

Alachlor의 除草機構에 관한 研究

I. Alachlor가 귀리의 核酸, 아미노산 및 蛋白質合成에 미치는 影響
權晨煥 · 金栽詰*

A Study of Mode of Action of Alachlor

I. Effects of Alachlor on Nucleic acid, Amino acid and Protein Synthesis in Oat (*Avena sativa* L.)

Kwon, S.W and J.C. Kim*

ABSTRACT

The effects of alachlor [2-chloro-2', 6' diethyl-N-(methoxymethyl) acetanilide] treatment on nucleic acid, amino acid and protein synthesis were studied. The amide herbicide alachlor blocks the biosynthesis of the amino acids isoleucine, valine and aromatic amino acid in oat root tips. Nucleic acid was inhibited, but was not proportional to reduction in protein synthesis. $1 \times 10^{-4}M$ of alachlor treatment of oat roots inhibited 36% DNA synthesis, but DNA synthesis was not inhibited at $1 \times 10^{-5}M$. RNA synthesis was inhibited by $1 \times 10^{-5}M$ and $1 \times 10^{-4}M$ of alachlor 16 and 27%, respectively, while inhibition of protein synthesis did occur at same concentrations. Inhibition of protein synthesis also did not occur at concentration below $1 \times 10^{-4}M$ alachlor.

It suggest that inhibition of protein synthesis caused significantly by alachlor ($1 \times 10^{-3}M$) result from secondary action.

緒 言

除草劑는 동일 포장내에 있는 雜草를 죽이되 有用 植物에 대해서는 害를 주지 않아야 된다는 것이 必須條件으로써, 그 作用이 特異적이고 選擇의이어야 한다. 이러한 점에서 各各 除草劑의 作用機作을 研究하는 것은 重要하다. Chloroacetamide系에 속하는 除草劑는 지방족 아민에서 誘導된 amide體와 aniline에서 誘導된 alachlor, butachlor, metolachlor 등이 있으며, 특히 aniline에서은 除草劑는 土壤吸着力이 強하고 잔효기간이 길기 때문에 우리나라는 물론 世界 主要作物 栽培地에서 많이 사용되고 있다.¹⁾ a-chloroacetamide系에 속하는 除草劑는 園藝作物 栽培에 있어서, 1年生 雜草 및 廣葉雜草 防除에 널리 利用되고 있으며, alachlor는 吸收移動形 除草劑로서, 雜草가 發芽하기 前에 土壤

에 處理하면 유근부에 吸收되어 發芽直後 어린植物을 枯死시킨다.^{9, 15, 20} 주로 除草劑의 影響은 細胞 및 分子學的 水準에서 볼 때 植物의 生長過程中 몇 개의 代謝作用을 抑制함으로써 生長이 停止된다.^{6, 7)} 植物의 生長과 發達은 細胞分裂, 核酸 및 蛋白質合成이 基本的으로 要求되는데, amide系統의 除草劑는 위의 作用을 primary act로 報告되어 있다.^{3, 16, 23)} 그러나 같은 種이라 할지라도 組織에 따라 除草劑의 處理效果가 다르게 나타날 수 있다.²²⁾ 除草劑는 一般的으로 濃度에 따라서 2개의 症狀이 나타나는데, 하나는 低濃度에서는 1~2개의 target 만을 抑制하지만 高濃度에서는 2차적인 影響으로서 여러 가지 抑制現狀이 誘發된다.¹⁹⁾ 계속적인 生長과 發達은 RNA와 蛋白質合成에 의해서만 이루어 지는데, 光合成을 抑制하지 않는 除草劑의 대부분은 nucleic acid 및 蛋白質을 抑制하고 있다.¹⁷⁾ 또한 植物이 老化될 때 RNA와 蛋白質合成이 현저하게 줄

* 全北大學校 農科大學 College of Agriculture, Jeonbug National University, Jeonju 560-756, Korea.
이 논문은 한국과학재단의 학위논문지원비에 의하여 연구되었음.

어 든다고 했다.^{9,17)} Smith 등²³⁾은 amide 系統의 除草劑는 蛋白質과 nucleic acid 代謝作用의 抑制가 primary action 이라고 했다. 植物體가 正常的인 生長을 하기 위해서는 量的인 아미노산 均衡이 중요한 役割을 하며, 아미노산 흡수가 줄어드는 것은 蛋白質合成의 抑制를 유도한다.¹⁹⁾ Sulfonylurea 系統의 除草劑는 valine 과 isoleucine 의 合成을 抑制했으며²¹⁾ glyphosate 는 aromatic amino acid 의 合成을 抑制시킨다고 하였다.^{1,8)}

本 實驗에서는 alachlor 의 nucleic acid 合成, amino acid 및 蛋白質合成에 미치는 影響을 調査함으로써 除草劑의 作用을 分子學的으로 理解하고, 除草劑에 resistance 로 利用되는 作用을 遺傳工學에 利用함으로써, 合理的인 除草劑를 만들기 위해 實施하였다.

材料 및 方法

1. DNA, RNA 및 Protein 合成抑制에 관한 研究

a) 試料調製 : 9 cm 의 disposal petri-dish 에 一定濃度の 除草劑와 동위원소가 處理된 溶液을 20 ml 넣고, 철망을 깬 다음, 그 위에 잘 發芽된 귀리를 移植한 後, 액상에서 暗培養 하였다. 이때 DNA 合成은 ³H-thymidine (0.1 uCi/ml, sp. Act. 5 mCi/mM Buckinghamshire, England. Amersham), RNA 合成은 ³H-uridine (1.0 uCi/ml, sp. Act. 30mCi/ml, Amersham), 그리고 protein 合成은 ¹⁴C-leucin (50 uCi/ml, sp. Act. 54mCi/mM. Amersham) 의 前驅物質을 利用하여 8時間동안 pulsing 하였다.

b) DNA, RNA 및 Protein 測定 : 各各 동위원소가 處理된 45개의 뿌리를 採取하여 15개씩 3 group 으로 나누어 2 mm 의 길이로 根端을 잘라서 모았다. 이것을 10ml homogenizer 에 넣고 5 ml 의 cold 80% ethanol 을 넣고 완전히 磨碎한 다음, millipore filter (2.4 cm GF/C) 에 부어서 濾過한 後, 다시 80% ethanol 로 水洗하였다. DNA 와 RNA 를 測定하기 위해서 계속하여 cold 5% TCA 로 3회, 5 ml cold 95% ethanol 과 cold absolute ethanol-diethyl ether (1:1) 그리고 diethyl ether 로 各各 2회씩 水洗하였다.

DNA, 혹은 RNA 가 含有된 filter 는 liquid scintillating 병에 넣어 大氣中에 乾燥시켜서 500

ul protozol 에 완전히 녹인 後 50 ul 氷초산을 넣었다. 그 다음 10ml liquifluor 를 채워서 liquid scintillation counter (packard tri-cabi 300 c) 로 測定하였다. 또한 protein 測定은 TCA 濾過過程에서 5ml cold 10% TCA 만 더 添加하였으며, 모든 과정은 DNA 測定과 同一하게 實施하였다.¹⁰⁾

2. Alachlor 處理에 따른 amino acid 의 變化

귀리를 36時間 暗發芽시켜 除草劑가 處理된 petri-dish 에 옮겨 심은 後, 22°C 에서 8時間 incubation 하여 amino acid 含量을 調査하였다.

各各 濃度別 處理된 귀리의 根端組織을 약 2 mm 정도로 하여 600개씩 잘라서 5ml 의 oxidation mixture 에 넣었다. 다음 30°C 에서 1時間동안 incubation 하고 ice bath 에서 15分間 放置한 後, 냉상고에 18時間동안 保管하였다. Oxidation 混合液에 各各 0.84 g sodium metabisulfate 와 50 ml 6N HCl 에 50mg phenol 을 넣고 110°C 에서 23時間동안 hydrolyse 한 後, 7.5N NaOH 를 利用하여 pH 2.2 로 調整하였다. 그리고 200ml volumetric-flask 에 옮겨서 0.1% phenol 이 含有된 0.2N citrate buffer 로 200ml 까지 채웠다. 이 시료를 millipore-filter system 으로 filtering 한 後 아미노산 분석기 (LKB 4150) program No. 12 를 利用하여 分析하였다. 이때 resin 은 ultropac II (particle size 11 μm + 0.5 μm) cation exchange column 을 사용하여 100 ul 씩 loading 하였다. 또한 chart speed 는 분당 0.25 cm 로 하였으며, 시료의 아미노산 peak 면적을 standard 면적과 비교하여 nano gram 으로 換算해서 表示하였다. Oxidation 混合液은 0.5ml 30% hydrogen peroxide 에 4.5ml 88% formic acid 를 混合한 後, 25mg 의 phenol 을 넣어 만들었다.¹⁴⁾

結果 및 考察

1. DNA, RNA 및 Protein 合成抑制에 관한 研究

많은 除草劑들이 susceptible plant 를 죽이는 方法에 대해서 아직 알려지지 않았으며, 비록 그 기구 (mode of action) 의 根本的인 問題를 풀지 못하더라도, 除草劑의 效率的인 利用은 할 수 있다.¹³⁾ 植物이 계속적으로 生長과 發達을 할려면 RNA 와 protein 合成이 要求되며, 反對로 senescence 時에는

RNA와 protein 합성이 현저하게 줄어든다.¹⁶⁾ 除草劑에 대한 nucleic acid metabolism 및 protein 합성의 影響은 80年代 以前에는 거의 찾아볼 수가 없었다.¹⁷⁾ 따라서 除草劑의 生理學的 究明을 하기 위하여 前驅物質에 동위원소를 label 시켜 植物組織의 DNA, RNA 및 protein incorporation을 調査하였으며 비교적 生化學的 資料를 土臺로 調査하였다. RNA抑制와 蛋白質 合成 및 에너지 生成 抑制가 聯關되어 biosynthetic reaction이 誘導되는데 이것은 光合成 抑制劑를 除外한 除草劑의 대부분이 이 代謝過程中 1 또는 2개의 代謝에 影響을 주어 植物生長을 抑制시키며 alachlor 역시 이러한 기작으로 植物體에 作用되고 있다고 推定된다.^{6,13,17)}

Moreland¹⁷⁾은 RNA 合成 抑制가 間接的으로 光合成을 抑制하며, RNA 合成이 減少되면 protein 合成도 減少된다고 하였다. 또한 여러가지 除草劑間에 蛋白質 合成量이 다르게 나타나는 것은 各各 다른 pathway를 抑制하고 있기 때문이며, 같은 種이라 할지라도 處理部位와 濃度에 따라서 다르다고 하였다.^{13,19,22)} 蛋白質 合成은 除草劑의 作用에 특히 敏感하며, 많은 研究 報告書에서 ATP의 약 88%는 蛋白質 合成에 消耗되고 있으며 ATP의 적은 變化에도 影響을 받는다고 하였다.^{14,17)} a-chloroacetamide系는 protein 合成을 抑制한다고 하였으며 metolachlor는 leucin-incorporation를 1×10^{-4} M 이상의 濃度에서 抑制함을 보였다.^{6,15,20)} Moreland 등¹⁸⁾은 soybean에 6×10^{-4} M로 propachlor 또는 CDAA를 처리할 때 leucin-incorporation을 抑制함을 보였다.

Zalik 등¹⁸⁾에 의하면 아미노산은 매우 安定함으로 peptide를 形成하기 위하여 에너지(ATP)를 供給받아 aminoacyl acid 形態로 되며, 다시 t-RNA와 結合하여 aminoacyl-t-RNA가 됨으로써, 비로소 ribosome 上에 蛋白質 合成을 始作한다고 하였는데, Duck 등⁷⁾은 이 과정에서 propachlor는 ami-

nacyl-t-RNA에서 polypeptide chain elongation을 妨害함으로 蛋白質 合成이 抑制된다고 하였다. 지금까지는 대부분 amide 系統의 除草劑는 蛋白質 合成抑制가 primary action으로 報告되었다.^{13,15)} 그러나 本 實驗에서는 Table 1과 같이 1×10^{-3} M alachlor에서 leucine-incorporation이 control 區에 비하여 86.5%가 抑制되었으나 1×10^{-4} M 이하의 濃度에서는 抑制를 보이지 못했다. 더구나 1×10^{-5} M에서 뿌리의 伸長과 細胞伸長이 현저하게 減少되었음에도 불구하고 control 區에 비하여 38% 增加된 것은 本 除草劑가 secondary metabolism에서 蛋白質 合成을 抑制하기 때문이다. 또한 1×10^{-4} M 이하의 濃度에서 蛋白質 合成 抑制 현상이 나타나지 않은 것은 energy 生成反應이나 membrane에 직접적인 影響을 주어서 오는 結果라고 推定되며, 에너지차원에서 하나의 ATP가 얼마만큼의 蛋白質 合成을 抑制시키지는 지금까지 究明되지 않았으며 앞으로 해결해야 할 問題로 남아있다.

Petachlorophenol은 ATP의 부족 및 membrane disorganization으로 아미노산 合成이 抑制되어 植物體가 죽게 된다고 했다.¹³⁾

Mann 등¹³⁾은 除草劑가 低濃度에서 protein 合成에 직접적으로 關與되지 않은 것은 에너지 生成反應에서 오는 것이기 때문에, 먼저 ATP가 減少되고, 2차적으로 蛋白質 合成이 減少된다고 하였다. Carlson³⁾은 pronamide 0.5 ppm을 귀리에 4時間 동안 處理時에 蛋白質 合成이 增加되었는데 Smith 등²³⁾이 報告한 amide 系統의 除草劑는 protein 및 nucleic acid의 抑制가 primary action으로 報告된 것과는 좀 다르다고 하였다. Peregoy & Glenn⁸⁾은 fluzafop-butyl은 高濃度(10^{-4} M)에서만 nucleic acid 및 蛋白質 合成抑制가 일어난 것은 2차적 反應이며, 이것은 energy反應인 oxidative phosphorylation의 作用에서 오는 結果라고 하였다.

Table 1. The effect of alarchlor on DNA, RNA, and protein synthesis after 8hr.

Concentration	DNA (³ H-thymidine)		RNA (³ H-uridine)		Protein (¹⁴ C-leucin)	
	cpm/15RT.	% control	cpm/15RT.	% control	cpm/15RT	% control
Control	44,665 ^a		7,487 ^a		23,161 ^b	
1×10^{-6} M	45,558 ^a	102.5	6,828 ^a	91.2	26,403 ^b	114.0
1×10^{-5} M	47,349 ^a	106.0	6,250 ^b	83.5	32,026 ^a	138.3
1×10^{-4} M	28,430 ^b	63.7	5,487 ^c	73.3	21,814 ^b	94.2
1×10^{-3} M	9,089 ^c	20.3	1,100 ^d	14.7	2,621 ^c	13.5

^aMean values within a column that are followed by the same letter are not significantly different at the 5% level D.M.R.T. RT. : root tips

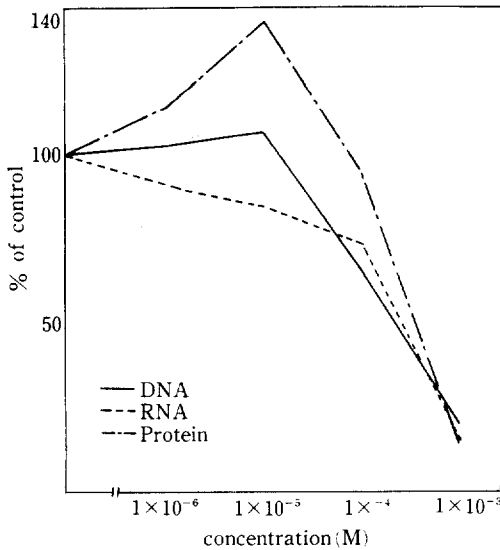


Fig. 1. The effect of alachlor on DNA, RNA, and protein synthesis after 8hr.

Table 1에서 보는 바와 같이 DNA合成抑制가 10⁻⁴ M에서 36%, 10⁻⁵ M에서 RNA合成抑制는 16%로 나타났으며 低濃度에서는 抑制效果가 나타나지 않았다. 이것은 alachlor의 低濃度에서 蛋白質合成의 減少가 nucleic acid와는 關聯이 없음을 틀림없다. 그러나 10⁻³ M alachlor는 RNA와 DNA合成抑制가 85와 80%로 各各 抑制되었으며, 蛋白質合成抑制는 86%로 가장 많이 抑制한 것으로 볼 때 高濃度에서는 2차적 영향으로 蛋白質合成 抑制가 nu-

cleic acid合成의 減少에 寄與하는 것으로 推定된다 (Fig. 1).

따라서 本 除草劑가 高濃度에서 nucleic acid와 protein合成을 抑制한 것은 아미노산 生合成過程 또는 membrane에 직접적으로 影響을 주는 다른 要因들에 의하여 處理植物들이 枯死하게 된다고 思料된다.

2. Alachlor 處理에 따른 amino acid量의 變化

아미노산은 세포벽, 細胞分裂, 蛋白質合成 및 細胞의 분화 등, 植物의 生長에 있어서 가장 重要な 役割을 하고 있으며²⁴⁾, 各各의 아미노산은 植物을 비정상적으로 誘導시키기도 하고 生長을 抑制하기도 하는데²⁵⁾, 正常的인 生長을 위해서는 量的인 아미노산의 均衡이 이루어져야 된다. 아미노산의 生合成代謝過程은 주로 除草劑作用의 target가 되고 있으며, 이 代謝過程에 重要な 役割을 하고 있는 enzyme를 究明하려고 最近에는 試圖되고 있다.²⁶⁾

本 實驗에서 處理濃度는 ¹⁴C-leucine incorporation에서 나타난 바와 같이 1 × 10⁻⁴ M alachlor는 6%, 1 × 10⁻³ M에서는 86%의 抑制率을 보였던 바, 1 × 10⁻⁴ M과 1 × 10⁻³ M 사이의 3 × 10⁻⁴ M과 6 × 10⁻⁴ M로 定하여, 아미노산量의 變化를 調査한 結果, 귀리의 粗단분열조직에서는 lysine이 386.6 ng으로 가장 많이 含有된 反面, methionine은 30.6 ng으로 아주 적었으며, proline은 거의 存在하지 않았다 (Table 2).

Table 2. The effect of alachlor on amino acid synthesis after 8hr.

Treatment Amino acid	Control (ng)	3 × 10 ⁻⁴ M alachlor (ng)	% control	6 × 10 ⁻⁴ M alachlor (ng)	% control
Asp	260.6	239.6	92	227.8	87
Thr	95.4	84.6	89	79.4	83
Ser	129.8	117.4	90	115.0	89
Glu	358.2	332.6	93	343.6	96
Pro	---	---	---	---	---
Gly	140.2	123.0	88	115.4	82
Ala	160.8	148.8	93	123.8	84
Val	72.0	49.8	69	51.8	72
Met	30.6	31.8	104	24.2	79
Ile	59.6	36.8	62	39.4	66
Leu	165.0	146.8	89	139.0	84
Tyr	67.2	52.0	75	49.6	71
Phe	90.8	78.0	86	63.4	70
His	55.2	48.4	88	52.6	95
Lys	386.6	374.2	97	361.6	94
Arg	143.0	130.4	91	114.4	86

Glutamic acid와 lysine은 $6 \times 10^{-4}M$ 에서 각각 4%, 5%로 거의 억제현상을 보이지 않았으나, isoleucine, valine과 aromatic amino acid인 phenylalanine 및 tyrosine은 약 30%의 억제현상을 보이고 있다. Aromatic amino acid는 주로 단백질 합성을 하기 위해서 요구되며, 植物에 있어서 傷處의 치유제인 chlongenic acid의 前驅物質이기도 하다.¹²⁾

Nikolaus 등은 glyphosate가 amino acid의 생합성을 억제한다고 하였으며 sulfonylurea type인 chlorsulfuron, imidazolinon, sulfometuron methyl 등의 除草劑는 shikimate biosynthetic過程을 妨害함으로써, 아미노산中에 aromatic amino acid의 생합성이 억제된다고 하였다.^{4, 21)}

Enzyme은 植物의 生理的 作用을 調節하며 또한 대부분의 酵素가 植物의 아미노산 생합성에 關聯된 것으로 알려져 있는데 이러한 enzyme의 生成抑制는 isoleucine의 合成量에 따라서 限定되지만, 어떠한 기작으로 isoleucine이 植物의 生長을 抑制시키는지는 알려지지 않았다.²⁾

Chlorsulfuron과 sulfometuron methyl은 아미노산 생합성中, valine과 isoleucine을 合成하는 經路의 第1段階인 acetolactate synthase의 活性를 강력하게 抑制하여 valine과 isoleucine을 含有하는 蛋白質의 合成이 곧 阻害됨으로서, 植物의 生育도 阻害된다고 報告되었다.^{2, 21)} Mann 등¹³⁾은 C-DAA, endothal과 CIPC 등의 除草劑는 蛋白質合成을 抑制시켰는데, 이는 아미노산이 세포막을 통하여 移動한 後, 除草劑가 직접적으로 ribosome에서 amino acid가 活性化되어 polypeptide化 되는 過程에서 作用하는 것인지, 또는 蛋白質의 合成에 필요한 ATP와 mRNA가 적어서 오는 結果인지는 분명하지 않다고 하였다. 그러나 Table 2에서 보는 바와 같이 alachlor는 아미노산 自體를 抑制시킨 것으로 보아 아미노산이 polypeptide화되는 過程에서보다는 아미노산 生成過程에서 影響을 받은 것으로 思料된다. Proline은 無處理區와 處理區에서 公히 나타나지 않았는데, David Ho & Sachs⁹⁾은 植物體가 osmotic stress, water stress 및 salt stress를 받으면 proline이 많이 合成된다고 하였다. 따라서 alachlor의 處理는 salt나 osmotic stress에서 일어나는 아미노산 생합성過程과는 抑制作用機作이 다르다고 推定된다.

以上の 資料에서 alachlor는 sulfonylurea 系統

의 除草劑와 같이 acetolactate synthase의 活性를 抑制시킴으로써 isoleucine과 valine의 합성을 抑制하고, 또한 shikimate 生合成過程을 妨害함으로써, aromatic amino acid가 抑制되는 것으로 推定된다. 따라서 alachlor는 細胞內의 아미노산 均衡을 파괴시킴으로써, 植物 生長의 抑制를 誘發하는 하나의 要因으로 思料된다.

引用 文 獻

1. Amrhein, Nikolaus et al. 1987. Overproduction of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in glyphosate-tolerant plant cell cultures. *Plant Tissue and Cell Culture* 119-113.
2. Bryan, J.K. 1980. Synthesis of the aspartate family and branched-chain amino acids. *The Biochem. of Plant*, Vol. 5 : 155-161.
3. Carlson, W. C., E.M. Lignowski, and H.J. Hoppen. 1975. The mode of action of pronamide. *Weed Sci.* 23 : 155-161.
4. Canal, Maria Jesus, Ricardo Sanchez Thames and Belen Fernandez. 1987. Effects of glyphosate on phenolic metabolism in yellow nutsedge leaves. *Physiol. Plantarum* 69 : 629-632.
5. David Ho, Tuan-Hua and Martin M Sachs. 1989. Stress-induced proteins characterization and the regulation of their synthesis. *The Biochem. of Plant*, Vol. 15 : 347-378.
6. Deal, Luanne M. and F. D. Hess. 1980. An analysis of the growth inhibitory characteristics of alachlor and metolachlor. *Weed Sci.* 28 : 168-175.
7. Duke, W.B., F.W. Slife, J. B. Hanson, and H.S. Butler. 1975. An investigation on the Mechanism of action of Propachlor. *Weed Sci.* 23 : 142-147.
8. Gilchrist, D.G. and T. Kosuge. 1980. Aromatic amino acid biosynthesis and its regulation. *The Biochem. of Plant*, Vol. 5 : 507-531.
9. Keu, Joe L. 1963. Ribonucleic acid and protein synthesis as essential processes for cell elongation. *Plant Physiol.* 39 : 365-370.
10. Kim, Jae C. 1986. A study of mode of action of Fluazifop-butyl. II. Fluazifop-butyl effect on cell division, cell enlargement and protein synthesis in Oat (*Avena sativa* L.) roots. *K.J.W.S.6(2)* : 168-173.

11. Klingman, Glenn C., Floyd, M Ashton, Lyman J. Noordhof. WEED SCIENCE : Principle and practices.
12. Kuroki, Gary. W. and Eric E. Conn. 1987. Differential activities of chorismate mutase isozymes in tubers and leaves of *Solanum tuberosum* L. Plant Physiol. 89 : 472-476.
13. Mann, Jay D., Lowell S. Jordan, and Boyses E. Day. A survey of herbicides for their effect upon protein synthesis. Plant Physiol. 40 : 840-843.
14. Mason, V.C., Bech-Andersen and M. Rudemo. Hydrolysate preparation for amino acid determination in feed constituents. Proc. 3rd, EAAP symp. on protein metabolism and nutrition, May. 1980, Vol.1
15. Mellis, Jill M., Parthan Pillai, Donald E. Davis, and Bryan Truelove. 1982. Metoachlor effects on Membrane permeability and lipid synthesis. Weed Sci. 30 : 339-404.
16. Moreland, Donald E. 1967. Mechanisms of action of herbicides. Ann Rev. Plant Physiol. 18 : 365-386.
17. Moreland, D.E. 1980. Mechanisms of action of herbicides. Ann Rev. Plant Physiol. 31 : 579-638.
18. Moreland, D.E., S.S. Malhotra, R.D. Gruehagen, and E.H. Sholrah. 1969. Effects of herbicides on RNA and protein synthesis. Weed Sci. 17 : 556-563.
19. Peregoy, Robert S. and Scott Glenn. 1985. Physiological responses to Fluazifop-butyl in tissue of corn (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*). Weed Sci. 33 : 446.
20. Rao, V. Sivaji and William B. Duke. 1976. Effect of alachlor, propachlor and prynachlor on GA₃-induced production of protease and α -amylase. Vol. 24 : 616-618.
21. Ray, Thomas B. 1984. Site of action of chlorsulfuron : Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. Plant Physiol. 75 : 827-831.
22. Rost, Thomas L. and David E. Bayer. 1976. Cell cycle population kinetic of pea root tip meristems treated with prophan. Weed Sci. 24 : 81-87.
23. Smith, L-W., R.L. Peterson and R.F. Horton. 1971. Effect of a dimethylpropynyl benzamide herbicide on quackgrass rhizomes. Weed Sci. Vol. 19 : 174-177.
24. Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. Growth & Differentiation in plant.
25. Zalik, Saul and B.L. Jones. 1973. Protein biosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. 24 : 47-68.