 교란으로 그 식물체는 치사되는 것으로 알려져 있다 (LaRossa와 Falcon, 1984). BCAA 생합성 저해제인 chlorsulfuron이 처리된 *Lemna minor* (Rhodes 등, 1987), *Thlaspi arvense* (Bestman 등, 1990a, 1990b), canola (Kim, 1995) 식물체내에서는 유리 아미노산 함량이 증가되는 것으로 보고되었다. 예를 들면 chlorsulfuron이 처리된 *Lemna minor*로부터 추출된 유리아미노산을 분석한 결과는 alanine, proline, ornithine, methionine, aspartate, glycine, glutamate, 2-aminobutyrate의 함량은 증가되는 반면, serine, methionine과 BCAA인 LEU, VAL, ILE의 함량은 감소되었다 (Rhodes 등, 1987). Chlorsulfuron에 의한 유리 아미노산 함량의 증가는 작용점 저해로 인한 최종산물의 합성저해의 결과 단백질 합성(*de novo synthesis*)이 저해되고, 또 단백질 가수분해(*proteolysis*)가 촉진된 결과라는 점이 제안되었다 (Brunk와 Rhodes, 1988; Bestman 등, 1990a; Singh와 Shaner, 1995). 이 제안은 chlorsulfuron의 작용점인 ALS가 저해되면 BCAA의 생합성이 저해되고, 그 결과 BCAA가 결핍된 식물체는 기존에 존재하는 단백질(예, Rubisco 등)을 분해하므로 유리아미노산 함량이 증가된다는 점에 기초하고 있다.

Transaminase와 glycine decarboxylase의 저해제로 알려진 aminooxyacetate를 식물체에 처리하면, 식물체내에서는 BCAA를 포함한 몇몇 아미노산이 축적된다 (Brunk와 Rhodes, 1988). Aminooxyacetate와 chlorsulfuron을 처리해도 aminooxyacetate에 의해 유도되는 BCAA의 축적을 저해할 수 없었다는 점은 BCAA 저해제인 chlorsulfuron에 의한 유리아미노산의 축적은 단백질 가수분해에 의한 것이라는 점을 시사한다.

식물의 성장을 위해서는 알맞는 C:N 비가 요구된다. Chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 제초제와 작용점간 상호작용의 결과 유리 아미노산의 함량이 증가되면, 탄수화물의 함량이 증가되지 않는 한, 식물체내에서의 C:N 비는 유지될 수 없을 것이다. Chlorsulfuron이 처리된 source 잎으로부터 이행형 탄수화물인 sucrose의 이행이 저해된다는 점(Vanden Born 등, 1988; Bestman 등, 1990a; Devine 등, 1990; Hall과

Devine, 1993; Kim과 Vanden Born, 1996; Kim 등, 1997a, 1997b, 1997c)은 sink에서 탄수화물의 결핍을 시사한다. 이와 같은 경우 chlorsulfuron의 작용이 민감하게 일어나는 sink에서는 C보다는 N의 함량증가로 인하여 C:N비는 크게 변화되고, 이의 결과 식물의 생장은 저해받았을 것이라 추론이 가능하다. 그러나 현재까지 chlorsulfuron이 처리된 식물체내에서 C:N비는 측정된 바가 없다.

## 2.5. 독성물질 축적

Chlorsulfuron이 작용점인 ALS를 저해하면 그 결과로서 첫째, BCAA 생합성 과정 중 ALS가 관여하는 과정보다 아래쪽(downstream)에서 생성되는 LEU, VAL, ILE의 결핍과, 둘째, ALS가 관여하는 과정보다 위쪽(upstream)에서 ALS의 생합성에 사용되는 2-ketobutyrate와 2-aminobutyrate의 축적이 일어난다 (Rhodes 등, 1987). 축적된 2-ketobutyrate와 2-aminobutyrate은 식물과 미생물의 성장에 영향을 주는 독성물질로 알려져 있어 (LaRossa와 Van Dyk, 1987; LaRossa 등, 1987; Schloss, 1989), 이 독성물질들이 chlorsulfuron 등 ALS 저해 제초제들이 처리된 식물과 미생물의 치사기작에 관여하는 것인지가 지난 10여년동안 몇몇 연구자들의 관심이었다.

Danchin 등(1984)은 2-ketobutyrate의 작용점이 phosphoenol pyruvate(PEP) 의존성 phosphotransferase일 것이라 제안하였다. PEP 의존성 phosphotransferase의 기능이 저하되면, glycolysis과정 중의 중간산물인 G6P, F6P, F16BP, acetyl CoA의 함량이 낮아질 것이고, 이의 결과로 2-ketobutyrate의 축적이 일어난 식물체 혹은 미생물에서 호흡의 감소가 예상된다. 그러나 chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 많은 생리생화학적 변화가 일어남에도 불구하고 호흡은 감소되지 않는 것으로 보고되었다 (Ray, 1982a; Kim, 1995). 또한 2-ketobutyrate는 glutathione 생합성 과정에서  $\gamma$ -glutamyl cysteine synthase(Sekura와 Meister, 1977)와 methionyl-tRNA synthase(Hahn과 Brown, 1967)를 저해하는 것으로 알려져 있다. 이 화합물은 고농도(4~6 mM)에서 *Allium* 뿌리 정단부 세포들의 분열을 저해할 뿐만 아니라(Lanzagorta 등, 1988), *Hordeum* 뿌리정단부 세포내 세포질을 산성화시켜 세포분열을 정지시키

는 것으로 알려져 있다 (Reid 등, 1985). 그러나 chlorsulfuron이 처리된 식물체내에서 몇몇 연구자들이 2-ketobutyrate의 작용점으로 제안한 효소활성의 감소 여부가 밝혀지지 않았기에 chlorsulfuron의 작용점으로 ALS 이외의 효소가 존재하는지는 알 수 없다. LaRossa 등(1987)은 ALS 저해제들이 처리된 *Salmonella typhimurium*에 2-ketobutyrate가 축적되고, 이 산물의 축적이 치사기작에 중요한 요인으로 작용한다는 점을 제안하였다.

Chlorsulfuron 등 ALS 저해 제초제는 2-ketobutyrate와 2-aminobutyrate의 축적을 유도하였다. 특히 2-aminobutyrate는 2-ketobutyrate의 아미노기 전달반응 산물이기 때문에 2-ketobutyrate보다는 약 100배 이상 많이 축적된다. 2-aminobutyrate는 norleucine의 형태로 LEU 경로로 유입되거나, 또는 ketopantoate hydroxymethyl transferase에 대해 2-ketoisovalerate와 경쟁 반응하여 pantothenate 경로를 저해함으로써 acetyl-CoA의 생산을 억제 한다 (Shanger와 Singh, 1992). Acetyl-CoA는 지방산 생합성에 중요한 역할을 하기에 chlorsulfuron에 의한 acetyl-CoA의 생산저해는 지방산 함량의 감소로 이어질 것으로 추정된다. Chlorsulfuron이 처리된 대두(Hatzios와 Howe, 1982)와 면화(Trufanova 등, 1990a, 1990b) 식물체내에서 지방산 함량의 감소는 chlorsulfuron에 1차작용기작에 의한 2차작용기작의 일부로 이해되지만, 지방산 함량의 감소가 2-ketobutyrate의 축적에 의해 이루어진 것인지에 대해서는 확실하지 않다.

2-Ketobutyrate는 ILE에 의해 feedback 조절되는 threonine dehydratase의 작용에 의해 생성된다. 만일 2-ketobutyrate의 축적이 chlorsulfuron에 의한 약해발현에 중요한 요인이라면, chlorsulfuron 등 ALS 저해 제초제에 처리된 식물체는 ILE의 공급에 의해 약해가 경감되어야 한다. 그러나 Shaner와 Singh(1993)은 ALS 저해 제초제가 처리된 옥수수 유묘에 ILE를 공급하여도 약해가 경감되지 않았다는 점을 들어 ALS 저해 제초제에 의한 약해는 2-ketobutyrate 혹은 2-aminobutyrate의 축적 때문은 아니라고 제안했다. ALS 저해 제초제인 chlorsulfuron이 처리된 식물체내에서 2-ketobutyrate의 축적이 처리된 식물체의 약해발현과는 아무런 연관이 없다는 보고는 Kim 등(1997b)

에 의해서도 이루어졌다. 저자들은 chlorsulfuron이 처리된 canola 식물체내에서 총당(total sugar)와 유리 아미노산 함량이 증가하는 반면, 50 mM의 2-ketobutyrate가 처리된 식물체내에서는 총당과 유리 아미노산 함량에 변화가 없었던 점을 증거로 제시하였다. 현재까지 많은 연구자들은 ALS 저해 제초제에 의한 식물체의 치사가 독성산물인 2-ketobutyrate의 축적에 의한 것이라는 일부 연구자들의 보고를 인용하고 있다. 그러나 2-ketobutyrate에 의한 약해는 미생물에서만 보고되었을 뿐 식물체에서는 전무한 형편이다. ALS 저해 제초제가 처리된 식물의 살초기작을 명확히 이해하기 위해서는 2-ketobutyrate의 축적이 식물체를 치사시킨다는 연구결과가 요구된다.

## 2.6. 광합성과 광합성산물의 이행

식물체의 성숙잎(광합성산물 생산부위; source)에서는 Rubisco의 작용에 의해 대기 중의 CO<sub>2</sub>가 고정되고, 이러한 탄소고정과정의 최종산물로서 녹말과 sucrose가 생성된다. 식물체내에서 녹말은 고정형 탄수화물로, 그리고 sucrose는 이행형 탄수화물로 알려져 있다 (Stitt와 Quick, 1989; Hawker 등, 1991; Kleczkowski, 1994; Sonnewald와 Willmitzer, 1994). 이행형 탄수화물인 sucrose는 source로부터 체관을 따라 지하경 혹은 어린 생장잎(광합성산물 소비부위; sink)으로 이행하여 sink 부위의 생장에 이용된다 (Kim 등, 1997a; Kim 등, 1998). 식물체내에서 광합성산물의 이행은 source-sink에서의 상호작용에 의해 조절되며, source나 sink 어느 한 부위에서의 기능저하는 광합성산물의 이행에 영향을 준다 (Gifford 등, 1984; Sonnewald와 Willmitzer, 1994).

저약량( $2.8 \times 10^{-6}M$ )의 chlorsulfuron은 광합성에 영향을 주지는 않지만, 고약량( $2.8 \times 10^{-4}M$ )의 chlorsulfuron은 광합성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다 (Rost, 1984). 그러나 chlorsulfuron에 처리된 canola(Kim과 Vanden Born, 1997)와 *Thlaspi arvense*(Bestman 등, 1990a)의 순동화량(net carbon exchange rate)은 무처리 식물의 그것과 비교하여 차이가 없었다. 이와 유사한 결과들은 chlorsulfuron이 처리된 밀(Cink 등, 1985), 대두(Hatzios와 Howe, 1982; Ray, 1982a), field bean(Ray, 1980)과 같은 식물체에서 보고되었다. Chlorsulfuron이

처리된 *P. vulgaris* 식물체의 엽절편으로부터 측정된 산소발생량(amount of oxygen evolution)이 무처리 식물체의 그것과 동일하였다는 결과(de Villiers 등, 1980)는 식물체 잎의 엽록체내에서 일어나는 광합성과정에 있어서 에너지 생성과정인 전자전달과정이 chlorsulfuron에 의해 영향을 받지 않는다는 점을 증거한다.

식물체내에서 광양자 포집에 중요한 역할을 하는 클로로필의 함량은 고약량의 chlorsulfuron 투여로도 영향을 받지 않았다. Chlorsulfuron이 처리( $2.8 \times 10^{-4}$  M)된 canola의 처리 잎에서 48시간동안 클로로필의 함량에는 아무런 변화가 없었다 (Kim, 1995). 그러나 이 기간동안 처리 잎에서는 탄수화물과 아미노산의 함량 증가(Kim과 Vanden Born, 1997)와 광합성산물의 이행저해(Kim과 Vanden Born, 1996), 그리고 식물의 미세구조 이상 (Kim 등, 1997c) 등 많은 생리생화학적 변화가 일어났다. 이와 같은 결과들을 종합해 보면, chlorsulfuron이 처리된 canola 식물체의 잎에서는 위에서 언급한 생리생화학적 변화에도 불구하고 광양자 포집과 포집된 광양자를 이용한 에너지 생성, 생성된 에너지를 이용한 탄소고정작용의 일련 과정은 영향을 받지 않은 것으로 사료된다.

Chlorsulfuron은 광합성과정에는 영향을 미치지 않았지만, 광합성과정으로부터 생성된 탄수화물의 이행에는 영향을 주었고, 그 결과로써 chlorsulfuron이 처리된 식물체가 치사된다는 것이 여러 연구자들에 의해 보고되었다. Vanden Born 등(1988)은 Field pennycress와 *Fagopyrum tataricum*의 source 잎에  $0.1 \text{ g l}^{-1}$ 의 chlorsulfuron을 처리하였을 때, 제초제가 처리된 잎으로부터 광합성산물의 이행이 저해되었다는 점을 발표하였다. Chlorsulfuron에 의한 광합성산물의 이행저해는 제초제가 처리된 식물체에 BCAA를 외부로부터 첨가하므로써 경감되었다. 이 결과들로부터 저자들은 chlorsulfuron에 의한 광합성산물 이행저해는 chlorsulfuron에 의한 2차대사작용에 의한 것이라 추정하였다.

Chlorsulfuron이 처리된 Field pennycress 잎의 탄소고정(net carbon exchange)량은 무처리 잎의 탄소고정량과 비교하여 차이가 없었지만, chlorsulfuron이 처리된 잎으로부터 광합성산물의 이행은 무처리 잎으로부터의 그것과 비교하여 둔화되었다 (Bestman 등, 1990a; Lowther, 1990). 이와 동일한 결과가 canola 식물체를

이용한 실험을 통하여 발표되었다 (Kim과 Vanden Born, 1997). Chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 광합성산물의 이행저해는 시험식물과 제초제 처리양에 따라 약간의 차이가 있기는 하지만 대략 처리 12~24시간 이후 나타났다 [canola, 12시간 이후 (Kim과 Vanden Born, 1996, 1997); *Fagopyrum tataricum*, 12시간 이후 (Vanden Born 등, 1988); *Arabidopsis thaliana*, 24시간 이후 (Hall과 Devine, 1993)]. Chlorsulfuron에 의한 광합성산물의 이행저해의 결과로 처리잎에서는 glucose, fructose, sucrose, 녹말 등 광합성산물의 축적이 일어난 것으로 보고되었다 (Bestman 등, 1990a; Lowther, 1990; Kim과 Vanden Born, 1997; Kim 등, 1997c). Chlorsulfuron이 처리된 canola 잎의 전자현미경 관찰 (처리 48시간 이후) 결과 엽록체내 녹말의 크기가 무처리 식물 잎의 그것과 비교하여 크다는 점은 chlorsulfuron이 처리된 잎으로부터 광합성산물의 이행저해의 결과 광합성산물의 축적이 일어났다는 점을 나타내는 것이다.

Chlorsulfuron에 의한 처리잎으로부터의 광합성산물 이행저해는 막의 기능저하(Vanden Born 등, 1988)와 광합성산물의 체관내적재(phloem loading)에 관여하는 단백질의 기능저하(Bestman 등, 1990a; Lowther, 1990)에 의한 것일지도 모른다는 추론이 제시되었다. 이에 대하여 Hall과 Devine(1993)은 chlorsulfuron이 처리된 *Arabidopsis thaliana* 잎의 원형질막으로부터  $\text{H}^+$ -ATPase를 추출하여 활성도를 측정하였다. Apoplast 이행작용을 갖는 식물체에서 원형질막에 존재하는  $\text{H}^+$ -ATPase는 apoplast에 존재하는 sucrose의 체관내적재에 중요한 역할을 수행한다 (Bush, 1989, 1990; Gallet 등, 1989; Kim 등, 1997a, 1998).

그러므로  $\text{H}^+$ -ATPase의 기능이 저하된 식물체는 sucrose의 체관내적재를 할 수 없게 될 것이라 추정할 수 있다. Chlorsulfuron이 처리된 *Arabidopsis thaliana* 잎의  $\text{H}^+$ -ATPase의 활성도는 무처리된 잎의 그것과 비교하여 차이가 없었다 (Hall과 Devine, 1993). 이러한 결과는 chlorsulfuron에 의한 광합성산물 이행저해가 광합성산물의 체관내적재에 관여하는 단백질, 특히  $\text{H}^+$ -ATPase의 기능저하에 의한 것은 아니라는 점을 보여 준다. 최근 Kim 등(1997c)은 chlorsulfuron 처리 canola 잎의 체관부 조직 전자현미경 관찰을 통하여

광합성산물 이행저해가 일어난 잎의 반세포(companion cell)내 소기관의 팽윤이 광합성산물의 이행저해와 관련이 있을지도 모른다고 발표하였다. 반세포는 체관요소(sieve element)를 둘러 싸고 있으며, 특히 canola와 같은 apopalst 이행 식물에 있어서 (Kim, 1995), 체관내로의 광합성산물 적재에 중요한 역할을 담당하기에 반세포내 소기관의 팽윤은 광합성산물의 체관내적재를 저해할 수도 있다고 본다.

식물체내에서 광합성산물의 이행저해는 (1) 탄소고정과 동화산물의 생산저해, (2) 고정된 탄소원인 sucrose, 전분 등 기타 탄수화물 생합성 과정 및 아미노산 생합성 과정으로의 탄소배분(carbon allocation) 저해, (3) 이행형 탄수화물인 sucrose의 체관내 적재과정 저해, (4) sucrose의 체관내 장거리이동(long distance transport) 저해, (5) sucrose의 체관내하적(phloem unloading) 저해를 들 수 있다 (Kim과 Vanden Born 1996, 1997; Kim 등, 1997c).

현재까지 발표된 chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 광합성산물의 이행저해 원인에 관한 연구결과들은 그 이행저해가 탄소고정과 동화산물의 생산저해로 인한 것은 아니라는 점만은 분명하게 나타내고 있다. 향후 chlorsulfuron이 처리된 식물체에서 광합성산물의 이행저해 원인을 구명하기 위해서는 앞서 언급한 식물체내에서 광합성산물의 이행저해 원인에 관한 많은 연구가 이루어져야 할 것이다. Chlorsulfuron이 처리된 canola 식물체내에 광합성산물의 이행저해와 다른 생리생화학적 변화와의 관계를 그림 3에 나타내었다.

### 2.7. 에틸렌(ethylene) 함량

에틸렌은 식물체내로의 병원균과 곤충의 침입, 건조 및 침수 등 여러 다양한 물리적인 스트레스에 의해 생성되는 식물생장 호르몬으로, 식물체내에서 에틸렌의 함량증가는 잎의 상편생장(epinasty) 및 탈락촉진, 뿌리의 성장억제, 줄기의 신장억제 및 수평성장촉진 등 다양한 생리생화학적 변화를 일으킨다 (Lieberman, 1979).

Chlorsulfuron은 식물체내 에틸렌 함량을 증가시키는 것으로 보고되었다. Velvetleaf 식물체에 chlorsulfuron이 처리되면, 식물체내의 에틸렌 생산이 증가되었고, 이층(leaf abscission)부위의 cellulase의 활성도가 증가되었다 (Hageman과 Behrens, 1984).

이와 유사한 결과들이 chlorsulfuron이 처리된 대두의 배축(Suttle과 Schreiner, 1982)과 해바라기 유식물(Suttle 등, 1983)에서도 각각 보고되었다. Chlorsulfuron과 ethylene을 각각 처리했을 때의 이층 발생은 chlorsulfuron과 에틸렌 생산 저해제인 L-2-amino-4-(2-aminoethoxy)-trans-3-butenoic acid를 동시에 처리했을 때의 이층 발생보다 현저히 증가되었는데 (Hageman과 Behrens, 1984), 이는 chlorsulfuron과 에틸렌 생합성이 밀접하게 관련이 있다는 점을 나타낸다.

Chlorsulfuron은 에틸렌의 함량에 영향을 주지만, 또 다른 식물호르몬들의 함량에는 영향을 주지 않았다. 천연옥신인 indole-3-acetic acid(IAA)에 의해 정단부 신장을 보인 완두콩 줄기, cytokinins에 의해 유도된 오이 자엽의 세포 신장, 그리고 gibberellins에 의해 유도된 상추의 배축 신장은 chlorsulfuron에 의해 영향을 받지 않았다 (Ray, 1982a). 이 결과들은 chlorsulfuron이 세포신장 과정에 영향을 미치지 않았다는 점을 시사한다.

## III. 결 언

Chlorsulfuron은 밀, 보리 경작지에서 많은 일년생 및 다년생의 광엽 및 협엽잡초를 선택적으로 방제하는 SU계 제초제로서, BCAA 생합성과정의 첫번째 공통과정에 관여하는 ALS를 저해한다. 이 효소의 저해로 식물체내에는 BCAA의 결핍, 독성물질의 축적, 그리고 광합성산물의 이행저해 등 많은 생리생화학적 변화가 일어난다.

이러한 변화가 복합적으로 작용하여 chlorsulfuron에 처리된 식물은 치사될 것이라 추정되지만, 식물체내에서 일어나는 반응들이 상호관계를 맺고 있기 때문에 식물의 치사기작을 전반적으로 이해하기는 쉽지 않다. Chlorsulfuron에 의해 일어나는 각각의 생리생화학적 반응에 대한 폭 넓은 기작 연구를 통하여, 우리들은 제초제에 처리된 식물이 어떻게 치사되는지를 좀 더 명확하게 이해할 수 있을 것이다.

이를 통하여 얻어지는 생리생화학적 지식을 바탕으로 새로운 제초제 작용점을 탐색하고, 이 작용점을 저해하는 새로운 제초제를 개발할 수 있을 것이다 (Böger, 1989).

감사의 글

본 논문을 읽고 많은 비평을 해주신 한국화학연구

소의 김진석 박사와 순천대학교의 이도진 교수께 깊은 감사를 드립니다. 본 논문을 집필하는 동안 김성문은 한국학술진흥재단으로부터 박사후연수비를 수혜

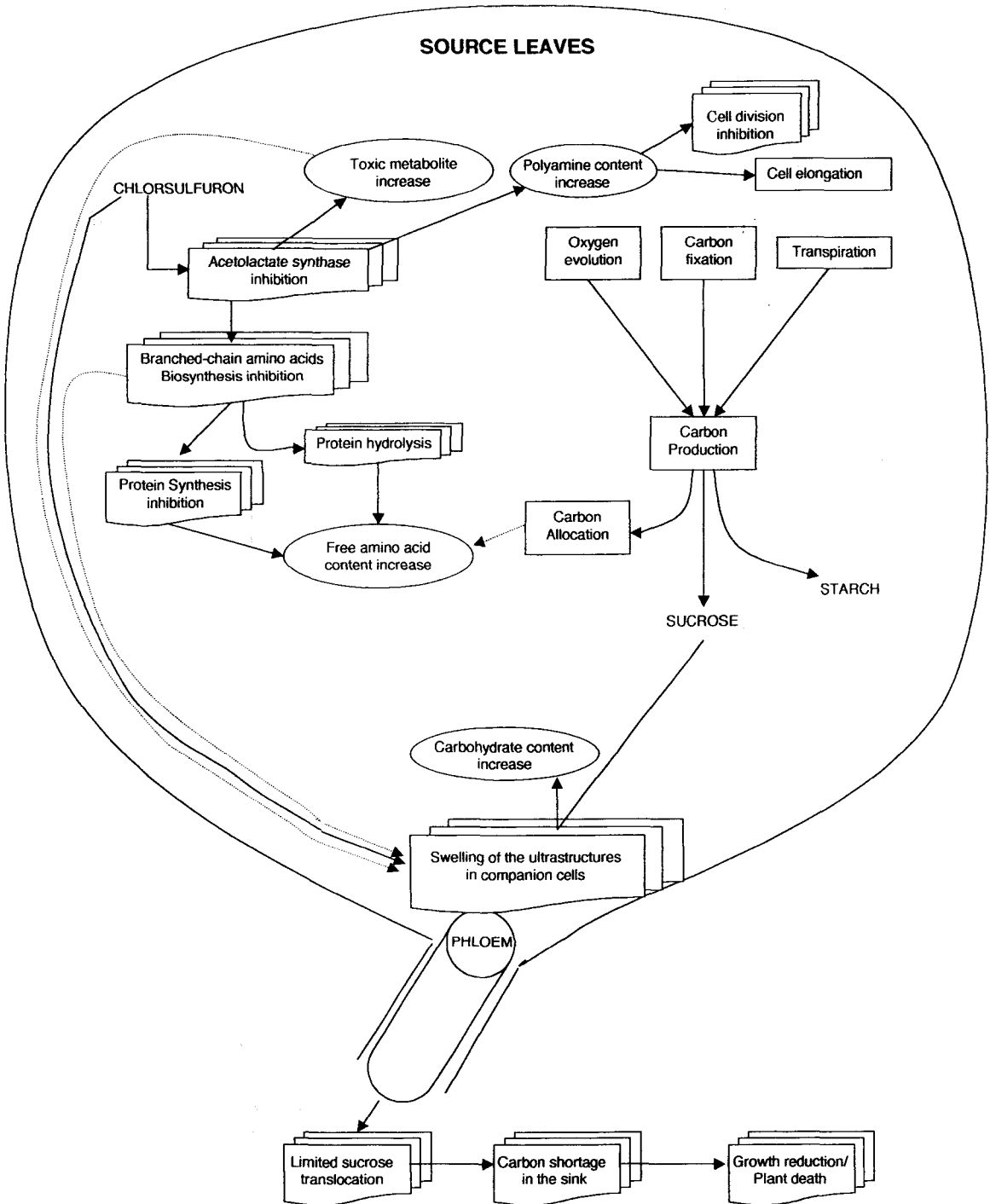


Fig. 3. A schematic diagram of a putative mechanism for herbicide-induced reduction of assimilate translocation in chlorsulfuron-treated plants. Rectangular boxes indicate unaffected biochemical and physiological processes in chlorsulfuron-treated plants; double boxes represent metabolic processes that are changed; oval boxes indicate final results of changed biochemical and physiological processes.

받았습니다. 이에 깊이 감사를 드립니다.

### 인용문헌

- Andrea, T. A., S. P. Artz, R. B. Ray and R. J. Pasteris (1992) Structure-activity relationships of sulfonylurea herbicides. *In Rational Approaches to Structure, Activity, and Ecotoxicology of Agrochemicals*. W. Draber, T. Fujita, eds, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.373~395.
- Bastide, J. and F. Ortega (1995) Inhibition of acetolactate synthase by sulfonylureas: Reversibility, inhibitor binding and mechanism. *Pestic. Sci.* 43:253~254.
- Bekkaoui, F., P. Schorr and W. L. Crosby (1993) Acetolactate synthase from *Brassica napus*: Immunological characterization and quaternary structure of the native enzyme. *Physiol. Plant.* 88:475~484.
- Bestman, H. D., A. J. Lowther and W. H. Vanden Born (1990b) Effect of chlorsulfuron on carbon metabolism in field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) seedlings. *Weed Sci. Soc. Am. Abstr.* 30:62.
- Bestman, H. D., M. D. Devine and W. H. Vanden Born (1990a) Herbicide chlorsulfuron reduces assimilate transport out of treated leaves of field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) seedlings. *Plant Physiol.* 93:1441~1448.
- Brown, H. M. (1990) Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pestic. Sci.* 29:263~281.
- Brunk, D. G. and D. Rhodes (1988) Amino acid metabolism of *Lemna minor* L. III. Responses to aminooxyacetate. *Plant Physiol.* 87:447~453.
- Bryan, J. K. (1990) Advances in the Biochemistry of Amino Acid Biosynthesis. *In The Biochemistry of Plants*, Vo. 16, B. J. Mifflin and P. J. Lea, eds, Academic Press, New York, pp.161~195.
- Bush, D. R. (1989) Proton-coupled sucrose transport in plasmalemma vesicles isolated from sugar beet leaves. *Plant Physiol.* 89:1318~1323.
- Bush, D. R. (1990) Electrogenicity, pH-dependence, and stoichiometry of the proton-sucrose symport. *Plant Physiol.* 93:1590~1596.
- Böger, P. (1989) New plant-specific targets for future herbicides. *In Target Sites of Herbicide Action*. P. Böger, G. Sandmann, eds, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.248~282.
- Chaleff, R. S. and C. J. Mauvais (1984) Acetolactate synthase is the site of action of two sulfonylurea herbicides in higher plants. *Science* 224:1443~1445.
- Cink, J. H., T. F. Peeper and J. H. Stiegler (1985) Interaction of sulfonylurea herbicides and insecticides on wheat. *Proceedings 38th annual meeting of the Southern Weed Science Society.* 109.
- Clayton, D. S. and T. L. Reynolds (1991) Chlorsulfuron effects on protein synthesis and accumulation in cultured root tips of *Pisum sativum* L. *J. Plant Physiol.* 137:337~341.
- Coruzzi, G. M. (1991) Molecular approaches to the study of amino acid biosynthesis in plants. *Plant Sci.* 74:145~155.
- Crowley, J. and G. N. Prendeville. (1985) Effect of chlorsulfuron and 1,8 naphthalic anhydride on uptake of <sup>45</sup>Ca in maize. *Weed Res.* 25:341~345.
- Danchin, A., A. Dondon and J. Daniel (1984) Metabolic alterations mediated by 2-ketobutyrate in *Escherichia coli* K12. *Mol. Gen. Genet.* 193:473~478.
- De Agagio, M. and A. C. Giardina (1987) Inhibition of fusicoccin-stimulated K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> transport in root tips from maize seedlings pretreated with chlorsulfuron. *Plant, Cell Environ.* 10:229~232.
- De Felice, M., C. T. Lago, C. H. Squires and J. M. Calvo (1982) Acetohydroxy acid synthase isoenzymes of *Escherichia coli* K-12 and *Salmonella typhimurium*. *Ann. Microbiol.* 133a:251~256.
- De Villiers, O. T., M. L. Vandenplas and H. M. Koch (1980) The effect of DPX 4189 on biochemical process in isolated leaf cells and chloroplasts. *Proceedings 1980 British Crop Protection Conference-Weeds.* 237~242.
- Devine, M. D., H. D., Bestman and W. H. Vanden

- Born (1990) Physiological basis for the different phloem mobilities of chlorsulfuron and clopyralid. *Weed Sci.* 38:1~9.
- DiTomaso, J. M. (1988) Herbicide-induced polyamine accumulation. Proceedings 42nd annual meeting of the Northeastern Weed Science Society. 52~53.
- Duggleby, R. G. (1997) Identification of an acetolactate synthase small subunit gene in two eukaryotes. *Gene* 190:245~249.
- Duke, S. O. (1990) Overview of herbicide mechanisms of action. *Environ. Health Prospect* 87:263~371.
- Durner, J. and P. Böger (1988) Acetolactate synthase from barley *Hordeum vulgare* L. Purification and partial characterization. *Z. Naturforsch.* 43c:850~856.
- Durner, J. and P. Böger (1990) Oligomeric forms of plant acetolactate synthase depend on flavin adenine dinucleotide. *Plant Physiol.* 93:1027~1031.
- Durner, J., V. Gailus and P. Böger (1991) New aspects on inhibition of plant acetolactate synthase by chlorsulfuron and imazaquin. *Plant Physiol.* 95:1144~1149.
- Evans, P. T. and R. L. Malmberg (1989) Do polyamines have roles in plant development? *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:235~269.
- Fang, L. Y., P. R. Gross, C.-H. Chen and M. Lillis (1992) Sequence of two acetohydroxyacid synthase genes from *Zea mays*. *Plant Mol. Biol.* 18:1185~1187.
- Francis, D. (1992) The cell cycle in plant development. *New Phytol.* 122:1~20.
- Gallet, O., R. Lemoine, C. Larsson and S. Delrot (1989) The sucrose carrier of the plant plasma membrane. I. Differential affinity labeling. *Biochim. Biophys. Acta* 978:56~64.
- Gerwick, B. C., M. V. Subramanian, V. Loney-Gallant and D. P. Chandler (1990) Mechanism of action of the 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidines. *Pestic. Sci.* 29:357~364.
- Giardina, M. C. and S. Carosi (1990) Effects of chlorsulfuron on polyamine content in maize seedlings. *Pestic. Biochem. Physiol.* 36:229~236.
- Gifford, R. M., J. H. Thorne, W. D. Hitz and R. T. Giaquinta (1984) Crop productivity and photoassimilate partitioning. *Science* 225:801~808.
- Gould, A. R., N. P. Everett, T. L. Wang and H. E. Street (1981) Studies on the control of the cell cycle in cultured plant cells. I. Effect of nutrient limitation and nutrient starvation. *Protoplasma* 106:1~13.
- Hageman, L. H. and R. Behrens (1984) Chlorsulfuron induction of leaf abscission in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Sci.* 32:132~137.
- Hahn, G. A. and J. W. Brown (1967) Properties of a methionyl-tRNA synthetase from *Sarcina lutea*. *Biochim. Biophys. Acta* 146:264~271.
- Hall, L. M. and M. D. Devine (1993) Chlorsulfuron inhibition of phloem translocation in chlorsulfuron-resistant and susceptible *Arabidopsis thaliana*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 45:81~90.
- Hanai, R., K. Kawano, S. Shigematsu and M. Tamura (1993) KIH-6127, a new selective herbicide to control barnyardgrass in rice. Brighton Crop Protection Conference-Weeds. 57~62.
- Hatzios, K. K. and C. M. Howe (1982) Influence of the herbicides hexazinone and chlorsulfuron on the metabolism of isolated soybean leaf cells. *Pestic. Biochem. Physiol.* 17:207~214.
- Haughn, G. W., J. Smith, B. Mazur and C. Sommerville (1988) Transformation with a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene renders tobacco resistant to sulfonylurea herbicides. *Mol. Gen. Genet.* 211:266~271.
- Hawker, J. S., C. F. Jenner and C. M. Niemietz (1991) Sugar metabolism and compartmentation. *Aust. J. Plant Physiol.* 18:227~237.
- Hawkes, T. R. (1989) Studies of herbicides which inhibit branched-chain amino acid biosynthesis. In *Prospects for Amino Acid Biosynthesis Inhibitors in Crop Protection and Pharmaceutical Chemistry*, Monograph No. 42. British Crop Protection Council. L. G. Copping, J. Dalziel, A. D. Dodge, eds,



- Farnham, Surry, pp.129~136.
- Hawkes, T. R. (1993) Acetolactate synthase: The perfect herbicide target? Brighton Crop Protection Conference-Weeds. 723~730.
- Hess, F. D. (1987) Herbicide effects on the cell cycle of meristematic plant cells. Rev. Weed Sci. 3:183~203.
- Hirschberg, J. A. Bleecker, D. J. Kyle, L. McIntosh and C. J. Arntzen (1984) The molecular basis of triazine-herbicide resistance in higher-plant chloroplasts. Zeitschrift fur Naturforschung 39c:412~420.
- Joo, Y. A., D. W. Kim, S. I. Chang and J. D. Choi (1997) Inhibition of acetolactate synthase from Pea by pyrimidine derivatives. J. Kor. Chem. Soc. 41:304~312.
- Kim, S. (1995) Herbicidal action mechanism of chlorsulfuron in the inhibition of sucrose translocation in a susceptible species, *Brassica napus* L. cv Westar. University of Alberta, Ph.D. Thesis. 152p.
- Kim, S. and W. H. Vanden Born (1996) Chlorsulfuron decreases both assimilate export by source leaves and import by sink leaves in canola (*Brassica napus* L.) seedlings. Pestic. Biochem. Physiol. 56:141~148.
- Kim, S. and W. H. Vanden Born (1997) Carbon allocation and translocation in chlorsulfuron-treated canola (*Brassica napus*). Weed Sci. 45:466~469.
- Kim, S., J. H. Hur, D. S. Han and W. H. Vanden Born (1997b) Chlorsulfuron-induced phytotoxicity in canola (*Brassica napus*) seedlings. Kor. J. Weed Sci. 17:199~206.
- Kim, S., J. H. Hur and D. S. Han (1997a) Apoplastic phloem loading of photoassimilate. Kor. J. Weed Sci. 17:345~361.
- Kim, S., J. H. Hur and D. S. Han (1998) Characteristics of phloem translocation of photoassimilates and herbicides. Kor. J. Pestic. Sci. 2:1~11.
- Kim, S., S. Han and W. H. Vanden Born (1997c) Effect of chlorsulfuron on assimilate transport: ultrastructural implications. Weed Sci. 45:470~473.
- Kishore, G. M. (1988) Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. Ann. Rev. Biochem. 57:627~663.
- Kleczkowski, L. A. (1994) Inhibitors of photosynthetic enzymes/carriers and metabolism. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 45:339~367.
- Kleschick, W. A., M. J. Costales, J. E. Dunbar, R. W. Meikle, W. T. Monte, N. R. Pearson, S. W. Snider and A. P. Vinogradoff (1990) New herbicidal derivatives of 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine. Pestic. Sci. 29:341~355.
- LaRossa, R. A. and J. V. Schloss (1984) The sulfonylurea herbicide sulfometuron methyl is an extremely potent and selective inhibitor of acetolactate synthase in *Salmonella typhimurium*. J. Biol. Chem. 259:8753~8757.
- LaRossa, R. A. and S. C. Falcon (1984) Amino acid biosynthetic enzymes as targets of herbicide action. Trends Biotechnol. 2:158~161.
- LaRossa, R. A. and T. K. Van Dyk (1987) Metabolic mayhem caused by 2-ketoacid imbalances. Bioessays Z. 125~130.
- LaRossa, R. A., T. K. Van Dyk and D. R. Smulski (1987) Toxic accumulation of  $\alpha$ -ketobutyrate caused by inhibition of the branched-chain amino acid biosynthetic enzyme acetolactate synthase in *Salmonella typhimurium*. J. Bacteriology 169:1372~1378.
- Lanzagorta, J. M. A., C. de la Torre and P. Aller (1988) The effect of butyrate on cell cycle progression in *Allium cepa* root meristem. Physiol. Plant. 72:775~781.
- Lee, K. Y., J. Townsend, J. Tepperman, M. Black, C. F. Chui, B. Mazur, P. Dunsmuir and H. Bedbrook (1988) The molecular basis of sulfonylurea herbicide resistance in tobacco. EMBO J. 7:1241~1248.
- Levitt, G., H. L. Ploeg, R. C. Weigel and D. J. Fitzgerald (1981) 2-Chloro-N-[(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl)aminocarbonyl]benzenesulfonamide, a new herbicide. J. Agric. Food Chem. 29:416~418.
- Lieberman, M. (1979) Biosynthesis and action of ethylene. Ann. Rev. Plant Physiol. 30:533~591.

- Lowther, A. J. M. (1990) Some effects of chlorsulfuron on assimilate translocation in a susceptible weed species, *Thlaspi arvense* L. University of Alberta, M. Sc. Thesis. 89p.
- Mersie, W. and C. L. Foy (1987) Phytotoxicity, absorption and metabolism of chlorsulfuron in monoploid callus of potato (*Solanum phureia*). Weed Res. 27:453~458.
- Miflin, B. J. (1974) The location of nitrate reductase and other enzymes related to amino acid metabolism in the plastids of root and leaves. Plant Physiol. 54:550~555.
- Mitchell, J. P. (1969) RNA accumulation on relation to DNA and protein accumulation in *Jerusalem artichoke* callus cultures. Ann. Bot. 33:25~34.
- Muhitch, M. J., D. L. Shaner and M. A. Stidham (1987) Imidazolinones and acetohydroxyacid synthase from higher plants. Plant Physiol. 83:451~456.
- Pallett, K. E. (1997) Herbicide target sites, recent trends and new challenges. Proceedings 1997 British Crop Protection Conference-Weeds. 575~578.
- Ray, T. B. (1980) Studies on the mode of action of DPX-4189. Proceedings 1980 British Crop Protection Conference-Weeds. 7~14.
- Ray, T. B. (1982a) The mode of action of chlorsulfuron: Lack of direct inhibition of plant DNA synthesis. Pestic. Biochem. Physiol. 18:262~266.
- Ray, T. B. (1982b) The mode of action of chlorsulfuron. A new herbicide for cereals. Pestic. Biochem. Physiol. 17:10~17.
- Ray, T. B. (1984) Site of action of chlorsulfuron. Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. Plant Physiol. 75:827~831.
- Reid, R. J., L. D. Field and M. S. Pitman (1985) Effects of external pH, fusicoicin and butyrate on the cytoplasmic pH in barley root tips measured by <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. Planta 166:341~347.
- Relton, J. M., R. M. Wallsgrove, J.P. Bourgin and S. W. J. Bright (1986) Altered feedback sensitivity of acetohydroxyacid synthase from valine-resistant mutants of tobacco *Nicotiana tabacum*. Planta 169:46~50.
- Rhodes, D., A. Hogan, L. Deal, G. Jamieson and P. Howarth (1987) Amino acid metabolism of *Lemna minor* L. II. Responses to chlorsulfuron. Plant Physiol. 84:775~780.
- Robbins, J. and T. L. Rost (1987) Chlorsulfuron inhibition of cell cycle progression and the recovery of G1 arrested cells by Ile and Val. J. Plant Growth Regul. 6:67~74.
- Rost, T. L. (1984) The comparative cell cycle and metabolic effects of chemical treatments on root tip meristems. III. Chlorsulfuron. J. Plant Growth Regul. 3:51~63.
- Rost, T. L. and R. Reynolds (1985) Reversal of chlorsulfuron-induced inhibition of mitotic entry by isoleucine and valine. Plant Physiol. 77:481~482.
- Royuela, M., A. Gonzalez, C. Arrese-Igor, P. M. Apario-Tejo and C. Gonzalez-Murua (1998) Imazathapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with Pea. Pestic. Sci. 52:372~380.
- Royuela, M., C. Arrese-Igor, A. Munoz-Rueda and C. Gonzalez-Murua (1991) *In vitro* and *in vivo* effects of chlorsulfuron in sensitive and tolerant plants. J. Plant Physiol. 139:235~239.
- Scheel, D. and J. E. Casida (1985) Sulfonylurea herbicides: Growth inhibition in soybean cell suspension cultures and in bacteria correlated with block in biosynthesis of valine, leucine, or isoleucine. Pestic Biochem. Physiol. 23:398~412.
- Schloss, J. V. (1989) Modern aspects of enzyme inhibition with particular emphasis on reaction intermediate analogs and other potent, reversible inhibitors. In Target Sites of Herbicide Action. P. Böger, G. Sandmann, eds, CRC Press, Boca Raton, pp.165~245.
- Schloss, J. V. (1990) Acetolactate synthase, mechanism of action and its herbicide binding site. Pestic Sci.

- 29:283~292.
- Schloss, J. V. (1993) Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. Brighton Crop Protection Conference-Weeds. 147~152.
- Schloss, J. V., D. E. Van Dyk, J. F. Vasta and R. M. Kutny (1985) Purification and properties of *Salmonella typhimurium* acetolactate synthase isozyme II from *Escherichia coli* HB101/pDU9. *Biochemistry* 24:4952~4959.
- Schloss, J. V., L. M. Ciskanik and D. E. Van Dyk (1988) Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. *Nature* 331:360~362.
- Schulz, A., P. Sponemann, H. Kocher and F. Wengenmayer (1988) The herbicidally active experimental compound Hoe 704 is a potent inhibitor of the enzyme acetolactate reductoisomerase. *FEBS LETTERS* 238:375~378.
- Sekura, R. and A. Meister (1977) Covalent interaction of L-2-amino-4-oxo-5-chloropentanoate at glutamate binding site of  $\gamma$ -glutamyl cysteine synthetase. *J Biol. Clin.* 252:2606~2610.
- Serafini-Francassini, D., N. Bagni, P. G. Cionini and A. Bennici (1980) Polyamines and nucleic acids during the first cell cycle of *Helianthus tuberosus* tissue after the dormancy break. *Planta* 148:322.
- Shaner, D. L. and B. K. Singh (1992) How does inhibition of amino acid biosynthesis kill plants. *In Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants*. B. K. Singh, H. E. Flores, J. C. Shannon, eds, American Society of Plant Physiologists, pp.174~183.
- Shaner, D. L. and B. K. Singh (1993) Phytotoxicity of acetohydroxyacid synthase inhibitors is not due to accumulation of 2-ketobutyrate and/or 2-aminobutyrate. *Plant Physiol.* 103:1221~1226.
- Shaner, D. L., P. C. Anderson and M. A. Stidham (1984) Imidazolinones. Potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiol.* 76:545~546.
- Shimizu, T., I. Nakayama, T. Nakao, M. Tamura, N. Wada, Y. Nezu and H. Abe (1994) Action mechanism of pyrimidinyl carboxy herbicides. Eighth International Congress of Pesticide Chemistry, Washington, DC. 9B-669.
- Singh, B. K. and D. L. Shaner (1995) Changes in free amino acid pools can predict the mode of action of herbicides. *Pestic. Sci.* 43:221~225.
- Singh, B. K. and G. K. Schmitt (1989) Flavin adenine dinucleotide causes oligomerization of acetohydroxyacid synthase from Black Mexican Sweet corn cells. *FEB LETTERS* 258:113~115.
- Smith, T. A. (1990) Plant polyamines-Metabolism and function. *In Polyamines and Ethylene:Biochemistry, Physiology, and Interactions*. H. E. Flores, R. N. Arteca, J. C. Shannon, eds, American Society of Plant Physiologist, pp.1~23.
- Sonnewald, U. and L. Willmitzer (1994) Molecular approaches to sink-source interactions. *Plant Physiol.* 99:1267~1270.
- Stidham, M. A. and D. L. Shaner (1990) Imidazolinone inhibition of acetohydroxyacid synthase *in vitro* and *in vivo*. *Pestic. Sci.* 39:335~340.
- Stitt, M. and P. Quick (1989) Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. *Physiol. Planta.* 77:633~641.
- Subramanian, M. V., V. Loney-Gallant, J. M. Dias and L. C. Mireles (1991) Acetolactate synthase inhibiting herbicides bind to the regulatory site. *Plant Physiol.* 96:310~313.
- Suttle, J. C. and D. R. Schreiner (1982) Effects of DPX-4189 (2-chloro-N-((4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazine-2-yl)amino-carbonyl)benzenesulfonamide) on anthocyanine synthesis, phenylalanine ammonia lyase activity, and ethylene production in soybean hypocotyls. *Can. J. Bot.* 60:741~745.
- Suttle, J. C., H. R. Swanson and D. R. Schreiner (1983) Effect of chlorsulfuron on phenylpropanoid metabolism in sunflower seedlings. 2:137~149.
- Takahashi, S., S. Shigematsu, A. Morita, M. Nezu, J. S. Claus and C. S. Williams (1991) KIH-2031, a new herbicide for cotton. Brighton Crop Protection

- Conference-Weeds. 57~62.
- Trufanova, T. V., A. K. Demurina and O. I. Vasyurina (1990a) Effects of chlorsulfuron on the polar lipid content in the root apices of cotton seedlings. *Uzbekski Biologicheski Zhurnal* 1:20~21.
- Trufanova, T. V., A. K. Demurina and O. I. Vasyurina (1990b) Effect of chlorsulfuron on contents and synthesis of lipids in root apices of cotton seedlings. *Uzbekski Biologicheski Zhurnal* 3:27~30.
- Vanden Born, W. H., H. D. Bestman and M. D. Devine (1988) The inhibition of assimilate translocation by chlorsulfuron as a component of its mechanism of action. *Proc. EWRS Symp. Factors affecting herbicide activity and selectivity.* 69~74.
- Walker, M. A., D. R. Roberts, C. Y. Shih and E. B. Dumbroff (1985) A requirement during the cell division phase of radicle emergence in seeds of *Acer saccharum*. *Plant Cell Physiol.* 26:967~971.
- Webster, P. L. and J. van't Hof (1970) DNA synthesis and mitosis in meristems: Requirements for RNA and protein synthesis. *Amer. J. Bot.* 57:130~139.
- Wittenbach, V. A., P. W. Teaney, W. S. Hanna, D. R. Rayner and J. V. Schloss (1994) Herbicidal activity of an isopropylmalate dehydrogenase inhibitor. *Plant Physiol.* 106:321~328.
- Wright, T. R., N. F. Bascomb, S. F. Sturmer and D. Penner (1998) Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Sci.* 46:13~23.

#### Herbicidal action mechanism of chlorsulfuron

Songmun Kim\*, Yongho Kim<sup>1</sup>, Jang-Hyun Hur<sup>1</sup> and Dae-Sung Han<sup>1</sup>(*Institute for Agricultural Science Research, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea, and* <sup>1</sup>*Division of Biological Environment, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea*)

**Abstract :** Chlorsulfuron, one of sulfonylurea herbicides acts through inhibition of acetolactate synthase (EC 4.1.3.18; ALS, also known as acetohydroxyacid synthase) in the branched-chain amino acid biosynthesis process. After chlorsulfuron-ALS interaction, many physiological and metabolic disruptions occur in plants. However, it is not clear how this chlorsulfuron-ALS interaction affects those physiological and metabolic processes and how this interaction leads subsequently to plant death. Several researchers suggested that the death of chlorsulfuron-treated plants might be due to a shortage of the branched-chain amino acids, an accumulation of toxic metabolites, and/or a depletion of photoassimilates. It remains as a mystery presently, however, if such changes result in the plant death. In this review, we discussed how the chlorsulfuron-ALS interaction leads to physiological and metabolic disruptions in plants. (Received September 9, 1998, accepted December 1, 1998)

**Key word :** chlorsulfuron, ALS mode of action, mechanism of action.

\*Corresponding author (Fax:+82-361-254-3835, E-mail:skim5@cc.kangwon.ac.kr)