

Sulfonylurea계 제초제 저항성 올챙이고랭이(*Scirpus juncoides* Roxb.)의 제초제 반응과 방제

박태선* · 강동균¹ · 김길웅¹

농업과학기술원 농업생물부, ¹경북대학교 농업생명과학대학

요약 : 본 연구는 7년 동안 연속적으로 sulfonylurea(SU)계 제초제를 사용한 남부지역의 논에서 발생한 들에 대한 저항성 잡초 올챙이고랭이의 제초제 반응과 방제법을 구명하기 위하여 실시하였다. 온실 조건에서 SU 계 제초제에 대한 저항성 및 감수성 생태형을 파종 후 10일에 azimsulfuron, bensulfuron, imazosulfuron 그리고 pyrazosulfuron을 처리하였을 때 감수성 생태형은 각 제초제의 추천량에서 완전히 방제 되었으나 저항성 생태형은 추천량의 10배량에서도 20~30% 생존되었다. 생체중 50%를 억제하는 각 제초제의 농도(GR₅₀)는 두 생태형 간에 현저한 차이가 있었으며, 조사된 4종류의 각 SU계 제초제들에 대한 GR₅₀는 감수성 생태형에 비해 53~88배 높게 나타났다. 또한 SU계 제초제 저항성 및 감수성 생태형의 올챙이고랭이로 부터 추출한 acetolactate synthase(ALS)에 대한 bensulfuron-methyl과 pyrazosulfuron-ethyl의 50% 억제 저항성 생태형이 감수성 생태형보다 각각 498 및 126배 높게 나타났다. SU계 제초제 저항성 올챙이고랭이는 조기진단법에 의하여 적어도 3일 이내에 저항성 진단이 가능하였다. 올챙이고랭이 1.5~2.5엽기에서는 조사된 대부분의 비SU계 제초제들이 효과적이었으나 3.5엽기에서는 carfentrazone-ethyl, pyrazolate, simetryne가 매우 효과적이었다. 그리고 azimsulfuron+carfentrazone-ethyl+pyraminobac 입제와 pyraminobac+pyrazosulfuron+carfentrazone 입제는 벼에 약해 없이 SU계 저항성 올챙이고랭이에 매우 효과적이었다. SU계 혼합 제초제를 처리 후 생존한 저항성 올챙이고랭이는 경엽처리제인 bentazone에 의해서 효과적으로 방제되었다. (2005년 4월 20일 접수, 2005년 9월 20일 수리)

색인어 : 방제, 조기진단법, 올챙이고랭이, 저항성 잡초, Sulfonylurea.

서 론

제초제 저항성 잡초란 제초제를 잡초 군락 내에 정상적으로 살포하였으나 기존에 효과적으로 방제되었던 잡초가 생존하여 종자를 맺음으로서 후대까지도 이러한 능력이 유전되는 것을 의미 한다(Smith *et al.*, 1990). 이러한 제초제 저항성 잡초들은 2005년 현재까지 전 세계적으로 173초종, 287 계통이 약 270,000 필지에서 발생되었다고 보고되었다(Heap 2005). 2005년 현재까지 보고된 78초종의 ALS 저해제들에 대한 저항성 초종 중에서 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초들이 72 초종이나 포함되어 대부분이 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초들로 밝혀졌다(Heap, 2005). 이를 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초들은 주로 미국과 유럽 지역의 밀 및 콩밭에서 주로 연용되고 있는 chlorsulfuron에 대한 저항성 잡초들이 보고되었다(Adkins *et al.*, 1997; Sarri *et al.*, 1984). 그러나 최근에

는 논에서 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초와 발생면적이 급증하고 있는 실정인데, 특히 한국과 일본이 가장 빠른 속도로 확산되고 있다. 한국과 제초제 사용 경향이 비슷한 일본은 이미 1995년에 SU계 제초제들에 대한 저항성 물옥잠(*Monochoria korsakowii*)이 논에서 처음 보고되어진 이후 현재까지 총 11 초종이 발생하여 확산되고 있다(Itoh *et al.*, 1994; Itoh *et al.*, 1999; 박B 등, 2001). 우리나라 역시 1999년에 충남 서산 간척지 답에서 SU계 제초제들에 대한 저항성 물옥잠이 처음 보고되어진 이후 현재까지 물옥잠(*Monochoria korsakowii*)부터 새섬매자기(*Scirpus planiculmis*)까지 총 7 초종이 보고되었다(Park *et al.*, 2004). SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초 초종과 발생 면적이 한국과 일본에서 매우 빠른 속도로 확산되고 있는 것은 약효 지속성이 길고 선택성이 탁월한 bensulfuron과 pyrazosulfuron과 같은 SU계 제초제들이 molinate나 mefenacet과 같은 화분과 전용 제초제들과 혼용된 제초제들이 농가에서 매우 광범위하게 사용되

*연락처자

어 지고 있기 때문이다(Itoh *et al.*, 1999; 박A 등, 2001). 특히 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초 초종 중에서 한국에서는 물달개비와 알방동사나(*Cyperus difformis* L.) 가장 광범위하게 확산되고 있는 반면 일본에서는 올챙이고랭이와 물달개비가 가장 광범위하게 확산되고 있다(권 등, 2001; 박 등, 1999; Koarai, 2000; Kohara *et al.*, 1999). 그러나 최근에 우리나라로 전남 및 전북지역에서 SU계 제초제들에 대한 저항성 올챙이고랭이가 확산되고 있다(임 등, 2003).

따라서 본 연구는 국내에서 SU계 제초제들에 저항성 잡초로 확인된 올챙이고랭이에 대한 SU계 및 비SU계 제초제들에 대한 반응에 의한 저항성 정도와 방제방법을 구명하고 실시하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 실험은 경기도 수원시 농업과학기술원에서 25±5°C의 유리 온실에서 실시하였다. 실험에 사용된 올챙이고랭이의 저항성 생태형은 SU계 제초제를 7년간 연용하여 방제가 되지 않고 우점된 전북 김제시 어린 모기계이양논에서 2001년 10월에 채종 후 2°C의 저온 습윤 조건에서 3개월 이상 저장하였다. 감수성 생태형 종자는 제초제 접촉 가능성이 전혀 없었을 것으로 생각되는 경남 창녕 우포늪에서 생존된 식물체에서 채종하여 사용하였다. 채집된 저항성 생태형 종자는 식물생육상(Conviron's E-15)에 파종 후 15일에 pyrazosulfuron-ethyl+molinate 입제를 2배량으로 처리한 다음 생존된 식물체에서 다시 채종된 종자를 이용하였다.

SU계 제초제에 대한 저항성 및 감수성 올챙이고랭이 반응

반응 조사

플라스틱 사각 pot(20×20×15cm)에 유기물 함량 2.7%, pH 5.7의 식양토를 채우고 풋트에 약 0.2 mm 정

도로 균일하게 빌아된 저항성 및 감수성 생태형의 종자를 30개씩 파종 하였다. 파종 후 5일에 생육 상태가 불균일한 식물체를 제거하여 최종적으로 풋트 당 25개체를 키웠으며, 이식 후 수심 3cm로 유지하였다.

이 실험에서 사용된 SU계 제초제들은 표 1과 같이 국내 논에서 널리 사용 중인 azimsulfuron, bensulfuron-methyl, imazosulfuron 및 pyrazosulfuron-ethyl 입제를 올챙이고랭이 2~3엽기(파종 후 15일)에 처리하였다. 처리 약량은 표 1과 같이 약종별 국내 논에서 사용 중인 표준량 대비 1/20, 1/10, 1/5, 1/2, 1, 2, 5, 10 배량을 입제로 처리하여 3반복으로 완전임의 배치하였다. 올챙이고랭이 생태형별 생존율 및 생체중은 처리 후 20일에 조사하였으며, 생체중 50%를 억제하는 제초제 농도인 GR₅₀값은 Probit 분석법 (Finney, 1971)에 의하여 계산하였다.

ALS 활성반응

올챙이고랭이 생태형간 ALS 활성반응을 구명하기 위해 국내 논에서 가장 광범위하게 사용 중인 bensulfuron과 pyrazosulfuron을 처리한 저항성 올챙이고랭이를 평균온도가 28°C이고 일장과 광조건이 각각 12시간과 40,000 Lux인 식물생육상인(Conviron's E-15) 내에서 파종 후 30일된 올챙이고랭이 지상부를 수확한 후 즉시 액체질소에 동결하여 사용하였다. 액체질소에 동결된 올챙이고랭이 50 g을 1 mM sodium pyruvate, 0.5 mM thiamine pyrophosphate(TPP), 10 μM flavine adenine dinucleotide(FAD), 0.5 mM MgCl₂와 10% glycerol이 용해된 0.1M K₂HPO₄(pH 7.5)의 완충 용액 150 ml에 넣고 homogenizer(SMT-PA)로 마쇄한 다음 8겹의 cheesecloth로 여과한 액을 27,000 g에서 20분 동안 원심분리하여 상등액을 이용하였다. Ammonium sulfate(25~50%)로 상등액을 포화시킨 후 17,000g에서 30분간 원심분리 후 pellet을 20 mM pyruvate와 0.5 mM MgCl₂가 용해된 0.1 M K₂HPO₄ 완충액으로 용해시킨 다음 동일한 완충용액으로 채워진 Sephadex G-25(Pharmacia PD-10) 컬럼으로 부터 desalt

Table 1. Dosage of sulfonylurea herbicides used in this experiment

Herbicide	Dosage(g a. i. ha ⁻¹)							
Azimsulfuron GR ^{a)}	0.75	1.5	3	7.5	15	30	75	150
Bensulfuron GR	2.55	5.1	10.2	25.5	51	102	225	510
Imazosulfuron GR	3.75	7.5	15	37.5	75	150	375	750
Pyrazosulfuron GR	1.05	2.1	4.2	10.5	21	42	105	210

^{a)}GR : Granule.

된 효소를 즉시 효소반응 시험에 사용하였다. 이러한 모든 과정은 2°C 조건의 냉장실에서 실시하였다.

효소반응은 효소 추출물 0.2 mL를 20 mM sodium pyruvate, 0.5 mM TPP, 0.5 mM MgCl₂가 용해된 20 mM K₂HPO₄ 원증용액(pH7.0) 1 mL와 bensulfuron과 pyrazosulfuron의 여러 가지 농도 0.1 mL를 첨가하면서 시작하였고, 50% H₂SO₄ 100 μL를 넣어 반응을 종료시켰다. 제초제 원체는 acetone에 용해시킨 후 반응액의 최종 농도가 각각 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 μM 되도록 처리하였다.

효소활성은 변형된 Westerfield(1945)의 방법에 따라 생성된 acetooin의 양을 측정하였는데, 반응을 종료시킨 용액을 40°C의 항온수조에서 20분간 decarboxylation시킨 다음 0.5%(w/v) creatine과 10% NaOH에 녹인 5%(w/v)의 α-naphthol 각각 1 mL를 넣고 실온에서 1시간 동안 발색시킨 후 비색기(UNICAM UV/VIS)로 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 같은 방법에 의한 acetooin에 대한 표준곡선을 이용하였으며, 단위 시간 당 생성되는 단백질에 대한 acetooin 양으로 표시하였다. 단백질 양은 Bradford(1976) 방법으로 결정하였으며, ALS 활성 50%를 억제하는 제초제 농도인 I₅₀은 Ray법(1984)에 의하여 계산하였다.

SU계 제초제 저항성 올챙이고랭이 방제법

저항성 조기진단법에 의한 저항성 검증

25±5°C인 유리 온실 내에서 유기물 함량 2.7%, pH 5.7의 식양토가 채워진 플라스틱 사각 pot(6×10×10cm)에 균일하게 빌아된 저항성 및 감수성 생태형의 올챙이고랭이 종자를 pot당 30개씩 파종한 다음 제초제 처리 직전에 생육이 균일한 25주를 선택하여 진단 시료로 사용하였다. 저항성 잡초 조기진단 방법은 농촌

진흥청에서 개발된 방법을 사용하였다. 즉 그림 1에서와 같이 토양에서 발생된 잡초를 지면 위에서 가위로 절단 후 즉시 제초제를 처리한 다음 재생 여부에 따라서 저항성을 판단하는 방법이다. 절단 및 약제처리는 pot당 생육이 균일한 4~5엽기의 식물체를 지면 위 약 0.5cm에서 절단 직후 bensulfuron 표준량(51 g a.i. ha⁻¹)을 처리하였다. 그리고 제초제 농도별 저항성 진단 가능 시기를 구명하기 위하여 bensulfuron-methyl을 표준량을 처리한 다음 처리 후 1, 3, 5, 7, 9, 11일에 생태형별 생존율을 조사하였으며, 약제처리 후 5일에 처리약량별 생태형간 초장변화를 보기 위하여 1/50, 1/25, 1/10, 1, 10배 량으로 3반복으로 처리하였다.

화학적 방제법 구명

25±5°C인 온실 내에서 올챙이고랭이 저항성 생태형 종자를 0.2 mm 정도로 균일하게 빌아시킨 다음 플라스틱 사각 pot(20×20×15 cm)에 pot당 25개체씩 파종하였다. 시험한 토양은 유기물 함량 2.7%, pH 5.7의 식양토였고, 파종 후 수심은 3 cm 깊이로 유지하였다. 이 실험에서 사용된 제초제들은 국내 논에서 SU계 제초제들과 혼합제로 널리 사용 중인 8종의 비SU계 제초제를 대상으로 조사하였다. 이들 비SU계 제초제 처리 시기는 식물체 1.5, 2.5, 3.5 엽기에 각각 국내에서 추천 량으로 처리하여 방제효과 조사는 약제 처리 후 20일에 생존율로 하였다. 또한 담수직파 논에서 SU계 제초제에 대한 저항성 잡초 발생 예방 및 발생된 저항성 잡초를 효과적으로 방제하기 위하여 저항성 올챙이고랭이에 효과적인 비SU계 제초제인 carfentrazone, pyrazolate, simetryne가 혼용된 제초제일뿐만 아니라 농가에 제초제 저항성 전문약제로 사용

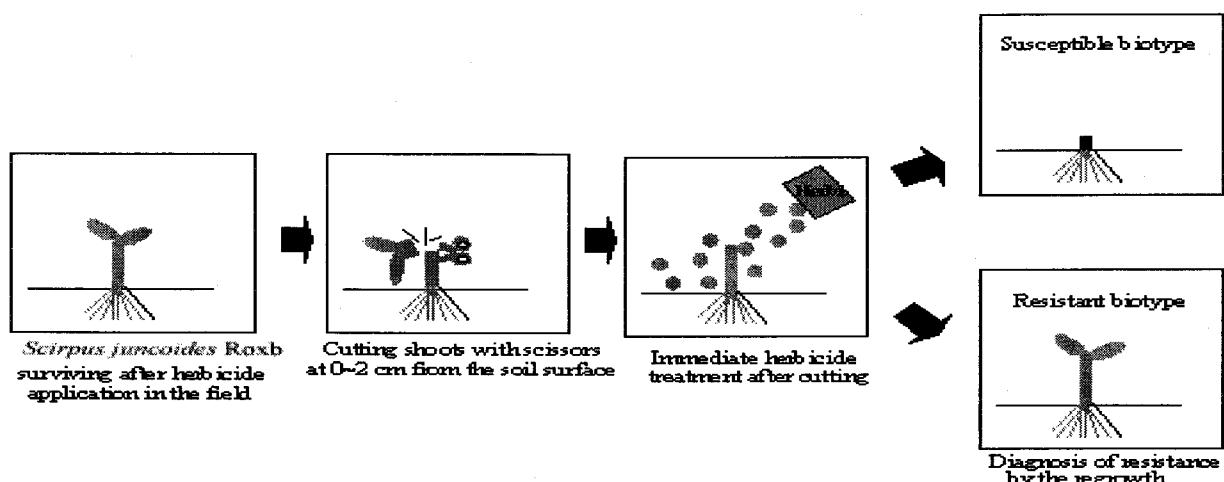


Fig. 1. Procedure for rapid diagnosis of sulfonylurea-resistant *Scirpus juncoides* Roxb.

중인 pyrazosulfuron + pyrazolate + simetryne 입제와 azimsulfuron + carfentrazone + pyraminobac 입제, pyraminobac + pyrazosulfuron + carfentrazone 입제를 파종 후 10, 20, 30일에 처리하여 약제 처리 후 10일과 20일에 각각 약해와 약효를 조사하였다. 또한 당해연도에 SU계 혼합제를 살포 후 방제되지 않고 우점하고 있는 저항성 올챙이고랭이를 방제하기 위하여 경엽 처리제인 bentazone 액제 200, 400, 800, 1,600 g a.i. ha⁻¹를 올챙이고랭이 생육 시기별로 처리하였다. 약해 및 약효는 제초제 처리 후 10일과 20일에 조사하였으며 약효는 무처리 대비 생체 중으로 계산하였다.

결과 및 고찰

SU계 제초제에 대한 저항성 및 감수성 올챙이고랭이 반응

표 2에서와 같이 제초제 저항성 올챙이고랭이가 발생된 전북 김제시 어린모기계이양 논은 7년간 연속적으로 SU계 혼합된 제초제들의 사용으로 발생되었다. 1995년부터 bensulfuron+quinclorac 입제가 사용되어진 후 현재까지는 pyrazosulfuron+molinate 입제가 사용되어지고 있다. 2000년까지는 올챙이고랭이가 효과적으로 방제되었으나 SU계 혼용 제초제 연용 7년차인 2001년도부터 비효과적으로 나타나 이때부터 저항성화된 올챙이고랭이가 우점된 것으로 생각된다. 이들 포장에서 사용되어진 제초제들은 모두 SU계와 화본과 전용 제초제들이 혼용된 약제들이기 때문에 사초과 잡초인 올챙이고랭이가 SU계 제초제의 높은 선택압 때문에 저항성화된 것으로 추정된다. 우리나라에서 최초로 확인된 물옥잠은 9년간 연용 되어진 간척지 논에서 저항성화된 것으로 확인되었으며 국내에서 확인된 다른 SU계 제초제들도 7~9년 연용 하였을 때 저항성화된 것으로 보고되었다(박 등, 2001). 그러나 2004년에 다년생 잡초 중 가장 먼저 국내 간척지 논에서 SU계 제초제 저항성 잡초로 확인된 새섬매자기(*Scirpus planiculm*)는 13년 연용 하였을 때부터 저항

성화 된 것으로 확인되었다(Park, 2004). 주요 제초제를 계통별로 연용할 경우 잡초가 저항성으로 변하는 평균 연용 기간은 SU계 제초제가 가장 짧게 나타났다(Lebaron et al., 1992; Lovell et al., 1996). 따라서 SU계 제초제들에 대한 잡초의 초종별 저항성화 시기는 초종 및 사용되어진 제초제에 따라서 서로 달리 나타날 수가 있다고 생각되어 진다.

위와 같이 SU계 제초제 연용 논에서 우점된 올챙이고랭이 대비 저항성 정도를 검증하기 위하여 국내 논에서 광범위하게 사용 중인 azimsulfuron 등 4 종류의 SU계 제초제들에 대하여 생태형간 생존율을 조사한 결과 그림 3과 같이 나타났다. 올챙이고랭이 생태형간 생존율은 현저한 차이가 있었고, 이러한 생태형간 생존율 차이는 제초제들에 따라 서로 다소 다르게 나타났다. 감수성 생태형은 사용된 모든 제초제들의 표준량 대비 1/20배량에서부터 급격하게 감소하기 시작하여 기준량에서는 완전히 고사하였다. 특히 bensulfuron, pyrazosulfuron은 표준량의 1/2배량에서도 완전히 고사되었다.

그러나 저항성 생태형은 처리된 모든 제초제들의 표준량에서 80% 이상 생존되었을 뿐만 아니라 5배량에서는 30~40% 생존하였고, 10배량에서 조차도 약 20~30%까지 생존하였다. 그리고 감수성 생태형 대비 저항성 정도를 생체중 50% 억제 농도(GR₅₀)로 비교하여 본 결과는 표 3과 같다. 처리된 모든 제초제들에 대한 생체 중 역시 생태형 간에 매우 현저한 차이를 보였고, 이러한 생태형간 생체 중 반응 차이는 제초제에 따라서 서로 다르게 나타났다. 감수성 생태형의 GR₅₀는 pyrazosulfuron이 가장 낮게 났으며, imazosulfuron이 가장 높게 나타났다. 조사된 제초제에 대한 저항성 생태형의 GR₅₀는 감수성에 비해 53~88 배나 높게 나타났다. 그러므로 SU계 제초제들의 연용으로 저항성화된 올챙이고랭이는 실질적으로 논에 사용되어진 bensulfuron과 pyrazosulfuron 외 다른 SU계 제초제들에 대하여서도 저항성을 갖는 교차저항성이 확인되었다.

Table 2. History of herbicides used and efficacy on at the reclaimed rice fields where the resistant *Scirpus juncoides* Roxb. biotype was observed

Years	Herbicides	Efficacy(resistance)
~ 1992	Nonsulfonylurea herbicides	Effective(not emerged)
1995 ~1998	0.17% Bensulfuron/5% molinate GR	Effective(not emerged)
1999~2000	0.07% Pyrazosulfuron/5% molinate GR	Effective(not emerged)
2001 ~	0.07% Pyrazosulfuron/5% molinate GR	No effect(emerged)

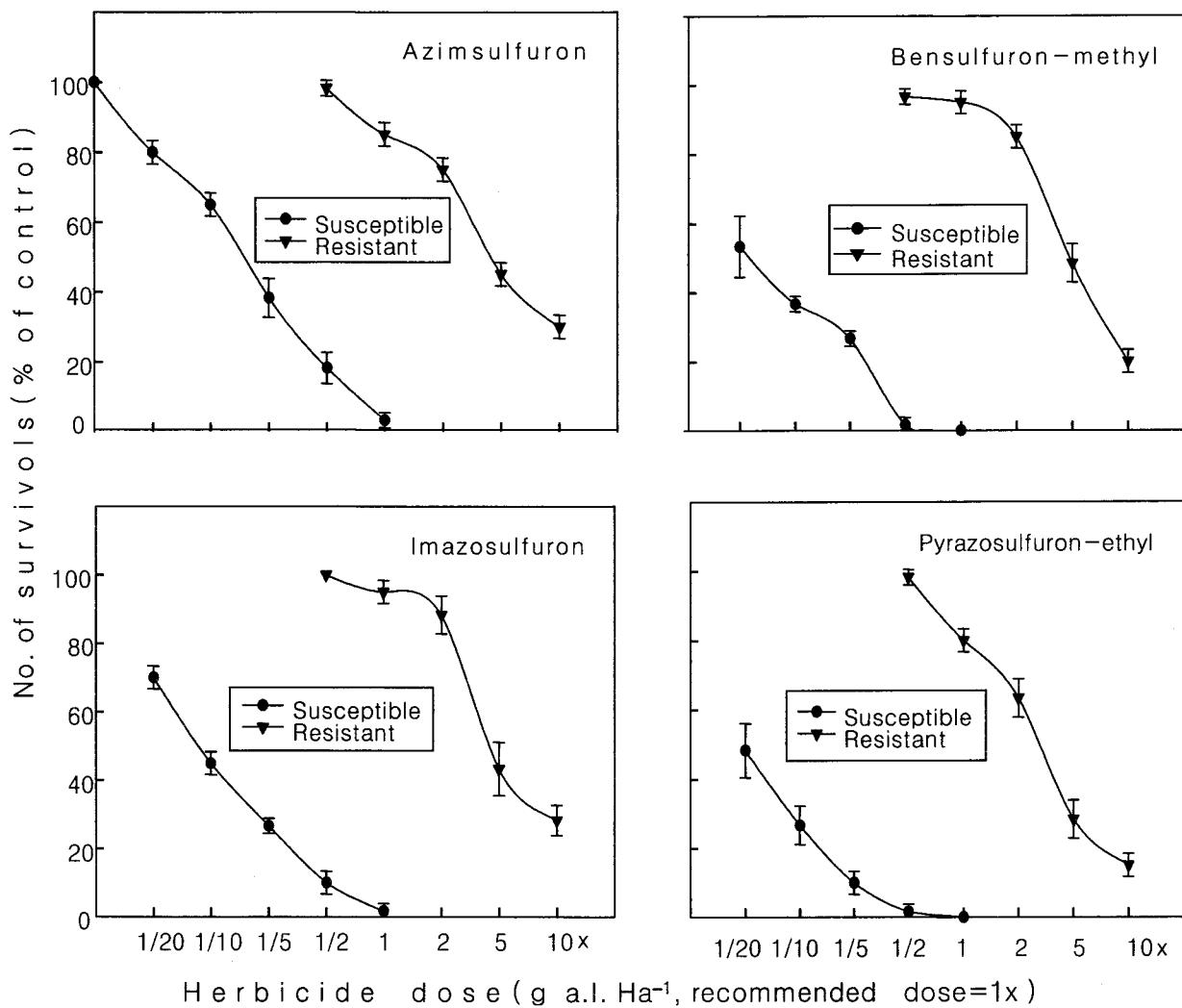


Fig. 2. Number of survivors of susceptible (●) and resistant (▼) biotypes of *Scirpus juncoides* Roxb. as affected by different dose of sulfonylurea herbicides at 20 days after herbicide treatment. Herbicides were applied at 10 days after transplantation. Vertical bars represent standard errors of the mean.

Table 3. Dose of respective herbicides exhibiting growth reduction of 50% (GR_{50}) by fresh weight against susceptible (S) and resistant (R) biotype of *Scirpus juncoides* Roxb

Herbicide	GR_{50} (g a.i. ha^{-1})		
	R	S	R/S
Azimsulfuron	68.3	1.3	53
Bensulfuron-methyl	234.6	2.8	84
Imazosulfuron	316.2	3.6	88
Pyrazosulfuron-ethyl	58.8	1.1	54

임 등(2003)은 역시 전북 김제의 동일 지역에서 채취한 SU계 제초제들에 대한 저항성 올챙이고랭이를 SU계 제초제들에 대한 반응을 조사하여 유사한 결과를 보고하였다. 국내외에서 SU계 제초제에 대한 잡초의 생태형간 생물적 반응에 대한 많은 연구 결과가 보고되어졌다. 박(2001)은 우리나라 간척지 논에서

최초로 확인된 물옥잠에 대하여 몇몇 SU계 제초제들에 대한 GR_{50} 을 조사한 결과 저항성 생태형이 감수성 생태에 비하여 약 5~65배나 높게 나타났다고 보고 하였다. Wang(1997) 일본에서 발생된 SU계 제초제 저항성 물옥잠에 대한 bensulfuron과 pyrazosulfuron에 대한 GR_{50} 을 조사한 결과 감수성 생태형 보다 각각

100배와 129배나 높았다고 보고하였다. 또한 박 등(2001)은 국내에서 발생된 미국외풀의 SU계 제초제 대한 저항성 생태형은 감수성 생태형에 보다 GR_{50} 이 35~185배 이상 높았다고 보고하였다. 그러나 Uchino 등(2000)은 일본에서 확인된 SU계 제초제에 대한 미국외풀 저항성 생태형의 GR_{50} 은 감수성 생태형 보다 수천 배 이상 높게 나타났다고 보고하였다. 이와 같이 SU계 제초제들에 대한 저항성 생태형이 감수성 생태형 보다 저항성 정도가 매우 높기 때문에 작물 및 작물재배 양식 전환에 의한 제초제 교호 살포로 제초제 저항성 잡초를 예방하는 것이 매우 중요하다.

ALS 활성반응

SU계 제초제들은 식물체내에서 분지아미노산 생합성에 관여하는 ALS를 억제하여 활성을 나타내기 때문에 SU계 제초제에 대한 올챙이고랭이의 저항성 및 감수성 생태형간 ALS 활성을 *in vitro* 조건에서 bensulfuron과 pyrazosulfuron을 농도별로 비교한 결과는 그림 3과 같다. 올챙이고랭이 생태형간 ALS 활성은 조사된 두 제초제들의 농도가 증가함에 따라 감소하였으며, 감수성 생태형이 저항성 생태형 보다 훨씬 더 민감하게 반응하였다. Bensulfuron-methyl에 대한 감수성 생태형의 ALS 활성은 0.001 μ M에서 50% 이

상 억제되었으며 1 μ M에서는 활성이 거의 정지되었다. 그러나 저항성 생태형의 경우는 0.1 μ M까지 무처리 대비하여 ALS 활성이 약 70% 정도 감소하는 매우 완만하게 반응하여 1 μ M에서 약 60% 억제되었다. Pyrazosulfuron-ethyl 농도별 올챙이고랭이 생태형간 ALS 활성 반응 역시 bensulfuron-methyl과 유사한 경향을 보였다. 저항성 생태형은 0.01 μ M까지 ALS 활성이 무처리 대비 약 70%까지 유지되었으나 그 이상의 농도에서부터 다소 민감하게 반응하여 1 μ M농도에서는 약 80% 정도 활성이 억제되었다. 감수성 생태형의 경우는 0.001 μ M에서부터 약 80% 정도 억제되어 1 μ M농도에서는 활성이 거의 정지 되었다.

표 4는 SU계 제초제 저항성 및 감수성 올챙이고랭이에 대한 bensulfuron-methyl과 pyrazosulfuron-ethyl의 농도별 ALS 활성반응을 근거로 효소 활성 50% 억제 농도(I_{50})를 나타낸 것이다. Bensulfuron-methyl에 대한 저항성 생태형의 I_{50} 은 648 nM로 나타나 1.3 nM인 감수성 생태형 보다 498 배나 높게 나타났다. Pyrazosulfuron-ethyl에 있어서도 역시 생태형간 뚜렷한 차이가 있었는데, 저항성 생태형의 I_{50} 은 감수성 생태형 보다 126배나 높게 나타났다.

SU계 제초제가 ALS 제해제이기 때문에 SU계 제초제 저항성 및 감수성 잡초에 대한 ALS 활성 반응 차

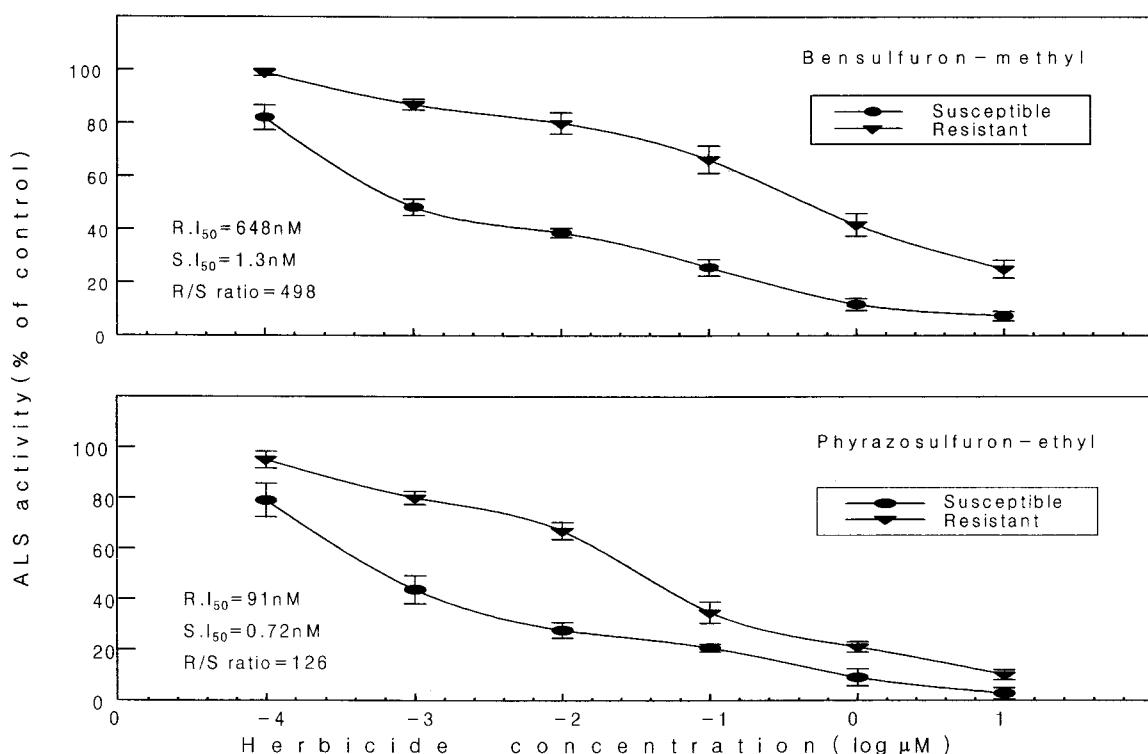


Fig. 3. Inhibition of ALS activity by concentrations of bensulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl range from 0.0001 to 10 μ M in susceptible (●) and resistant(○) biotypes of *Scirpus juncoides* Roxb. Vertical bars represent standard errors of the mean. I_{50} values was the pyrazosulfuron-ethyl concentrations that reduced ALS activity by 50%.

Table 4. Herbicide concentrations required for 50% inhibition of ALS activity(I_{50}) isolated from sulfonylurea-resistant(R) and -susceptible(S) *Scirpus juncoides* Roxb

Herbicide	I_{50} (nM)		
	R	S	R/S
Bensulfuron-methyl	648	1.3	498
Pyrazosulfuron-ethyl	91	0.72	126

이에 관한 많은 보고가 있었다. 박 등(2002)은 국내에서 발생된 SU계 제초제에 대한 물옥잠 생태형간 I_{50} 을 분석한 결과 저항성 생태형이 감수성 생태형 보다 약 14~76배 높게 나타났다고 보고하였다. 또한 박 등(2001)은 국내에서 확인된 SU계 제초제에 대한 미국외풀의 생태형간 ALS 활성을 분석한 결과 저항성 생태형은 감수성 생태형보다 제초제 농도가 증가할 수록 ALS 활성이 훨씬 완만하게 반응하였으며 저항성 생태형은 I_{50} 이 감수성 생태형 보다 수십배 높게 나타났다고 보고하였다. 외국에서 SU계 제초제 저항성 잡초들은 주로 옥수수, 밀, 콩밭에서 발생하는 것으로 보고되어졌는데, Wright 등(1998)은 thifensulfuron 농도별 사탕무(*Beta vulgaris*)의 생태형간 ALS 활성반응 차이를 조사한 결과 감수성 생태형이 저항성 생태형 보다 훨씬 민감하게 반응하였으며 이러한 결과는 primisulfuron과 chlor-sulfuron에 대하여서도 유사한 결과를 보여 이들 제초제들간에 교차 저항성(cross resistance)이 있는 것으로 보고하였다.

SU계 제초제 저항성 올챙이고랭이 방제법

1) 저항성 조기진단법에 의한 저항성 검증

제초제 저항성 잡초에 의한 작물 수량피해를 최소

화하기 위하여 가장 중요한 것은 저항성 잡초를 조기에 진단하여 시기적절하게 약제를 처리하여 저항성 잡초를 효과적으로 방제하는 것이다. 최근까지 저항성 잡초 진단은 우점 포장에서 종자를 채종하여 휴면 타파한 다음 제초제에 의하여 진단하거나 SU계 제초제에 대한 저항성 잡초 진단은 생태형간 ALS 활성, 엽록소 함량 등의 비교에 의하여 진단하였다(Dyer et al., 1993; Uchino et al., 2000; Van et al., 1992). 그러나 이들 방법은 장기간 시간이 소요될 뿐만 아니라 농업인이 현장에서 실질적으로 이용하기에는 많은 어려움이 있었다. 그러나 농업과학기술원에서 개발된 조기 진단법이 SU계 제초제들에 대한 저항성 잡초 중 물옥잠과 물달개비의 저항성 진단에 매우 실용적, 효과적 보고되었다(박 등, 2002). 따라서 같은 SU계 제초제 저항성 잡초인 올챙이고랭이에 대해서도 농업과학기술원에서 개발된 방법에 의하여 저항성 조기진단 가능성을 검증하여 보았다. 즉 파종 후 20일(4~5엽기)된 올챙이고랭이를 지표 위 0.5cm에서 가위로 절단 후 bensulfuron-methyl 표준량(51g a. i. ha^{-1})을 즉시 처리하여 경과 일수별 생태형간 생존율을 조사한 결과는 그림 4와 같다. 감수성 생태형의 초장은 무처리 대비 약제 처리 후 2일부터 현저하게 차이가 나기 시

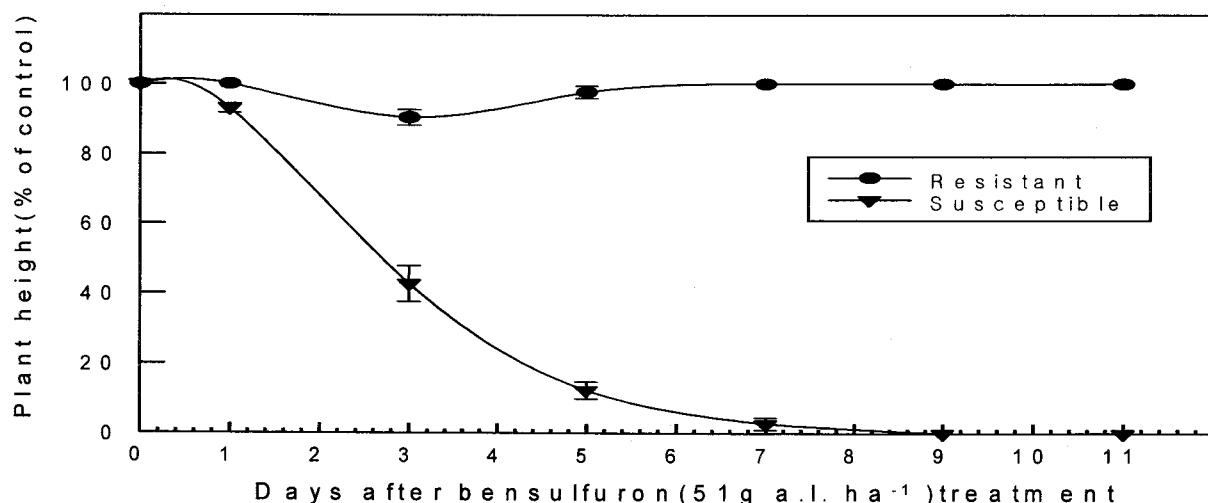


Fig. 4. Changes of plant height regenerated from the sulfonylurea-susceptible and -resistant *Scirpus juncoides* Roxb. treated with bensulfuron-methyl 51g a. i. ha^{-1} on the surface of cutted shoot at different stages.

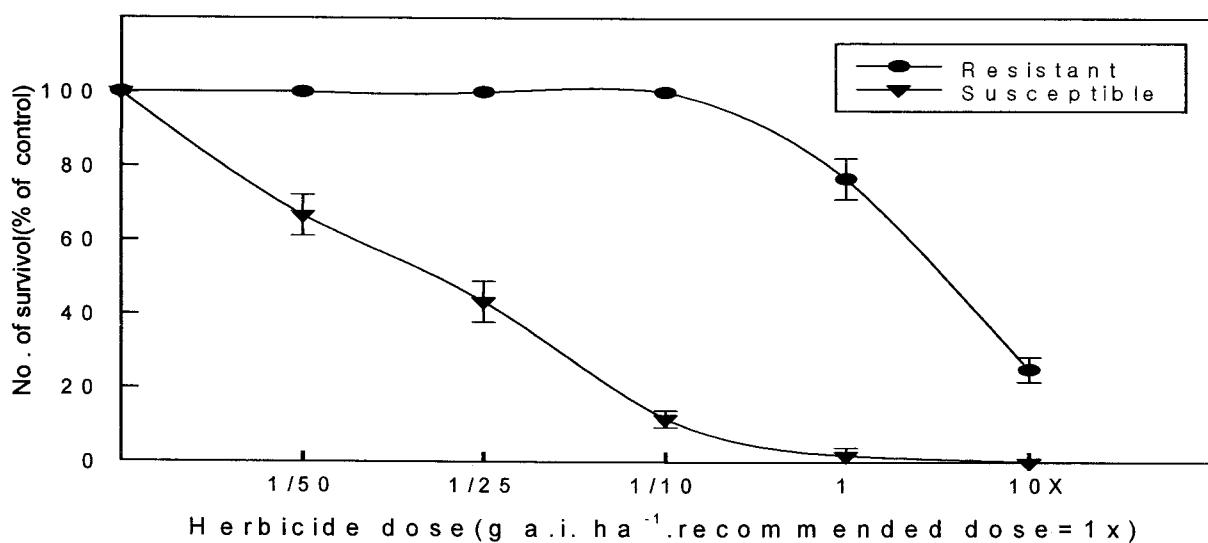


Fig. 5. Change of plant height regenerated from the sulfonylurea-susceptible and -resistant *t* *Scirpus juncoides* Roxb. treated with different doses of bensulfuron-methyl on the surface of cutted shoot.

작하여 약제 처리 후 3일에는 저항성 검증이 가능할 정도의 차이가 있었다. 또한 약제 처리 후 5일부터는 고사하기 시작하여 약제 처리 후 7일에는 거의 완전 고사하였다. 반면에 저항성 생태형은 약제 처리 직후부터 무처리와 거의 유사한 초장을 보였으며 약제처리 후 5일에 완전 재생되었다.

그림 5는 SU계 제초제에 대한 저항성 올챙이고랭이의 조기진단을 위한 처리 약량별 반응을 조사하기 위해 같은 방법으로 절단한 다음 bensulfuron-methyl을 기준량 대비 1/50, 1/25, 1/10, 1, 10배량을 처리한 다음 처리한 다음 처리 후 5일에 생태형간 재생된 초장을 비교한 결과이다. 감수성 생태형의 초장은 1/50량에서 조차 무처구 대비 약 65%의 초장을 나타내었으며 1/10량에서도 80%이상 초장이 억제되었다. 그러나 저항성 생태형은 기준량에서 무처구에 비해서 차이가 없이 완전히 재생하였을 뿐만 아니라 10배량에서도 약 20% 이상의 초장을 보였다. 따라서 농업과학기술원에서 SU계 제초제에 대한 저항성 잡초 조기진단법은 사초파인 올챙이고랭이에 대하여서도 매우 효과적으로 조기 진단할 수 있었다.

2) 화학적 방제법

국내에서 논 일년생 잡초 방제용으로 널리 사용되고 있는 제초제들 중에서 SU계 저항성 올챙이고랭이에 대하여 방제 가능성이 높은 제초제를 선별하여 담수직파논 조건에서 저항성 생태형 올챙이고랭이 1.5, 2.5, 3.5에 처리한 결과는 표 5와 같다. 저항성 올챙이고랭이 1.5~2.5 염기에서는 처리된 모든 제초제가 약

90% 이상의 높은 효과를 나타내었다. 그러나 3.5염기에서는 약제별로 뚜렷한 차이가 있었는데, cafentrazone-ethyl, pyrazolate, simetryne의 3약제는 3.5 염기에도 매우 효과적인 것으로 나타났다. 따라서 실제 논 조건에서 잡초 발생은 종자 풀(seed pool) 상태에서 발아할 뿐만 아니라 대부분의 저항성 잡초들이 종자 생산량이 매우 많기 때문에 제초제 방제 폭이 넓은 cafentrazone-ethyl, pyrazolate, simetryne 등이 혼합된 제초제를 사용하여야만 저항성 올챙이고래이를 효과적으로 방제할 수 있다. 박 등(2001)은 국내에서 발생된, 물달개비, 물옥잠, 미국외풀 등에 pyrazolate, thiobencarb, butachlor 등이 효과적이었다고 보고하였다. 또한 Smith 등(1990)은 미국 수도답에서 발생된 SU계 제초제에 대한 저항성 알방동사니 방제는 pyrazolate, thiobencarb, mefenacet, pretilachlor가 매우 효과적이었다고 하였다.

표 6은 SU계 제초제 저항성 올챙이고랭이에 효과적인 cafentrazone, pyrazolate, simetryn의 비SU계 약제가 포함되어 현재 국내 농가에서 제초제 저항성 잡초 전문약제로 사용 중인 pyriminobac + pyrazosulfuron + carfentrazone 입제 등 3약제를 저항성 올챙이고랭이 염기별로 처리한 결과이다. 파종 후 10일에는 3약제 모두 완전히 저항성 올챙이고랭이를 방제하였으나 약해가 발생하였다. 그러나 파종 후 15일에는 pyrazosulfuron + pyrazolate + simetryn 입제만 약해가 발생하였고 pyriminobac + pyrazosulfuron-ethyl + carfentrazone 입제와 azimsulfuron + carfentrazone-ethyl + pyriminobac-methyl 입제는 약해 없이 SU계 저항성 올챙이고랭이

Table 5. Effect of herbicides having different mode of action from the sulfonylurea according to growth stage of the sulfonylurea-resistants *Scirpus juncoides* Roxb. in plant growth chamber

Herbicide	Dose ^{b)} (kr a.i. ha ⁻¹)	Efficacy(%)		
		1.5st ^{c)}	2.5nd	3.5rd
Butachlor GR ^{a)}	1.5	98	97	40
Cafentrazone GR	0.25	100	100	93
Esprocarb GR	0.9	100	82	35
Mefenacet GR	1.1	97	94	47
Molinate GR	1.5	95	91	42
Pyrazolate GR	1.8	100	100	90
Simetryne GR	0.021	100	100	98
Thiobencarb GR	2.1	95	89	45

^{a)}GR ; Granule, ^{b)}Recommended dose in Korea, ^{c)}Leaf stage.

Table 6. Effect of several effective sulfonylurea-included herbicides using in farmhouse on the sulfonylurea-resistant *Scirpus juncoides* Roxb. under wet direct-seeded rice in greenhouse

Herbicide	Dose (g a.i. ha ⁻¹)	Application time					
		10DAS ^{a)}		15DAS		20DAS	
		Efficacy	Rice ^{b)} injury	Efficacy	Rice injury	Efficacy	Rice injury
Priminobac-methyl + Pyrazosulfuron-ethyl + Cafentrazone-ethyl GR ^{c)}	30+ 21+ 75	100	3	100	1	85	1
Pyrazosulfuron-ethyl + Pyrazolate + simetryn GR	15+ 900+ 210	100	5	100	4	97	2
Azimsulfuron + Cafentrazone-ethyl + Pyriminobac-methyl GR	9+ 45+ 30	100	3	94	1	80	1

^{a)}DAS : Days of fer Seeding, ^{b)} Rice injury : 0 ; no injury, 9 ; completely dead, ^{c)}GR : Granule.

에 효과적이었다. 실제 농가에서 벼 파종 후 10~15일 사이에 사용토록 권장된 pyrazosulfuron-ethyl + pyrazolate + simetryn 입제는 파종 후 15일에 완전방제 약효를 보였으나 약해가 발생되었으나 파종 후 20일에는 경미한 약해로 97%의 높은 방제효과를 보였다.

국내 논에서 SU계 제초제에 대한 저항성 잡초 및 발생면적의 급격한 증가 원인은 SU계 혼합제들이 화본과 전용 제초제들 특히 molinate가 혼합된 일발처리제 위주로 개발되고 있어 올챙이고랭이, 물달개비 등 화본과 이외의 잡초들은 SU계 제초제들에 대하여 높은 선택압에 놓이게 되어 저항성화 되는 것이다. 그러므로 국내 논에서 저항성 잡초 발생을 예방하고 초기에 방제하기 위하여서는 저항성 잡초들에 효과적인

cafentrazone, pyrazolate, simetryn 등이 SU계 혼합제들과 혼합되어 사용되어 져야할 것이다. 그러나 국내에서 이들 약제의 추천량은 약효와 약해에 대하여 많은 민원들이 있기 때문에 일본에서 저항성 전문약제로 사용 중인 dimethametryne을 포함한 4약제에 대하여 농도별로 SU계 저항성 올챙이고랭이에 대한 약효와 벼의 약해를 조사한 결과는 표 7과 같다.

Carfentrazone은 기준량에서 벼에 큰 약해 없이 매우 효과적이었을 뿐만 아니라 배량에서도 약해가 경미하게 나타났다. 일본에서 많이 사용하고 있는 dimethametryne은 약량에 관계없이 약효가 매우 낮게 나타났으나 pyrazolate는 배량까도 약해가 거의 없이 저항성 올챙이고랭이가 완전하게 방제되었다. 또한 simetryne

Table 7. Effect of several nonsulfonylurea herbicides on the sulfonylurea-resistant *Scirpus juncoides* Roxb. at 10 days after seeding under wet direct-seeded rice in greenhouse

Herbicide	Dose (1×=recommend dose)	Efficacy(%)	Rice injury (0-9)
Carfentrazone-ethyl	1/4×	33	0
	1/2×	68	1
	1×	95	2
	2×	100	3
Dimethametryne	1/4×	0	0
	1/2×	22	1
	1×	38	3
	2×	42	5
Pyrazolate	1/4×	67	0
	1/2×	95	0
	1×	100	0
	2×	100	2
Simetryne	1/4×	18	0
	1/2×	58	1
	1×	90	4
	2×	100	5

Table 8. Effect of bentazone according to seeding time of *Scirpus juncoides* Roxb. seeding

Rate (g a.i. ha ⁻¹)	15DAT ^{a)}		30DAT		45DAT	
	Efficacy	Rice ^{b)} injury	Efficacy	Rice injury	Efficacy	Rice injury
1600	100	3	100	2	75	0
800	100	2	100	1	68	0
400	100	1	100	1	57	0
200	100	1	100	1	45	0

^{a)}Days after treatment. ^{b)}0 ; no injury, 9 ; completely dead.

은 기준량에서도 약해가 심하게 나타났다.

SU계 혼합제를 살포 후 저항성 올챙이고랭이 때문에 방제가 실패할 경우 경엽처리제 사용이 필수적이다. 따라서 표 8은 국내 논에서 광엽 및 사초과 경엽 처리제로 등록된 bentazone을 약량 및 올챙이고랭이 생육시기별로 나타난 결과이다. 올챙이고랭이 약 6~7엽기인 파종 후 30일까지는 벼에 대한 큰 약해 없이 저항성 올챙이고랭이를 완전하게 방제하였다. 그러나 파종 후 45일에는 방제효과가 현저하게 떨어져 기준량인 800 g a.i. ha⁻¹에서 68%의 방제 효과를 나타내었다. 박 등(1998)은 물달개비의 생육후기에 2,4-D 액제와 bentazone 액제를 혼용 살포하는 것이 매우 효과적이었다고 보고하고 있다. 따라서 담수직파답에서 다년간 SU계 제초제와 화본과 전용 제초제들이 혼합된 제초제를 사용하였을 경우 올챙이고랭이가 저항성화될 가능성성이 있기 때문에 azimsulfuron+carfentrazone+pyriminobac 입제와 pyriminobac+pyrazosulfuron+

carfentrazone 입제를 처리해 주는 것이 매우 효과적이고 SU계 제초제 혼합제를 처리 후 저항성 올챙이고랭이가 발생하여 방제가 실패하였을 경우 올챙이고랭이 생육중기와 후기에는 bentazone 액제를 살포하는 것이 약해 없이 효과적으로 나타났다. 그러나 저항성 잡초가 경작지에 일단 발생하면 여러 가지 원인에 의하여 인근 지역으로 조기에 확산될 뿐만 아니라 토양 속에 있는 종자들이 연차적 및 시기적으로 계속적으로 발생하기 때문에 일시에 방제하기가 매우 곤란하다.

따라서 저항성 잡초를 방제하기 위한 최선의 전략은 저항성 잡초 발생을 예방하는 것이고 발생된 저항성 잡초는 종합적인 방법으로 방제해야 한다. 저항성 잡초의 발생 예방 및 종합적인 방제법은 작물의 윤작, 재배양식 전환, 제초제의 교호 살포와 제초제 처리 후에도 방제가 되지 않는 잡초를 제거하여 주는 것이 중요하다.

인용문헌

- Adkins, S. W., D. Wills, M. Boersma, S. R. Walker, G. Robinson, R. J. MacLeod and J. P. Einam (1997) Weeds resistant to chlorsulfuron and atrazine from the north-east grain region of Australia. *Weed Res.* 3:343~349.
- 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.
- Dyer, W. E., P. W. Chee and P. K. Fay (1993) Rapid germination of sulfonylurea-resistant *Kochia scoparia* L. accessions is associated with elevated seed levels of branched chain amino acids. *Weed Sci.* 41:18~22.
- Finney, D. J. (1971) Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Heap, I. (2005) International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://www.weedscience.org/in.asp>.
- Hensley, J. R. (1981) A method for identification of triazine resistant and susceptible biotypes of several weeds. *Weed Sci.* 29:70~73.
- Itoh, K. and K. Ito (1994) Weed ecology and its control in south-east tropical countries. *Japanese Journal of Tropical Agriculture.* 38:369~373.
- Itoh, K., G. X. Wang, H. Shibaike and K. Matsuo (1999) Habitat management and inheritance of sulfonylurea resistance in *Lindernia micratha*, an annual paddy weed in Japan. *Proc. 17th APWSS Conf.* Bangkok, 537~543.
- Koarai, A. (2000) Diagnosis of susceptibility of sulfonylurea herbicides on *Monochoria vaginalis*, an annual paddy weed in Japan. *J. Weed Sci. & Tech. Suppl.* 45(1):40~41.
- Kohara, H., K. Konno and M. Takekawa (1999) Occurrence of sulfonylurea-resistant biotypes of *Scirpus juncoides* Roxb. var. *ohwianus* T. Koyama in paddy fields of Hokkaido Prefecture, Japan. *J. Weed Sci. & Tech.* 44(3):228~235.
- Lebaron, H. M., J. Gressel, B. B. Smale and D. M. Horne (1992) International organization for resistant pest management(IOROM)-a step toward rational resistance management recommendations. *Weed Tech.* 6:765~770.
- Lovell, S. T., L. M. Wax, D. M. Simpson and M. McGlamery (1996) Using the *in vivo* acetolactate synthase (ALS) assay for identifying herbicide-resistant weeds. *Weed Tech.* 10:936~942.
- Park, T. S., C. S. Kim, J. P. Park, Y. K. Oh and K. U. Kim (1999) Resistant biotype of *Monochoria korsakowii* against sulfonylurea herbicides in the reclaimed paddy fields in Korea. *Proc. 17th APWSS Conf.* Bangkok, 251~254.
- Park, T. S. (2004) Identification of sulfonylurea-resistant biotype of *Scirpus planiculmis* in reclaimed paddy fields, Korea. *Pesticide Sci.(Korean. J.)* 8(4):332~337.
- Ray, R. B. (1984) Site of action of chlorsulfuron. *Plant Physiol.* 75:827~831.
- Saari, L. L., J. C. Cotterman and M. M. Primiani (1990) Mechanism of sulfonylurea herbicide resistance in the broadleaf weed, *Kochia scoparia*. *Plant Physiol.* 93:55~61.
- Smith, C. A., D. C. Thill and M. J. Dial (1990) Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce(*Lactuca serriola*). *Weed Tech.* 4:163~168.
- Subramanian, M. V., V. L. Gallant, J. M. Dias and L. C. Mireles (1991) Acetolactate synthase inhibiting herbicides bind to the regulatory site. *Plant Physiol.* 96:310~313.
- Uchino, Guang-Xi Wang and K. Itoh (2000) Sulfonylurea resistant biotypes of *Lindernia* species in the Tohoku region and their response to several herbicides. *Weed Res.(Japan)*. 45(1):13~20.
- Van, O. and P. H. Van Leeuwen (1992) Use of fluorescence induction to diagnose resistance of *Alopecurus myosuroides* Huds.(black-grass) to chlortoluron. *Weed Res.* 1:19~31.
- Wang, G. X., H. Kohara and K. Itoh (1997). Sulfonylurea resistance in a biotype of *Monochorea korsakowii*, and annual paddy weed in Japan. *Brighton Crop Protection Conference-Weeds* 1:311~318.
- Westerfield, W. W. (1945) A colorimetric determination of blood acetoin. *J. Biol. Chem.* 161:495~502.
- Wright, T. R., N. F. Bascomb and D. Penner (1998) Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugar beet(*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Sci.* 46:13~

- 23.
- Yoshida, S., K. Onodera, T. Soeda, Y. Takeda, S. Sasaki and H. Watanabe (1999) Occurrence of *Scirpus juncoides* subsp. *dhwianus*, resistant to sulfonylurea herbicide in Miyagi Prefecture. *J. Weed Sci. & Tech. Suppl.* 44:70~71.
- 권오도, 국용인, 정하일, 이도진, 구자옥 (2001) Sulfonylurea계 제초제 저항성 마디꽃 (*Rotala indica*)의 방제. *한국잡초학회지(별)* 21(2):33~38.
- 임일빈, 강종국, 김선, 나승용, 경은선 (2003) 논에서 sulfonylurea계 제초제에 대한 저항성 올챙이고랭이의 방제. *한국잡초학회지*. 23:92~99.
- 박태선, 권오도, 김창석, 박재읍, 김길웅 (1999) 한국 수도답에서 sulfonylurea 제초제에 대한 저항성 물달개비 출현. *한국잡초학회지(별)* 19(2):71~73.
- 박태선 A, 김창석, 문병철, 이인용, 임순택, 박재읍, 김길웅. (2001) 한국 남부지방 논에서 sulfonylurea계 제초제에 대한 저항성 미국외풀(*Lindernia dubia*(L.) Pennell var. *dubia*) 발생과 방제. *한국잡초학회지* 21(1):33~41.
- 박태선 B, 권오도, 이도진, 변종영 (2001) Sulfonylurea 계 제초제 저항성잡초 연구 현황과 전망. *한국잡초학회지* 21(2):99~109.
- 박태선 (2002) 물옥잠의 sulfonylurea계 제초제에 대한 저항성 발현기작 및 방제연구. 경북대학교 박사학위논문.

Herbicidal Response and Control of *Scirpus juncoides* Roxb. Resistant to Sulfonylurea Herbicides

Tae Seon Park^{*}, Dong Kyun Kang¹ and Kil Ung Kim¹(*Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea, ¹Dept. of Agronomy, College of Agriculture, Kyungpook National University*)

Abstract : This study was conducted to investigate the herbicidal response and effective control strategy of sulfonylurea(SU)-resistant *Scirpus juncoides* Roxb. occurred in the paddy fields of Korea. A biotype of *Scirpus juncoides* Roxb. resistant to SU was identified in the paddy fields treated with SU herbicide-based mixtures for seven consecutive years. The apparent SU resistance observed in *Scirpus juncoides* Roxb. was completely confirmed in greenhouse tests. The susceptible biotype was almost controlled at the recommended dose of all the tested, but the resistant biotype was survived 20 to 30% even at 10 times higher dose of each the recommended dose of SU herbicides. The GR50 values of 4 SU herbicides for the resistant biotype were 53 to 88 times higher than those for the susceptible biotype. The acetolactate synthase(ALS) isolated from the resistant biotype against bensulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl was less sensitive than that of the susceptible biotype. The I₅₀ values of the resistant biotype against bensulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl were 498 and 126 times higher than those for the susceptible biotype. A rapid diagnosis for identifying resistance of *Scirpus juncoides* Roxb. was possible within at least 3 days after SU herbicides. Three herbicides having different mode of action from SU herbicide, carfentrazone-ethyl, pyrazolate and simetryne exhibited excellent controlling effects on the resistant biotype of *Scirpus juncoides* Roxb. till 3.5 leaf stage. Among the SU-based herbicides, pyriminobac-methyl + pyrazosulfuron-ethyl + carfentrazone-ethyl GR and azimsulfuron+carfentrazone-ethyl+pyriminobac-methyl GR were very effective to control resistant biotype of *Scirpus juncoides* Roxb. without rice injury. The resistant biotype which were not controlled with SU herbicide-based herbicides survived from the fields were effectively controlled by bentazon SL.

Key words : control, rapid diagnosis, resistant weed, *Scirpus juncoides* Roxb., Sulfonylurea.

*연락처자(Fax : +82-31-290-0409. E-mail : jalaprk@rda.go.kr)