

Fenoxaprop-P-ethyl의 제초활성에 대한 Bentazon의 길항작용기구

마상용¹ · 김승우² · 전재철³

Antagonistic Mode of Action of Fenoxaprop-P-ethyl Phytotoxicity with Bentazon

Ma, S.Y.¹, S.W. Kim² and J.C. Chun³

ABSTRACT

Antagonistic mode of action of fenoxaprop-P-ethyl [ethyl(R)2-4-[(6-chloro-2-benzoxazolyloxy)phenoxy]propionate] with bentazon was investigated with respect to absorption, translocation, metabolism, and change in target site response of fenoxaprop-P-ethyl using four-leaf stage of rice(*Oryza sativa* L.) and barnyardgrass [*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.]. Shoots of rice and barnyardgrass was more sensitive to fenoxaprop-P-ethyl than the roots. More than 90% of fenoxaprop-P-ethyl was absorbed within 6 hours after treatment and 30% of the absorbed was acropetally and basipetally translocated at 24 hours after treatment. Fenoxaprop-P-ethyl was rapidly transformed to its acid form, fenoxaprop(2-[4-(6-chloro-2-benzoxazolyloxy)phenoxy]propionic acid), which was subsequently metabolized to polar conjugates. However, changes in absorption, translocation, and metabolism of fenoxaprop-P-ethyl by bentazon treatment were not found in both species. Background activity of acetyl-CoA carboxylase(ACCase) in rice and barnyardgrass was 26.5 and 23.2nmol/min/mg, respectively. Concentration required to inhibit fifty percent enzyme activity(I₅₀) in vitro was 6.5~7.4μM of fenoxaprop-P-ethyl and more than 500μM of bentazon. There were no significant differences in I₅₀ value between two treatments of fenoxaprop-P-ethyl alone and its bentazon mixture. However, bentazon reduced ACCase activity in vivo and inhibited electron transport in chloroplast thylakoid. Based on the results obtained, it is concluded that the antagonistic effect of bentazon occurs due not to direct effect on target site of fenoxaprop-P-ethyl, but to indirect involvement in reducing herbicidal activity of fenoxaprop-P-ethyl through physiological disturbances caused by bentazone at whole chloroplast level.

Key words : Antagonistic mode of action, Fenoxaprop-P-ethyl, Betazon, ACCase, Chloroplast, Electron transport

¹ 우석대학교 생명자원과학부 (Woosuk University, Wanju 565-701, Korea)

² 정읍농촌지도소 사회지도과 (Rural Guidance Office, Jeongeup 580-050, Korea)

³ 전북대학교 응용생물공학부 (Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea)

서 론

Fenoxaprop-P-ethyl은 화본과 식물에 대하여 높은 살초력을 갖는 경엽처리형 제초제로서, 피, 바랭이 등이 우점 발생하는 농경지에서 주로 사용되고 있다. Fenoxaprop-P-ethyl을 포함한 aryloxyphenoxypionate계 제초제들은 식물체 내에서 지방산 생합성 초기과정인 acetyl-CoA의 carboxylation 반응을 촉매하는 acetyl-CoA carboxylase(ACCase, EC 6.4.1.2)를 저해하여 malonyl-CoA의 생성을 차단함으로써 지방산 생합성 과정을 억제하는 것으로 알려져 있다^{9,10,13}. 이 계통의 제초제들은 대부분 alkyl ester형으로 처리되며, 식물체 내에서 acid형으로 신속히 전환되는 특징을 가지고 있다^{21,22}. Ester형과 acid형은 모두 제초활성을 나타내지만, 식물체 또는 토양환경 중에서 가수분해, hydroxylation 및 conjugation 반응과 같은 대사과정을 통하여 불활성화된다^{2,3,8,12}. Bentazon은 일년생 광엽 및 사초과 잡초를 방제할 목적으로 널리 사용되는 제초제로서, 식물체 내에서 광합성 저해에 의한 제초활성을 나타낸다^{1,17,19}.

Jordan¹⁴⁾은 fenoxaprop-P-ethyl과 bentazon을 혼합 사용하는 경우에 bentazon에 의하여 fenoxaprop-P-ethyl의 제초활성이 저하되는 길항효과가 나타난다고 보고하였다. 우리나라에서도 최근까지는 fenoxaprop-P-ethyl의 화본과 식물에 대한 높은 살초력 때문에 벼나 옥수수과 같은 화본과 작물에 있어서 약해의 우려로 그 이용범위가 콩과 같은 광엽작물에 한정되어 왔으나, 1997년부터 bentazon과의 혼합제가 등록되어 화본과 잡초가 다량 발생하는 벼 직파재배지 등에서 그 사용이 가능하게 되었다. 이러한 혼합제의 개발은 약제 간의 길항작용성을 이용하는 새로운 제초제 사용기술로서, 약제의 혼합사용에서 나타나는 길항작용이 약효의 감소라는 종래의 부정적인 개념에서 탈피하여 적용방법에 따라서는 제초제의 이용범위의 확대라는 긍정적인 요소를 내포하고 있다. 따라서 이러한 길항효과에 대한 생리, 생화학적 해

석은 두 약제의 안전사용을 위한 이론적 근거뿐만 아니라, 이후에 혼합사용이 예상되는 다른 약제에 대한 사용 기술의 기준을 제시할 수 있다.

일반적으로 제초제의 길항작용성은 약제 간 흡수 및 이행의 저해, 대사활성의 증대 및 작용점에서의 경합 등 상호작용에 의하여 나타난다고 보고되어 있다¹¹. 이러한 보고를 토대로 본 연구에서는 화본과 식물 벼와 피를 대상으로 fenoxaprop-P-ethyl과 bentazon의 상호작용성을 생물검정을 통하여 규정하고, bentazon의 혼합으로 인한 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수, 이행, 대사 및 작용점에 대한 활성의 변화를 조사하여 길항성 발현 기구를 설명하고자 하였다.

재료 및 방법

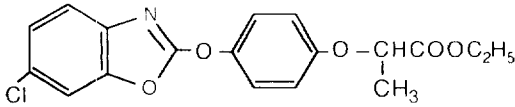
1. Bentazon에 의한 길항효과 검정

벼(*Oryza sativa* L., cv. 동진)와 피 [*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.]의 종자를 2~2mm 정도로 최아시킨 다음, 논 토양이 채워진 사각 플라스틱 포트(40×35×25cm)에 파종하고 온실조건(주야간 평균기온 25~16℃)에서 일정기간 생육시켰다. 두 초종의 생육이 4엽기에 이르렀을 때, fenoxaprop-P-ethyl 7% 유탁제 100~600μM과 bentazon 40% 액제 5~20mM을 농도 별로 혼합하여 소형 분무기를 이용하여 균일하게 살포하였다. 약제처리는 3반복으로 실시하였으며, 처리 25일 후에 각 초종의 지상부와 근부를 분리하고 생체중을 조사하여 무처리구 및 단제처리구와 대비하여 bentazon 혼합처리에 의한 길항효과 정도를 평가하였다. 연구에 사용한 fenoxaprop-P-ethyl과 bentazon의 화학구조는 Fig. 1과 같다.

2. 약제 처리, 추출 및 분석

검정식물의 생육이 4엽기에 이르렀을 때, fenoxaprop-P-ethyl 표준품 400μM과 bentazon 표준품 20mM를 혼합하고 정밀 분주기(PB-600, Hamilton)를 이용하여 각 식물체의 제 3엽에 점

Fenoxaprop-P-ethyl



Bentazon

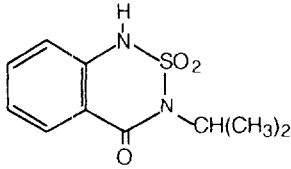


Fig. 1. Chemical structures of herbicides used

적 처리하였다. 약제 처리는 3반복으로 실시하였으며, 약제처리 1시간 후부터 정기적으로 식물체를 채취하여 처리엽과 처리엽의 상, 하위 지상부위 및 근부로 분리하였다. 식물조직을 분리 직후에 신속히 칭량하고 이들을 약제 추출 및 분석을 위하여 사용하였다. 또한 흡수되지 않고 엽 표면에 남아 있는 잔류물을 제거하기 위하여 증류수, 80% methanol 및 증류수의 순으로 세척하였으며, 세척액 중에 존재하는 유효성분의 양은 약제의 흡수량과 합산하여 회수율 산출시에 반영하였다. 식물조직에 흡수된 fenoxaprop-P-ethyl은 마와 전¹⁶⁾이 행한 방법에 따라 약제성분의 가수분해와 acetyl화 반응을 통하여 얻어진 유도체를 전자포착검출기와 모세분리관(PAS-5, Hewlett Packard)을 장착시킨 GC system(HP 5890, Hewlett Packard)으로 정량하였다.

3. 대사산물의 합성 및 동정

대사물질의 동정은 식물조직에 80% acetone을 가하여 대사물질을 추출하고 동일한 TLC판(Merck 60, F-254)에 추출액과 대사산물의 표준품을 치상 전개시켜 비교하였다. 이때 TLC 전개용매는 toluene/ethanol/acetic acid(150 : 7 : 7, v/v/v)를 사용하였다. Polar conjugate 대사산물의 동정은 glutathione 결합체의 경우에 실험실에서 자체 합성한 표준품을 치상하는 직접적인 방법과 추출시료에 β -glucosidase(Sigma, G4511)를 첨가하여 glucose 결합체의 존재를 확인하

는 간접적인 방법을 사용하였다^{5,21)}. 분석조건에서 나타난 대사물질의 분포도 Rf 값은 fenoxaprop-P-ethyl의 ethyl ester형 0.71, acid형 0.34, conjugate형 0.15이었다. 또한 각 대사물질의 정량을 위하여 TLC판의 전개원점으로 부터 1cm 단위로 피복된 silica gel을 채취하고 60, 80 및 100% acetone을 순차적으로 사용하여 TLC 상의 대사물질을 추출한 다음, 가수분해 및 acetyl 반응후의 대사산물을 GC로 분석하였다¹⁶⁾.

4. ACCase 활성 검정

ACCase의 활성 검정을 위하여 무처리 또는 bentazon 10~20mM을 처리한 식물체의 완전엽을 약제처리 5일 후에 채취하여 Burton 등⁴⁾의 방법에 따라 ACCase 조효소액을 준비하였다. 효소활성반응⁷⁾은 2mM ATP, 50mM MgCl₂, 400mM glycerol, 0.5mM dithiothreitol, 3mM acetyl Co-A 및 조효소액이 포함된 반응액에 15mM의 NaH¹⁴CO₃(9.25 KBq/mmol)을 가함으로써 개시하였으며, 이때 반응액의 총량은 0.2ml로 하였다. 반응을 30℃에서 20분간 지속시킨 후 30 μ l의 12N HCl을 가하여 반응을 종료시키고 반응액을 건조시킨 다음, 50%(v/v) ethanol 0.5ml를 가하여 잔류물을 분산시키고 5ml의 scintillation cocktail을 가하여 liquid scintillation counter(Packard)로 방사능을 측정하였다.

5. Thylakoid 전자전달활성 검정

약제처리에 따르는 thylakoid막의 광계 II 전자전달 활성의 변화를 조사하기 위하여 먼저 검정식물로 부터 thylakoid 추출액을 준비하고 thylakoid 추출액의 첨가에 의하여 나타나는 2, 6-dichlorophenolindophenol(DPIP)의 환원을 580nm에서 측정하였다^{6,15,18)}. 반응액은 10mM NaCl, 5mM MgCl₂, 1mM NH₄Cl, 100mM sorbitol, 1 μ M Gramicidin D, 50 μ M DPIP, thylakoid막 추출액 및 fenoxaprop-P-ethyl(100~600 μ M) 또는 bentazon(5~20mM)이 포함된 50mM sodium phosphate(pH6.8) 완충액을 사용하였다. 반응액의 총량은 3ml로 하였으며, 이때 thylakoid 추출액의 농도는 20~25 μ g chl./ml 이었다. 반응액에

적색광 필터(Corning 2-58)로 단색화시킨 actinic 광을 조사하였으며, 반응 직후부터 30초 간격으로 흡광도의 변화를 측정하였다. 약제 또는 thylakoid막 추출액을 배제시킨 별도의 반응액으로 부터 흡광도를 측정하여 DPI의 환원치를 보정하였다.

결과 및 고찰

1. 길항작용성

생육이 4엽기에 이른 벼와 피를 대상으로 fenoxaprop-P-ethyl 및 bentazon의 단독처리와 혼합처리에 따르는 생체중 변화를 조사하고 fenoxaprop-P-ethyl의 제초활성에 대한 bentazon의 길항작용성을 평가하였다(Table 1). 두 약제의 단독처리에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl은 200~600 μ M의 처리농도에서 86.8~100%의 높은 생육억제율을 나타낸 반면에, bentazon의 경우에는 5~20mM의 처리농도에서 15.6% 이하의 낮은 생육억제를 보였다. 두 약제를 혼합처리하는 경우에는 두 초종에서 모두 bentazon의 혼합처리농도가 증가함에 따라 fenoxaprop-P-ethyl에 의한 생육억제가 뚜렷이 감소되는 경향이 있었다. 그러나 피에서 fenoxaprop-P-ethyl의 처리

농도가 600 μ M인 경우에는 5~15mM의 bentazon 혼합에서도 식물체가 완전 고사되어 길항효과가 나타나지 않았다. 초종 별로는 피에 비하여 벼에서 길항효과가 다소 높게 나타났다.

벼와 피에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl에 의한 생육억제는 매우 지효적으로 약제효과가 처리 20~25일 후부터 뚜렷히 나타나는 경향이였다. 두 초종 모두 근부에 비하여 지상부의 생육억제가 크게 나타났다. 약효증상은 다른 aryloxyphenoxypropionate계 제초제²⁾의 경우와 유사하게 신생엽의 백화현상 및 전체적인 생육 부진에 이은 갈변, 고사현상으로 나타났다(자료제시 생략). 이는 이 계통의 제초제들이 서로 공통된 작용점을 갖기 때문으로 판단되며, Hoppe와 Zacher¹³⁾는 이들 제초제가 화본과 식물에 있어서 엽록체 내의 지방산 생합성 과정을 저해한다고 보고하였다. 마와 전¹⁷⁾은 벼 및 피의 생육 정도에 따라 fenoxaprop-P-ethyl에 의한 감수성은 크게 변화하지 않으며, 근부의 생육억제가 낮은 이유는 근부로의 약제의 이동이 원활하지 않거나 경엽부의 신속한 억제에 의한 광합성 산물의 결핍 등에 의한 이차적인 이유에 기인하기 때문으로 추정하였다. 따라서 벼와 피에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl의 주 작용점은 약제 처리부위인 경엽부에 존재하는 것으로 판단되어 이후 실시한 bentazon 길항작용성의 평가는 검정식물의 경엽부를 대상으로 수행하였다.

Table 1. Shoot fresh weight reduction of rice and barnyardgrass by fenoxaprop-P-ethyl and bentazon mixture applied at 4-leaf stage of the species.

Bentazon (mM)	Fenoxaprop-P-ethyl(μ M)				
	0	200	300	400	600
..... (Rice, %)					
0	0	86.8	88.6	96.3	100
5	0	40.5	66.2	84.1	92.6
10	0	37.2	60.3	61.5	81.2
15	3.8	34.1	52.1	58.6	64.5
20	9.4	32.3	42.8	42.9	43.7
..... (Barnyardgrass, %)					
0	0	89.1	95.7	100	100
5	0	78.5	84.9	93.3	100
10	6.8	62.6	77.1	86.4	100
15	10.3	58.9	58.2	73.6	100
20	15.6	53.2	55.4	57.2	62.6

2. Fenoxaprop-P-ethyl의 흡수 및 이행

Fenoxaprop-P-ethyl의 활성에 대한 bentazon의 길항작용이 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수 및 이행의 저해를 통하여 나타나는지 여부를 조사하기 위하여 4엽기의 벼와 피에서 fenoxaprop-P-ethyl의 단독처리 및 bentazon과의 혼합처리시에 나타나는 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수 및 이행을 조사하였다(Fig. 2). Fenoxaprop-P-ethyl(400 μ M) 단독처리의 경우 두 초종 모두 처리 직후부터 빠른 속도로 약제가 흡수되어 총 흡수량의 90% 이상이 약제처리 6시간 이내에 이루어졌으며, 그 이후에는 매우 완만한 흡수량의 증가

를 보였다. 두 초종 간 흡수속도의 차이는 인정되지 않았으며, 처리 12시간 후에는 각각 처리량의 31~35%가 흡수되었다. 생물검정 실험 (Table 1)에서 400 μ M의 fenoxaprop-P-ethyl에 대하여 뚜렷한 길항효과가 나타난 20mM의 bentazon을 혼합처리한 경우에도 두 초종 모두 단독처리와 유사한 흡수량상을 보여 bentazon 혼합에 의한 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수저해는 인정되지 않았다.

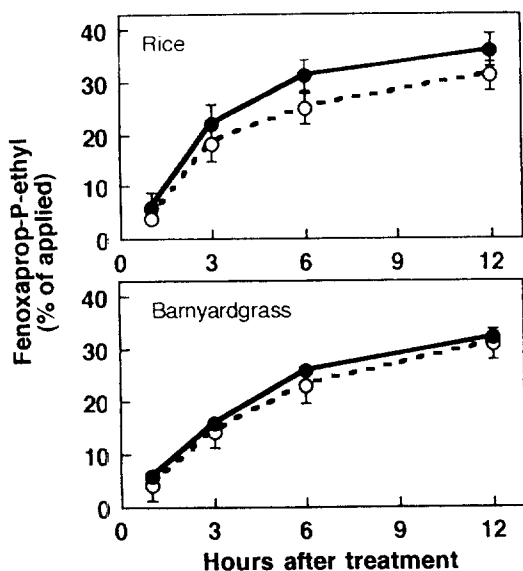


Fig. 2. Absorption of fenoxaprop-P-ethyl by 4-leaf stage of rice and barnyardgrass. Fenoxaprop-P-ethyl, 400 μ M, was treated alone(closed circle on solid line) and with 20mM bentazon(open circle on dotted line) to the third leaf of each species.

약제처리 24시간 후에 처리엽 및 기타 조직을 분할채취하여 식물체 중의 약제 분포를 조사한 결과(Table 2), 벼와 피에서 bentazon 혼합 처리시에 나타난 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수 및 이행은 단제처리와 비교하여 차이가 없었다. 약제의 총 흡수량은 처리량의 28~32% 정도로서, 처리 12시간 후의 결과(Fig. 2)와 큰 차이를 보이지 않아 약제의 흡수는 약제처리 초기에 신속히 이루어지는 것으로 나타났다. 또한 흡수된 약제의 대부분은 처리엽에 남아있었으며, 초종에 따라 흡수량의 약 30%가 24시간 이내에 처리엽의 상, 하위 지상부 조직으로 이행하였다. 근부에서는 초종에 따라 약제가 검출되지 않거나 검출한계 이하로 존재하였는데, 이는 지상부에 비하여 근부의 생육억제가 적게 나타난 생물검정의 결과(Fig. 2)와도 일치하는 경향으로, 근부의 생육 억제에는 근부로의 약제 이행성과 관련이 있는 것으로 판단된다. 또한 bentazon에 의한 길항작용이 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수 및 이행을 저해함으로써 나타나는 것이 아님을 시사하고 있다.

3. Fenoxaprop-P-ethyl의 대사

Bentazon 혼합에 따르는 fenoxaprop-P-ethyl의 대사활성의 변화를 검정하기 위하여 벼와 피의 경엽부에 존재하는 fenoxaprop-P-ethyl 대사산물의 분포를 경시적으로 조사하였다(Fig. 3). 단제처리의 경우, 두 초종 모두에서 ethyl ester 형으로 처리된 약제의 약 65%가 처리 후 12시간 이내에 신속히 acid형으로 전환되었다. 이후

Table 2. Distribution of fenoxaprop-P-ethyl in tissues of 4-leaf stage of rice and barnyardgrass at 24 hours after treatment. Fenoxaprop-P-ethyl, 400 μ M, was treated alone and with bentazon, 20mM, to the third leaf of each species.

Species	Fenoxaprop-P-ethyl treatment	Fenoxaprop-P-ethyl(% of applied)*			
		Treated leaf	Upper tissue	Lower tissue	Root
Rice	alone	21 a	4 a	6 a	nd
	with bentazon	19 a	5 a	4 a	<2
Barnyardgrass	alone	20 a	4 a	6 a	<2
	with bentazon	17 a	6 a	5 a	nd

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by LSD. nd ; not detected.

에 ethyl ester형의 함량에는 큰 변화가 없었으며, 처리 96시간 후까지 흡수량의 약 20%가 ethyl ester형으로 식물체 중에 잔존하였다. 처리 24시간 후부터는 acid형의 함량이 감소하면서 polar conjugate형의 함량이 증가하는 경향을 보였으며, 이는 초기에 신속히 형성된 acid형이 시간이 경과함에 따라 conjugate형의 대사물로

전환되고 있음을 시사하고 있다. 벼와 피에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl의 대사활성에는 차이가 인정되지 않았으며, 처리 96시간 후에는 흡수량의 약 23%, 43% 및 34%가 각각 ethyl ester형, acid형 및 polar conjugate형으로 분포하였다.

또한 400 μ M의 fenoxaprop-ethyl과 15mM의 bentazon을 혼합처리하고 48시간 후에 조사한 결과(Table 3)에서도 단제처리와 유사한 양상으로 대사물의 분포가 나타났으며, 두 초종 모두 혼합처리에 의한 대사활성의 변화는 인정되지 않았다.

일반적으로 alkyl ester형으로 처리되는 aryloxyphenoxypropionate계 제초제에 있어서 ester형은 물론, acid형에서도 높은 제초활성이 발현되며¹³⁾, 식물체 내에 존재하는 acid형의 비율이 상대적으로 높기 때문에 일부 보고에서는 acid형을 이들 제초제의 주 활성형으로 지적한 바 있다³⁾. 본 연구에서 관찰된 fenoxaprop-P-ethyl의 약효증상은 매우 지효적이었으며, 처리된 ethyl ester형의 대부분이 흡수된 후에 신속히 acid형으로 전환되기 때문에 벼와 피에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl의 제초활성은 acid형에 의한 것으로 판단된다. 또한 본 연구에서 동정한 fenoxaprop-conjugate형의 정체는 glycoside 및 glutathione과의 결합형이었고 이는 일반적인 제초제의 불활성형으로 보고되고 있다¹¹⁾. Wink와 Luley²²⁾는 fenoxaprop-P-ethyl이 식물체 내에서 carboxylesterase 등에 의하여 acid형으로 신속히 전환되며, 이어서 가수분해 및 conjugation 반응과 같은 대사과정을 통하여 불활성화

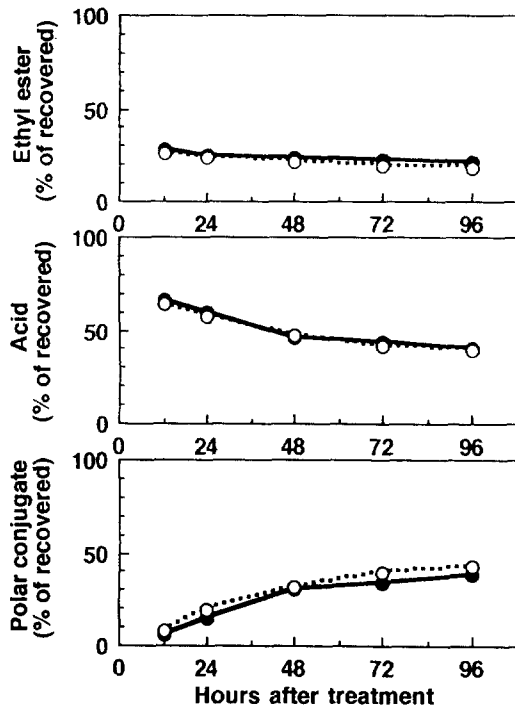


Fig. 3. Distribution of metabolites of fenoxaprop-P-ethyl in shoot of 4-leaf stage of rice(closed circle on solid line) and barnyardgrass(open circle on dotted line). Fenoxaprop-P-ethyl, 400 μ M, was treated to the third leaf of each species.

Table 3. Distribution of metabolites of fenoxaprop-P-ethyl in shoot of 4-leaf stage of rice and barnyardgrass at 48 hours after treatment. Fenoxaprop-P-ethyl, 400 μ M, was treated alone and with bentazon, 20mM, to the third leaf of each species.

Species	Fenoxaprop-P-ethyl treatment	Metabolites(% of recovered)*		
		Ethyl ester	Acid	Polar conjugates
Rice	alone	21 a	44 a	35 a
	with bentazon	23 a	41 a	36 a
Barnyardgrass	alone	20 a	40 a	38 a
	with bentazon	19 a	42 a	39 a

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by LSD.

Table 4. Effect of fenoxaprop-P-ethyl applied with and without bentazon on acetyl-CoA carboxylase activity in vitro assayed with crude extracts prepared from leaves of 4-leaf stage of rice and barnyardgrass.

Species	Specific activity (nmol/min.mg)	150(μ M)		
		Fenoxaprop-P-ethyl		Bentazon
		alone	with bentazon	
Rice	25.5 \pm 1.9	6.5 \pm 1.3	9.2 \pm 1.8	> 500
Barnyardgrass	23.2 \pm 2.1	7.4 \pm 1.6	9.4 \pm 1.9	> 500

All values are mean \pm standard error of five replications of two experiments.

된다고 보고하였다. 이러한 conjugation 대사물의 생성은 효소적 또는 비효소적 반응에 의하여 나타나는데, 효소적 반응의 경우에는 UDP-glucosyl transferase 또는 glutathione S-transferase가 촉매하는 것으로 보고되고 있다^{5,11)}. 이 경우에 효소의 활성화와 반응기질인 glucose 및 glutathione의 함량은 특정 초종의 fenoxaprop-P-ethyl에 대한 대사능력을 결정하는데 있어서 중요한 기준이 될 수 있다¹⁵⁾.

4. Fenoxaprop-P-ethyl 작용점의 활성화

Bentazon 혼합처리에 의한 fenoxaprop-P-ethyl 작용점의 감수성 변화를 4엽기의 벼와 피에서 추출한 조효소액을 대상으로 in vitro ACCase 활성화 변화로 조사하였다(Table 4). 조효소액에 존재하는 ACCase의 활성화는 벼와 피에서 각각 26.5 및 23.2nmol/min/mg protein로서 두 초종간에 매우 유사한 활성을 보였다. 효소활성의 50% 저해농도(I_{50})는 fenoxaprop-P-ethyl의 경우에 벼 6.5, 피 7.4 μ M로 나타났다. Fenoxaprop-P-ethyl과 bentazon을 모두 포함하고 있는 반응액 조건에서도 I_{50} 값은 fenoxaprop-P-ethyl 단독 처리 조건과 유의성이 인정되지 않았다. 그러나 bentazon의 경우에는 활성억제가 거의 나타나지 않았으며, 본 실험에서 사용한 500 μ M 이내의 농도범위에서는 I_{50} 치가 검정되지 않았다. 따라서 bentazon은 fenoxaprop-P-ethyl의 주 작용점인 ACCase의 활성화에 대하여 거의 영향을 미치지 않으며, 이 효소에 대한 fenoxaprop-P-ethyl의 억제활성에도 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

그러나 검정식물에 bentazon을 미리 처리하고 경엽부를 채취하여 추출한 조효소액에 있

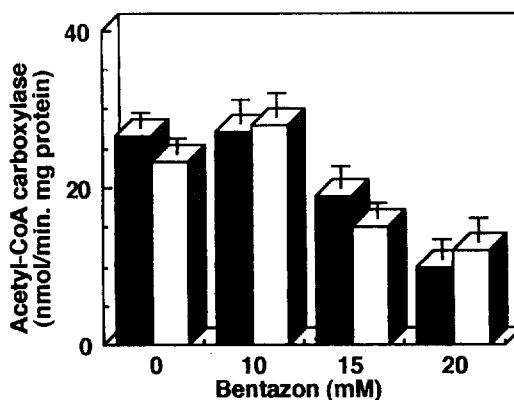


Fig. 4. Effect of bentazon on acetyl-CoA carboxylase activity in vivo assayed with crude extracts prepared from bentazon-treated leaves of rice(closed bar) and barnyardgrass(open bar).

어서 ACCase의 활성화는 bentazon 농도 증가에 따라 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 이는 bentazon이 ACCase 활성화변화에 영향을 주지 않는다는 in vitro 실험(Table 4)과는 상반되는 결과이다. 따라서 이러한 결과는 ACCase가 엽록체 stroma에 주로 분포하는 효소라는 점을 감안할 때⁷⁾, bentazon에 의하여 엽록체 전반에 걸쳐 나타나는 생리적 변화^{17,19)}에 의하여 나타난 간접적인 현상으로 판단된다.

이상의 결과로부터 bentazon이 fenoxaprop-P-ethyl의 작용점인 ACCase의 활성화에 직접 관여함으로써 길항작용성을 나타내는 것이 아니라 bentazon에 의하여 나타나는 엽록체내의 생리적 변화^{17,19)}, 즉 ACCase의 감소와 같은 간접적인 경로를 통하여 fenoxaprop-P-ethyl의 활성약화를 유발하는 것으로 추정된다. 그러나 이러한 가정이 성립되기 위해서는 동시처리된 두

약제 중에서 bentazon의 엽록체로의 이동이 fenoxaprop-P-ethyl 보다 선행되어야 하며, 이행된 bentazon의 농도는 식물체의 정상생육은 저해하지 않고 엽록체의 생리적 변화만을 유발하는 수준이어야 한다. 또한 이러한 경우에 길항효과의 정도는 bentazon의 혼합농도에 따라 다르게 나타날 수 있다. 생물검정 결과(Table 1)에서 bentazon의 농도가 15~20mM로 증가함에 따라 길항작용성은 증대되었으며, 이는 bentazon 처리에 의한 in vivo ACCase 활성의 감소(Fig. 4)와 일치하는 경향이였다. 따라서 bentazon에 의한 엽록체의 교란은 ACCase의 활성 변화와 관련이 있으며, 이로부터 fenoxaprop-ethyl의 작용점의 감소가 나타나고 있음을 시사하고 있다. 이후의 연구에서는 식물조직간 경엽부의 엽육세포내에서의 두 약제간 이행성 차이와 더불어 엽록체에서의 ACCase 활성변화에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Bentazon 처리에 의한 엽록체 수준에서의 생리적 변화와 ACCase 활성변화의 연관성을 조사하기 위하여 엽록체 thylakoid를 포함한 배양액에서 약제처리에 의한 DPIP의 환원 정도에 따라 전자전달 억제양상을 비교하였다(Fig. 5). 100~600 μ M 수준의 fenoxaprop-P-ethyl이 처리된 벼와 피의 thylakoid 추출물에서 전자전달 활성은 억제되지 않았다. 그러나 bentazon을 처리한 조건에서는 뚜렷한 전자전달의 억제가 나타났으며, 15~20mM의 처리농도에서 약 50%의 억제를 보였다.

Redina와 Felts²⁰⁾는 보리, 밀 및 옥수수과 같은 화분과 식물에서 추출한 ACCase에 대하여 bentazon의 50% 활성저해 농도를 >800 μ M로 보고하고 bentazon에 의한 효소활성 저해는 매우 낮은 것으로 지적하였다. 본 실험에서 채택한 5~20mM의 bentazon 처리농도는 in vitro 실험에서 사용한 1~500 μ M의 농도범위에 비하여 매우 높은 수준이지만, 경엽부에 처리된 약제의 흡수, 이행 및 대사 등을 감안하면 추출된 조효소액에 처리된 약제의 농도와 큰 차이가 없을 것으로 생각된다.

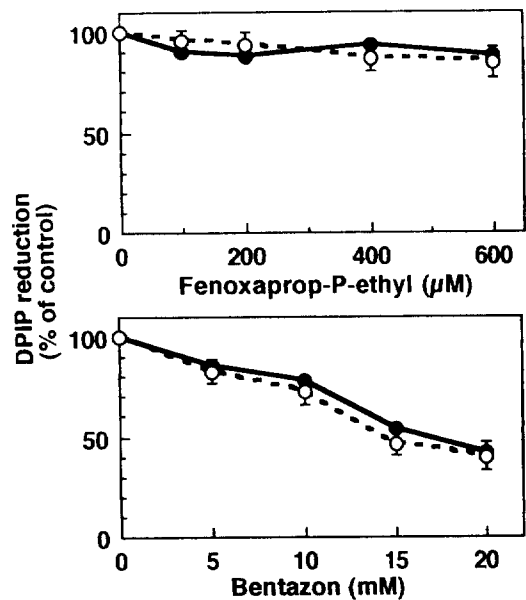


Fig. 5. Effects of fenoxaprop-P-ethyl and bentazon on DPIP reduction in thylakoids isolated from 4-leaf stage of rice(closed circle on solid line) and barnyardgrass(open circle on dotted line).

Thylakoid 전자전달억제를 유발하는 bentazon의 농도는 15~20mM 수준(Fig. 5)으로 bentazon에 의한 in vivo ACCase 활성억제(Fig. 4) 및 bentazon의 길항작용성이 증대되는 농도 수준(Table 1)과 일치하였다. 이는 엽록체 stroma에 주로 분포하는 효소인 ACCase의 in vitro 활성이 bentazon에 의하여 거의 억제되지 않은 것(Table 4)과는 상반되게 나타난 in vivo ACCase 활성 저하(Fig. 4)가 엽록체 수준에서의 전반적인 억제¹⁾에 의한 이차적인 현상임을 시사하는 결과이다. 따라서 fenoxaprop-ethyl의 제초활성에 대한 bentazon의 길항성은 bentazon이 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수, 이행(Table 2), 대사(Table 3) 및 작용점의 감수성(Table 4)에 직접적으로 관여하여 나타나는 것이 아니라, 엽록체의 변형 및 고유대사 저해(Fig. 5)와 같은 포괄적인 억제를 통하여 fenoxaprop-P-ethyl의 작용점인 ACCase의 감소(Fig. 4) 등을 야기함으로써 fenoxaprop-P-ethyl의 제초활성을 방해하는 것으로 판단된다.

적 요

Fenoxaprop-P-ethyl에 대한 bentazon의 길항작용기작을 검정하기 위하여 4엽기의 벼와 피를 대상으로 bentazon 혼합처리에서 나타나는 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수, 이행, 대사 및 작용점의 활성 변화를 조사하였다. Fenoxaprop-P-ethyl에 대하여 벼와 피의 지상부에서 생육억제가 크게 나타났다. Fenoxaprop-P-ethyl 단독처리에 있어서 두 초종 모두에서 처리 직후부터 빠른 속도로 약제가 흡수되어, 총 흡수량의 90% 이상이 약제처리 6시간 이내에 이루어졌으며, 처리 24시간까지 흡수량의 약 30%가 처리엽의 상, 하위조직으로 이행되었다. Ethyl ester형으로 처리된 약제는 신속히 acid형으로 전환되었으며, 처리 24시간 후부터는 acid형이 conjugate형의 대사물로 전환되었다. 그러나 bentazon에 의한 fenoxaprop-P-ethyl의 흡수, 이행 및 대사활성의 변화는 인정되지 않았다. In vitro ACCase의 활성은 벼와 피에서 각각 26.5 및 23.2nmol/min/mg protein으로 나타났다. 이 효소 활성의 50% 저해농도에 있어서 fenoxaprop-P-ethyl 단독처리와 bentazon 혼합처리 사이에 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 bentazon 처리에 의하여 in vivo ACCase 활성의 감소와 엽록체 thylakoid에서 전자전달의 억제가 나타났다. 따라서 fenoxaprop-P-ethyl에 대한 bentazon의 길항작용기작은 bentazon이 fenoxaprop-P-ethyl 작용점의 활성화에 직접적으로 관여하는 것이 아니라, 엽록체 구조 및 활성 저해에 의한 fenoxaprop-P-ethyl의 작용점 감소를 통하여 간접적으로 fenoxaprop-P-ethyl의 활성을 억제하는 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Bartel, P.G. 1985. Effects of herbicides on chloroplasts and cellular development. In : Weed physiology, II. Herbicide physiology (S.O. Duke, ed). pp.63-90. CRC Press, Boca

- Raton, FL, USA.
2. Brezeanu, A.G., D.G. Davies, and R.H. Shimabukuro. 1976. Ultrastructural effects and translocation of methyl 2-(4-(2,4-dichlorophenoxy) phenoxypropionate in wheat(*Triticum aestivum*) and wild oat(*Avena fatua*). Can. J. Bot. 54 : 2038-2048.
3. Buhler, D.D., B.A. Swisher, and O.C. Burnside. 1985. Behavior of ^{14}C -haloxyfop-methyl in intact plants and cell cultures. Weed Sci. 33 : 291-299.
4. Burton, J.D., J.W. Gronwald, D.m A. Somers, B.G. Gengenbach, and D.L. Wyse. 1989. Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides. Pestic. Biochem. Physiol. 34 : 76-85.
5. 전재철 · 마상용. 1994. 제초제 약해경감물질 탐색과 작용기구 규명. I. Metolachlor 흡수 및 대사에 대한 N-(4-chlorophenyl)maleimide의 효과. 한국환경농학회지. 13(3) : 271-278.
6. Darr, S., V. Souza-Machado, and C.J. Arntzen. 1981. Uniparental inheritance of a chloroplast photosystem II. polypeptide controlling herbicide binding. Biochem. Biophys. Acta. 634 : 219-222.
7. Evenson, K.J., J.W. Gronwald and D.L. Wyse. 1994. Purification and characterization of acetyl-CoA carboxylase from diclofop-resistant and -susceptible *Lolium multiflorum*. Plant Physiol. 105 : 671-680.
8. Gorbach, S.G., K. Kuenzler, and J. Asshauer. 1977. On the metabolism of Hoe 23408 OH in wheat. J. Agric. Food Chem. 25(3) : 507-511.
9. Gronwald J.W. 1991. Lipid biosynthesis inhibitors. Weed Sci. 39 : 435-449.
10. Harwood, J.L. 1991. Herbicides affecting chloroplast lipid synthesis. In : herbicides(N.R. Baker and M.P. Percival, eds.) pp.210-246.

11. Hatzios, K.K. and D. Penner. 1982. Metabolism of herbicides in higher plants - conjugation with sugars. pp.43-58. Burgess Publ. Co. MPLS. MN.
12. Hendly, P., J.W. Dicks, T.J. Monaco, S.M. Slyfield, O.J. Tummon, and J.C. Barrett. 1985. Translocation and metabolism of pyridinyloxyphenoxypionate herbicides in rhizomatous quackgrass(*Agropyron repens*). Weed Sci. 33 : 11-24.
13. Hoppe, H.H. and H. Zacher. 1985. Inhibition of fatty acid biosynthesis in isolated bean and maize chloroplasts by herbicidal phenoxyphe-noxypropionic acid derivatives and structurally related compounds. Pestic. Biochem. Physiol. 24 : 298-305.
14. Jordan, D.L. 1995. Interactions of fenoxaprop-ethyl with bensulfuron and bentazon in dry-seeded rice(*Oryza sativa*). Weed Technol. 9 : 724-727.
15. 마상용 · 김중석 · 전재철. 1997. 울무(*Coix lacryma-jobi*)의 제초제 simazine에 대한 내성기구. 한국환경농학회지. 16(1) : 37-43.
16. 마상용 · 전재철. 1997. Fenoxaprop-ethyl의 초종별 제초활성 변이를 유발하는 생리적 요인. 한국농약학회지. 1(1) : 52-60.
17. Meier, D. and H.K. Lichtenthaler. 1981. Ultrastructural development of chloroplasts in radish seedlings grown at high and low light conditions and in presence of herbicide bentazon. Protoplasma. 107 : 195-198.
18. Norman, M.A., E.P. Fuerst, R.J. Smeda, and K.C. Vaughn. 1993. Evaluation of paraquat resistance mechanisms in Conyza. Pestic. Biochem. Physiol. 46 : 236-249.
19. Potter, J.R. and W.P. Wergin. 1975. Role of light of bentazon toxicity to cucumber : physiology and ultrastructure. Pestic. Biochem. Physiol. 5 : 458-463.
20. Rendina, A.R. and J.M. Felts. 1988. Cyclohexanedione herbicides are selective and potent inhibitors of Acetyl-CoA carboxylase from grasses. Plant Physiol. 86 : 983-986.
21. Wink. O., E. Dorn and K. Beyermann. 1984. Metabolism of the herbicide Hoe 33171 in soybeans. J. Agric. Food Chem. 32 : 187-192.
22. Wink. O. and U. Luley. 1988. Enantioselective transformation of the herbicides diclofop-methyl and fenoxaprop-ethyl in soil. Pestic. Sci. 22 : 31-40.