

Protoporphyrinogen Oxidase 저해형 제초제에 대한 밀과 보리의 흡수 및 해부학적 차이*

具滋玉** · 鞠龍仁**

Difference of Absorption and Anatomical Responses to Protoporphyrinogen Oxidase-Inhibiting Herbicides in Wheat and Barley*

Ja Ock Guh** and Yong In Kuk**

ABSTRACT: Laboratory and greenhouse studies were conducted to determine differential sensitivities on absorption of ^{14}C -oxyfluorfen and the anatomical responses in wheat and barley to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides [oxyfluorfen(2-chloro-1-(3-ethoxy-nitrophenoxy)-4-(trifluoromethyl) benzene, acifluorfen(5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl) phenoxy]-2-nitrobenzoic acid), bifenox(methyl-5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate), and oxadiazon(5-tert-butyl-3-(2,4-dichloro-5-isopropoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-one)]. I_{50} value of the tolerant wheat cultivars to oxyfluorfen was about 10^{-4} , whereas that of the susceptible barley cultivars was about 10^{-6}M , showing significant difference between the two groups. When foliage were applied with acifluorfen, bifenox or oxadiazon, the oxyfluorfen-tolerant wheat showed less decreased in shoot fresh weight and chlorophyll content than the susceptible barley. Also, when soil-applied with these herbicides test plants showed similar tendency in foliar application. Electrolyte leakage from the tissue treated with these compounds was the more influenced in the barley than the wheat. Malondialdehyde(MDA) production as index of lipid peroxidation was greater in the barley than the wheat by treatment of these compounds. Therefore, the differential sensitivities of wheat and barley to protoporphyrinogen oxidaseinhibiting herbicides was showed by our greenhouse and *in vitro* experiment. The absorption rates of ^{14}C -oxyfluorfen were higher in the barley than the wheat. And this tendency was showed apparantly difference by increase of treatment durations. After the oxfluorfen and oxadiazon treatment, the tolerant wheat did not show the structural damage in leaf surface, but the susceptible barley was damaged in the leaf waxy layer. However, the acifluorfen and bifenox treatment showed no difference between wheat and barley. The anatomical changes by these compounds treatment were not observed in the tolerant wheat but epidermal cell and mesophyll cell were highly broken in the susceptible barley.

* 본 논문은 교수년제 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과임.

** 전남대학교 농과대학(College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

〈'96. 9. 18 接受〉

Key words : Protoporphyrinogen oxidase, Herbicide, Oxyfluorfen, Acifluorfen, Bifenox, Oxadiazon, Absorption, Leaf anatomy.

광합성이나 생합성 과정의 주요 효소작용 단계를 목표로 하는 제초제들, 예를 들어 포르피린 생합성 관련 효소나 필수아미노산 생합성 관련 효소가 작용하는 디페닐에테르(DPE)계 및 설폰일 우레아(SU)계 화합물들은 극미량의 처리로도 탁월한 제초효과를 나타낸다¹³⁾. 특히 DPE계를 포함하는 많은 종류의 광합성 제초제들은 광활성(光活性)에 의한 활성산소의 방출과 이로 인한 지질의 과산화작용으로 급격한 살초효과를 나타내기 때문에 잔류 독성이 매우 낮을뿐만 아니라 비수용성으로 토양입자에 쉽게 흡착되며 광산화에 의하여 쉽게 분해되는 경향이 있어서¹⁶⁾ 차세대의 바람직한 제초제로 선택될 수 있는 장점을 지니고 있지만 식물종간의 선택성이 크게 결여되어 몇 가지 작물을 제외하고는 작물의 생육기에 제초 목적으로 사용하기에는 어려운 제한점을 지니고 있다. 따라서 이러한 단점을 보완하고자 많은 연구를 수행하고 있다.

DPE계 광활성 제초제들은 식물체에 존재하는 protoporphyrinogen oxidase(Protox)의 활성을 저해하여 식물체의 급격한 탈수와 탈색을 유기시켜 식물체를 고사시킴으로써 제초효과를 나타낸다¹⁵⁾. DPE계 화합물에 의하여 Protox가 저해되면 Protox의 기질인 protoporphyrinogen IX이 축적되어 엽록체 밖으로 이동되고 원형질막에 도달한 후 비효소적 또는 DPE에 저항성을 나타내는 원형질막 Protox에 의하여 protoporphyrin IX(PPIX)으로 산화가 일어나며 그 결과 원형질막에 축적된 PPIX은 광에 의하여 singlet oxygen을 만들고 이 singlet oxygen이 지질 과산화작용을 일으켜 식물체의 세포막을 파괴하는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 이러한 제초제의 작용에 의해 식물체에서 일어나는 대표적인 것에는 세포내 전해질의 누출, 엽록소 파괴, malondialdehyde(MDA)의 생성, PPIX의 축적 및 Protox의 활성 저해 등이 있다^{9,15)}. 이와 같은 작용기작을 갖는 Protox 저해형 제초제에는 DPE계를 포함한 pyrazole ethers, oxadiazoles, N-phenyl imide 등이 있다^{1,3,20)}.

Protox 저해형 제초제에 대한 감수성은 식물종간에 차이를 보인다. 즉 acifluorfen에 내성인 콩은 이 제초제에 대하여 대사적인 무독화에 기인된다고 하였으나, 그 밖의 종에서는 이러한 내성기작으로는 설명될 수 없다고 하였다⁶⁾.

Finckh와 Kunert⁵⁾는 oxyfluorfen의 처리에 의한 식물체의 과산화가 ascorbic acid와 α -tocopherol의 비율(10~15:1)이 적당할 때 피해가 감소된다고 하여 식물체에 존재하는 이들 비율과 약제에 대한 내성과 관련성을 보고한 바 있다.

鞠 등¹¹⁾과 千²⁾ 등은 oxyfluorfen에 대한 내성 벼 품종보다 감수성 벼 품종에서 oxyfluorfen 처리에 의한 표피세포 붕괴, 유관속초세포의 파손, 엽육세포의 위축 등이 신속히 나타나므로 식물의 형태적 차이 특히, epicuticular wax의 질적, 양적 및 구조적인 차이에 의해서도 내성 차이가 야기될 수 있을 것으로 보고하였다. 또한, Protox 저해형 제초제인 oxyfluorfen에 대한 벼 품종간 내성요인을 조사한 결과, 내성인 벼 품종들은 감수성 벼 품종들보다 약제의 흡수량이 적고, 항산화 효소의 활성이 높았으며, Protox 활성의 저해가 적었고, PPIX 축적량이 많았다고 하였다¹²⁾.

Protox 저해형인 UCC-C4243를 170g ai/ha 수준으로 토양처리시 밀은 내성이고, 봄보리, 완두 등에서는 아주 감수성이라고 보고하였다¹⁰⁾.

따라서 본 연구는 Protox 저해형 제초제에 대한 세계의 주요 식량작물인 밀과 보리의 감수성 차이를 엽록소 함량, 전해질의 누출정도 및 MDA 형성량 등을 조사하여 알아보고, 그 특이적인 반응차이를 oxyfluorfen의 흡수 및 해부형태적 변화를 조사하여 보다 효과적이고 명확한 선택성을 갖는 제초제 개발에 대한 방향성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

공시재료는 밀 6품종(조광, 청계밀, 탑동밀, 은

파밀, 그루밀, 우리밀)과 보리 6품종(새쌀보리, 흰쌀보리, 늘쌀보리, 찰쌀보리, 무등쌀보리, 진양보리)을 vermiculite로 충전한 벼육묘상자에 파종하였다. 이들 식물은 온실조건(주간 25℃, 야간 18℃)에서 10일간 육묘하여 농도별 oxyfluorfen 수용액에 2시간 침지처리를 한 후 각 식물의 처리 부위를 물로 세척하여 상기와 동일한 온실조건에서 생육시켜 품종간 반응차이를 I_{50} 값을 구하여 알아 본 후 그중 대표적인 내성을 보인 밀 1품종(은파밀)과 감수성을 보인 보리 1품종(흰쌀보리)를 실험재료로 사용하였다.

2. Protox 저해형 제초제 처리방법에 의한 밀과 보리의 생장량 차이

Oxyfluorfen(OF)에 내성과 감수성을 보인 밀과 보리 각각 1품종씩을 vermiculite에 파종하여 2엽기까지 육묘하여 95% G OF, 90% G acifluorfen(AF), 97% G bifenox(BF) 및 94% G oxadiazon(OD)를 10^{-7} ~ 10^{-4} M로 조제한 용액에 암상태에서 2시간 침지처리 후 상기와 동일한 온실조건에서 5일간 생육시킨 후 지상부 생체중과 엽록소 함량을 조사하였다.

또한, 23.5% EC OF은 177, 235 및 470g ai/ha, 20.4% EC AF은 280, 560 및 1,120g ai/ha, 25% EC BF은 1,050, 2,100 및 4,200g ai/ha와 12% EC OD은 120, 240 및 480g ai/ha 수준으로 파종전 2일에 토양처리하고, 그후 10일에 지상부 생체중과 엽록소 함량을 조사하였다.

3. Protox 저해형 제초제 처리에 의한 밀과 보리의 생리적 반응차이

1) 엽록소 함량 측정

상기의 실험 2)와 동일하게 Protox 저해형 제초제를 밀과 보리에 처리 후 경시적으로 식물체 경엽부위를 lg 채취하여 80% acetone에 3일간 4℃의 냉장고에 방치하여 엽록소를 추출하였다. 추출된 엽록소는 분광광도계로 665, 649nm에서 흡광도를 조사하여, 아래와 같은 식으로 엽록소 함량을 계산하였다.

전체엽록소 함량($\mu\text{g/ml}$)

$$=6.45A_{665}+17.72A_{649}$$

2) 세포내 전해질의 누출

공시식물을 2엽기까지 육묘하여 2엽의 일정한 부위를 cork borer를 이용하여 4mm 엽절편을 만들어 1% sucrose/1mM 2-(morpholino)-ethanesulfonic acid(MES, pH 6.5)가 들어 있는 petri dish에 옮겨 암상태에서 20시간 배양 후 광상태($60\mu\text{mol/m}^2/\text{cm}$)에서 20시간까지 배양하였다. 배양과정 중에 전기전도도계(KENT EIL 5003)를 이용하여 전해질의 누출정도를 측정하였다.

3) 지질과산화(MDA) 형성량

막지질의 과산화는 MDA의 생성량으로 측정하였다. 공시식물을 2엽기까지 육묘하여 제초제를 10^{-5} 및 10^{-6} M로 경엽부위에 침지처리 후 24시간 후에 0.25g을 채취하여 0.1%(W/V) trichloroacetic acid(TCA) 2ml을 가하여 추출한 용액을 10,000g에서 10분간 원심분리를 하고 상등액 1ml을 취하고 여기에 0.5%(W/V) thiobarbituric acid(TBA)를 함유한 20%(W/V) TCA 용액 4ml을 가한 다음 95℃에서 30분간 반응시키고 얼음위에서 식힌다. 이를 다시 10,000g에서 5분간 원심분리를 하고 상등액을 취하여 분광광도계를 이용하여 532nm에서 흡광도를 측정하고 600nm에서의 흡광도를 보정하였다.

MDA의 농도는 흡광계수 $E=155 \times 10^{-3} \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 를 이용하여 계산하였다²¹⁾.

4. ^{14}C -oxyfluorfen의 흡수

공시식물을 2엽기까지 육묘한 후 경엽부위를 0.1% acetone을 포함한 10^{-6} M의 ^{14}C -oxyfluorfen 수용액에 30, 60, 120 및 240분 침지처리한 후 처리부위를 증류수로 세척하고, 0.25g씩 채취하여 acetone/methanol(1:1, v/v)에 담가서 실온에 1일 방치한 후 표지화합물을 liquid scintillation counter(LKB Rack Beta 1217)로 방사능을 측정하였다.

5. Protox 저해형 제초제 처리에 의한 밀과 보리의 해부학적 변화

공시식물을 2엽기까지 육묘한 후 Protox 저해형 제초제를 10^{-4} M 농도에 2시간 동안 침지 처리하고 광상태에 12시간 노출한 후 식물체 제2엽의 중앙 부위를 5mm 길이로 절단하였다. 그 후의 일련의 실험과정은 鞠 등¹¹⁾과 동일하게 수행하여 주사전자현미경으로 500배와 1,000배 배율하에서 납질구조와 표면조직의 구조 차이를 확인하였다. 또한 광학현미경에 의해 상기와 동일하게 처리된 제2엽의 중앙부위를 8mm 길이로 절단하여 고정, 탈수 등 일련의 과정들을 鞠 등¹¹⁾의 방법과 동일하게 하여 광학현미경하에서 100배 및 400배 배율로 표피세포, 엽육세포 및 유관속 통도조직의 변화를 촬영하였다.

결과 및 고찰

1. Protox 저해형 제초제 처리후 밀과 보리의 생장량 및 생리적 반응 차이

Table 1. I_{50} values for wheat and barley cultivars biomass production when treated with oxyfluorfen^a

Species / Cultivars	I_{50} (M) ^b
Wheat	
Chokwang	$2.5 \times 10^{-4} \pm 3.4$
Cheonggemil	$1.8 \times 10^{-4} \pm 3.9$
Tapdongmil	$1.9 \times 10^{-4} \pm 4.5$
Eunpamil	$3.0 \times 10^{-4} \pm 2.2$
Geurumil	$1.0 \times 10^{-4} \pm 1.5$
Urimil	$2.7 \times 10^{-4} \pm 2.7$
Barley	
Saessalbori	$1.0 \times 10^{-6} \pm 2.5$
Nulssalbori	$2.0 \times 10^{-6} \pm 1.7$
Hinssalbori	$9.0 \times 10^{-7} \pm 3.2$
Moodeungssalbori	$1.8 \times 10^{-6} \pm 3.7$
Chalssalbori	$2.3 \times 10^{-6} \pm 2.9$
Jinyangbori	$1.8 \times 10^{-6} \pm 3.5$

a. The oxyfluorfen was soaked to shoot in darkness for 2hr and then exposed to light.

b. All values are means standard error.

밀 6품종과 보리 6품종을 공시하여 oxyfluorfen 침지처리에 의한 50% 생장억제 농도는 표 1과 같았다. 즉, 밀의 I_{50} 농도는 $1.0 \times 10^{-4} \sim 3.0 \times 10^{-4}$ M를 보였고, 보리는 $9.0 \times 10^{-7} \sim 2.3 \times 10^{-6}$ M로서 밀이 보리보다 전반적으로 I_{50} 농도가 100배 이상 높았다. 품종간의 종내 변이는 크지 않아 이중 가장 대표적으로 내성을 보인 밀 1품종(은파밀)과 감수성을 보인 보리 1품종(흰쌀보리)를 사용하여 oxyfluorfen(OF)를 비롯한 protox 저해형 제초제로 알려진 acifluorfen(AF), bifenox(BF) 및 oxadiazon(OD)을 $10^{-7} \sim 10^{-4}$ M 농도로 경엽처리 후 5일에 지상부 생체중 변화를 알아보았다(그림 1).

즉, oxyfluorfen에 내성인 밀은 감수성인 보리보다 각 처리농도에서 생체중의 감소가 적었다. 그 밖의 acifluorfen, bifenox 및 oxadiazon에서도 같은 경향을 보였다. 특히 oxyfluorfen 처리에서는 밀과 보리간에 가장 큰 차이를 보였으며, oxfluorfen에 내성인 밀은 AF, BF 및 OD에서도 교차내성이 있는 것으로 판단되었다.

경엽 처리 후 엽록소 함량(그림 2)에서도 앞의 생체중의 결과와 유사한 경향을 보였다. 그리고 약제 처리후 약제간 밀과 보리의 생체중 및 엽록

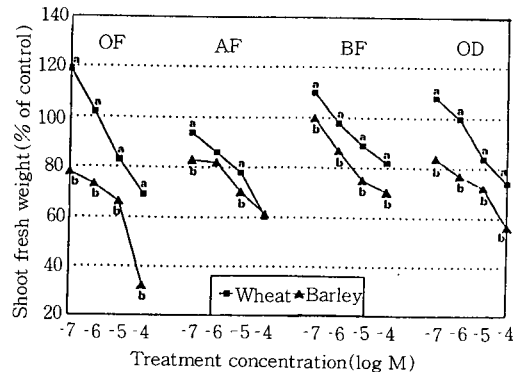


Fig. 1. Change in shoot fresh weight of wheat and barley at 5 days after foliar treatment by protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides(OF, oxyfluorfen; AF, acifluorfen; BF, bifenox; OD, oxadiazon). The herbicides application were soaked to shoot for 2hr. The different letter are significantly different using LSD at the 5% level.

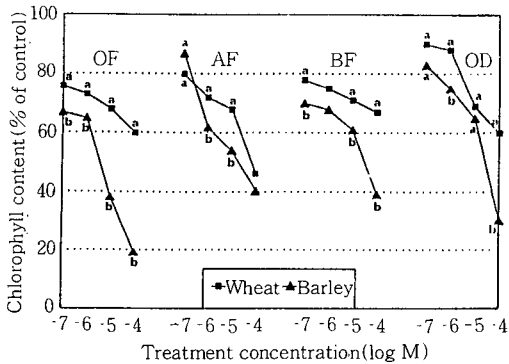


Fig. 2. Change in chlorophyll content of wheat and barley at 5 days after foliar treatment by protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. Chlorophyll content of untreated wheat and barley were 50 ± 6 and $39 \pm 4 \mu\text{g/ml}$ extract, respectively. The others referred to Fig. 1.

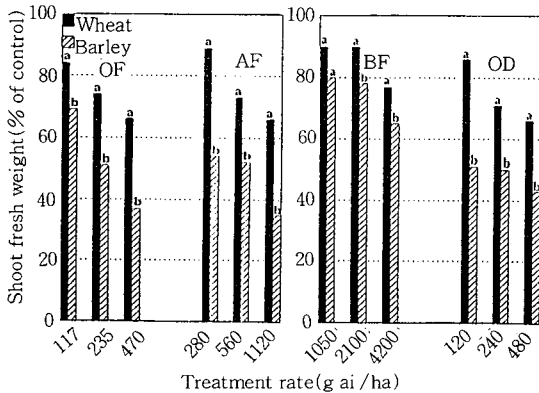


Fig. 3. Change in shoot fresh weight of wheat and barley at 10 days after soil treatment by protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. The herbicides were applied to soil surface at 2 days after seeding.

소 함량 차이는 $OF > OD > BF > AF$ 순으로 나타났다.

Protox 저해형 제초제를 파종 후 2일에 토양처리하고 10일 경과후에 지상부 생체중의 변화를 알아 보았다(그림 3). 토양처리에서도 경엽처리와 유사하게 이들 약제에 대해 밀보다는 보리에서 생체중 감소가 심하였다. 그러나 acifluorfen

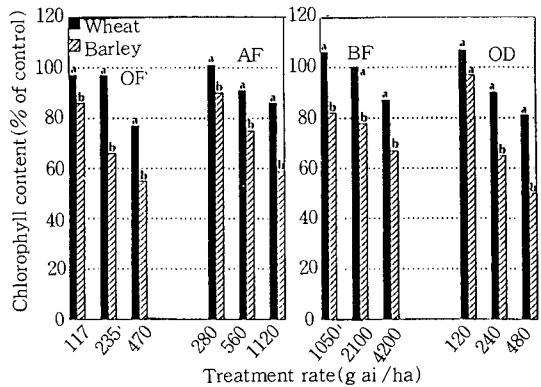


Fig. 4. Change in chlorophyll content of wheat and barley at 10 days after soil treatment by protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. Chlorophyll content of untreated wheat and barley were 18 ± 2 , and $20 \pm 3 \mu\text{g/ml}$ extract, respectively. The others referred to Fig. 3.

의 경엽처리에서는 밀과 보리간에 차이가 적었으나, 토양처리에서는 밀보다는 보리에서 훨씬 생체중 감소가 심하였다. 앞의 실험과 동일하게 토양처리후 엽록소 함량 변화를 본 결과(그림 4), 생체중 결과와 동일하게 밀보다 보리에서 엽록소 함량의 감소 정도가 큰 경향을 보였다.

본 연구의 결과는 *李 등*¹⁴⁾이 oxyfluorfen을 경엽처리 및 토양처리에서 밀이 보리보다 내성을 보였던 결과와 유사하였다. 또한 Protox 저해형 제초제로 알려진 UCC-C4243을 토양 및 경엽처리시 밀이 말냉이와 렌즈콩보다 생체중에 대한 I_{50} 농도가 90배 정도 높았고, acifluorfen에서는 밀이 이들 식물종들보다 5~10배 이상 높은 I_{50} 농도를 보였다²³⁾. 그리고 *Joy 등*¹⁰⁾은 UCC-C4243를 170g ai/ha 수준으로 토양처리시 밀은 내성이고 보리는 아주 감수성이라고 보고하였다.

이처럼 밀이 보리보다 이들 약제에 대하여 내성을 보였던 원인으로는 식물종간의 분자수준에서 내성인자의 유무, 세포벽 또는 식물체 표피구조, 흡수, 이행능력의 차이, 체내에서 대사능력의 차이 등의 다양한 요인에 의한 것으로 생각된다.

밀과 보리의 엽절편에 Protox 저해형 제초제를 $100 \mu\text{M}$ 처리후 20시간 암배양하고, 광에 노출

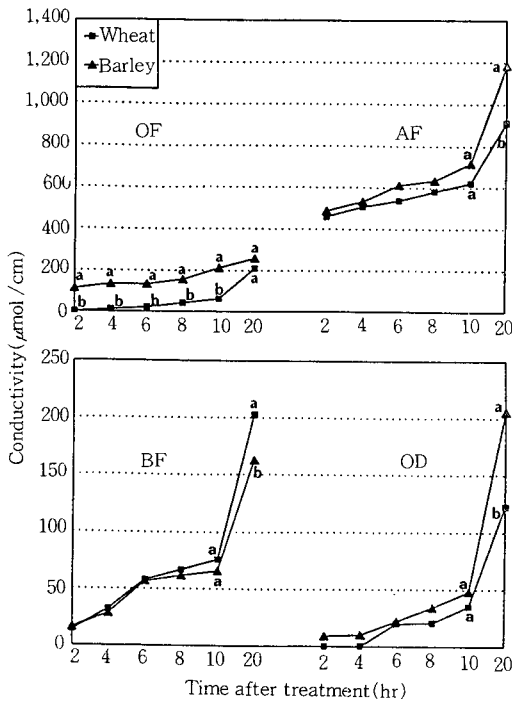


Fig. 5. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on electrolyte leakage from wheat and barley leaf discs upon exposure to continuous light at $60\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{cm}$ at 25°C following 20 hr. dark incubation. Values are differences between treated and control tissues. Treatment were applied in assay buffer(1% sucrose, 1mM MES[pH 6.5] at $100\mu\text{M}$ concentration).

후 전해질의 누출을 알아 보았다(그림 5). 그림에는 나와있지 않으나 본 실험에서 전해질의 누출은 광조건에서만 일어났으며, 암조건에서는 극히 미비하였다.

OF는 광노출후 시간(2~10)이 경과할수록 밀보다 보리에서 전해질의 누출이 많았다. 그러나 AF 및 OD 처리에서는 광노출후 20시간에서만 밀보다 보리에서 많은 전해질이 누출되었다. 그리고 BF 처리에서는 오히려 보리보다 밀에서 누출이 많았다. 또한, 약제간 전해질의 누출 정도는 상이하였다. 특히, OF는 그밖의 약제보다 전해질의 누출 정도가 훨씬 적었다. 이처럼 OF에서

전해질의 누출이 다른 약제들보다 적었던 것은 암배양 과정에서 식물체로의 제초제 흡수 및 색소체의 Protox 저해로 인해 광활성 물질인 PPIX이 축적되어 축적된 PPIX으로부터 광에 의해 발생하는 singlet oxygen($^1\text{O}_2$)은 식물체 자체가 갖고 있는 방어기작에 의해 무독화되므로 원형질막의 파괴가 빨리 일어나지 않을 수도 있다¹⁸⁾. 그러나 singlet oxygen의 발생이 계속되면 이러한 방어기작에 의한 singlet oxygen의 무독화가 더 이상 이루어지지 않아 singlet oxygen에 의한 원형질막의 파괴가 일어나게 되고 그 결과 전해질의 누출이 증가하게 된다.

Protox 저해형 제초제를 10^{-6} 및 10^{-5}M 농도로 침지처리 후 24시간에 밀과 보리의 지질 과산화물 형성량은 그림 6과 같다. 지질 과산화 작용의 지표인 MDA의 생성은 이들 제초제 모두 10^{-6}M 처리에서는 밀과 보리간에 차이가 크지 않았으나, 10^{-5}M 처리에서는 밀보다 보리에서 훨씬 많은 MDA가 생성되었다. *李 등*¹⁴⁾도 OF 10^{-5}M 처리에서 밀보다 보리에서 MDA 생성량이 많았다는 보고와 본 연구는 일치하였고, paraquat에 감수성인 미국가막사리와 도깨비바늘은 내성인 쥐깨풀과 개갯냉이보다 MDA 형성량이 많았다고 하였다¹⁹⁾.

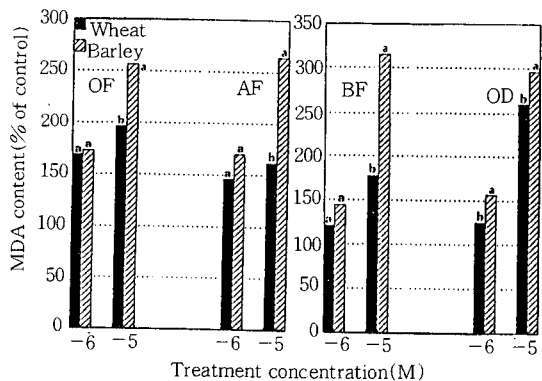


Fig. 6. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on malondialdehyde (MDA) production of wheat and barley. Analysis was conducted at 24 hr after treatment. The MDA content of untreated wheat and barley were 62.5 ± 7.2 , and 35.6 ± 4.3 nmols/g F. W., respectively.

2. ¹⁴C-oxyfluorfen 흡수 및 해부학적 변화

Protox 저해형 제초제에 대해 밀이 보리보다 경엽처리 및 토양처리에서 생체중과 엽록소 함량 감소, 전해물질의 누출과 MDA 형성량이 적었다. 이처럼 Protox 저해형 제초제가 밀에 대해서 내성을 보인 요인을 알아 보고저 밀과 보리의 경엽 부위에 ¹⁴C-OF을 30, 60, 120 및 240분 경과후 흡수량을 조사하였다(그림 7).

시간이 경과함에 따라 흡수량이 증가하였는데 OF에 감수성인 보리는 내성인 밀보다 흡수량이 많았다. 특히, 처리후 240분에는 밀과 보리의 흡수량 차이가 많았다. Guh 등⁷⁾과 鞠¹²⁾은 내성인 벼품종보다 감수성인 벼품종에서 흡수량이 많았다고 하였으며, Higgins 등⁸⁾도 acifluorfen과 lactofen에 내성인 *Ipomoea hederacea*보다 감수성인 *Ipomoea lacunosa*에서 흡수량이 많았다고 하였다. 또한 OD에 내성인 벼보다는 감수성인 피에서 흡수가 많았다는 보고¹⁷⁾와 본 연구는 유사한 경향을 보였다. 이러한 점으로 미루어 OF에 대한 밀의 내성은 약제의 흡수와 관계가 있는 식물의 표피층의 생리·생화학적 구성 및 기능상의 차이와도 관련하여 연구할 필요가 있다고 생각되었다.

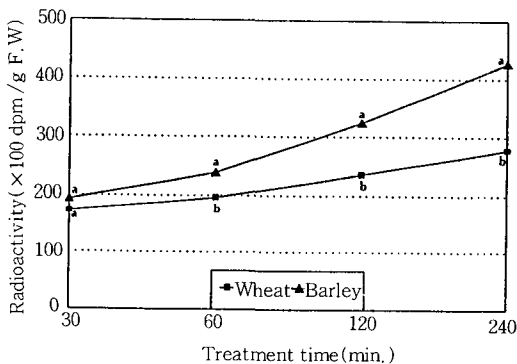


Fig. 7. Absorption of ¹⁴C-oxyfluorfen by shoots after ¹⁴C-1 μ M oxyfluorfen application. The shoots of treated plants were placed in acetone plus methanol (1:1, v/v) for 3 days at room temperature and radioactivity from the tissues was measured.

밀과 보리의 특이적 반응 차이가 표면조직에 의한 차이인지를 알아 보고자 Protox 저해형 제초제를 100 μ M 농도로 처리후 12시간에 주사전 자현미경에 의해 검정한 결과는 그림 8과 같았다.

즉, 밀과 보리의 엽맥을 중심으로 검정한 결과, 내성인 밀은 이들 제초제에 대해 기공열 부위의 납질에 해부적 변화는 거의 없었다. 그러나 감수성인 보리에서는 이들 약제에서 해부적인 변화를 관찰할 수 있었고, OF 및 OD처리에서 납질의 손상이 많았다.

제초제에 대한 내성은 epicuticular층 납질의 양적, 질적 차이에 연유된다는 보고²²⁾와 鞠¹¹⁾은 Protox 저해형 제초제에 대해 내성인 벼품종보다 감수성 벼품종에서 기공열 부위의 납질의 손상 정도 차이가 유의적이었던 점으로 미루어 밀과 보리의 내성차이는 밀이 보리보다 표면조직이 발달하여 약제의 흡수가 적어 납질의 손상이 적었던 것으로 생각된다.

Protox 저해형 제초제 처리후 12시간에 해부학적 변화를 보면(그림 9), 감수성인 보리는 표피세포의 파괴를 관찰할 수 있었고, 엽육세포의 파괴 등으로 엽신의 두께가 감소하였다. 그러나 내성인 밀은 이러한 해부적인 변화가 적었다. 약제간 밀과 보리의 해부적 변화는 OF 처리에서 가장 컸고, OD>BF>AF 순으로 나타났다.

일반적으로 접촉형 제초제에 의한 피해는 엽육세포 파괴, 표층구조의 와해 등으로 요약할 수 있는데, 干²⁾과 鞠¹¹⁾은 OF에 내성인 벼품종보다 감수성 벼품종과 피에서 표피세포의 붕괴, 유관속초세포의 파손, 엽육세포의 위축 등이 심하다고 하였는데, 이것은 본 실험의 결과는 유사한 것으로 해석된다.

이상의 결과로 보아 OF에 내성인 밀은 OF와 작용기작이 유사한 AF, BF 및 OD에 대해서도 교차내성을 인정할 수 있었다. 다만, 약제간에 생리활성의 차이는 있었다. 이처럼 Protox 저해형 제초제에 대해 밀이 보리보다 내성을 보인 요인 중에는 약제의 흡수 및 해부학적 변화 이외에도 Protox 저해, PPIX 축적 및 항산화제 등의 연구가 수행되어 보다 명확한 내성요인을 찾아야 할 것으로 생각된다.

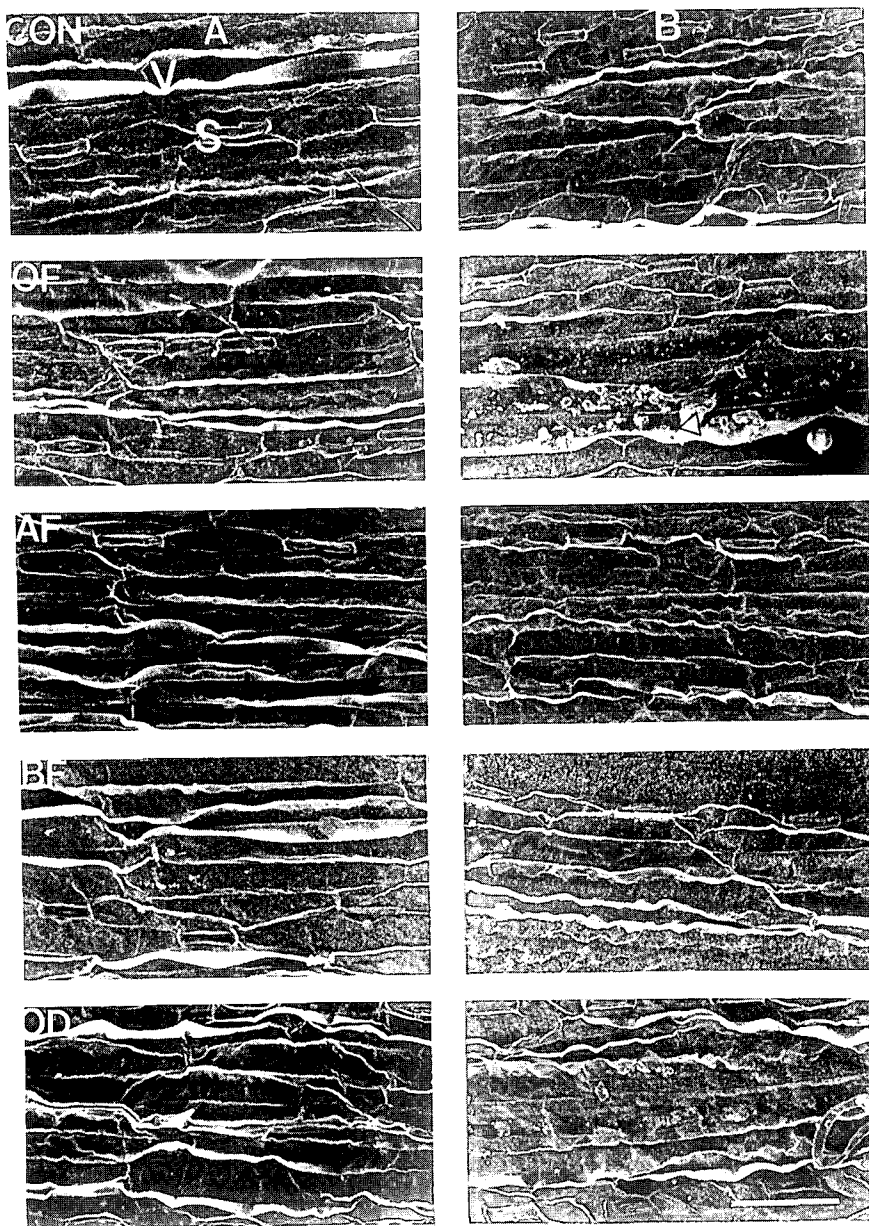


Fig. 8. Scanning electron micrograph of upper surface of wheat and barley at 12 hours after protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides treatment (100 μ M). A:Wheat, B:Barley, CON:Control, OF:Oxyfluorfen, AF:Acifluorfen, BF: Bifenox, OD:Oxadiazon, V:Vein, S:Stomata, \blacktriangle :Injury site, The bar represents 100 μ m.

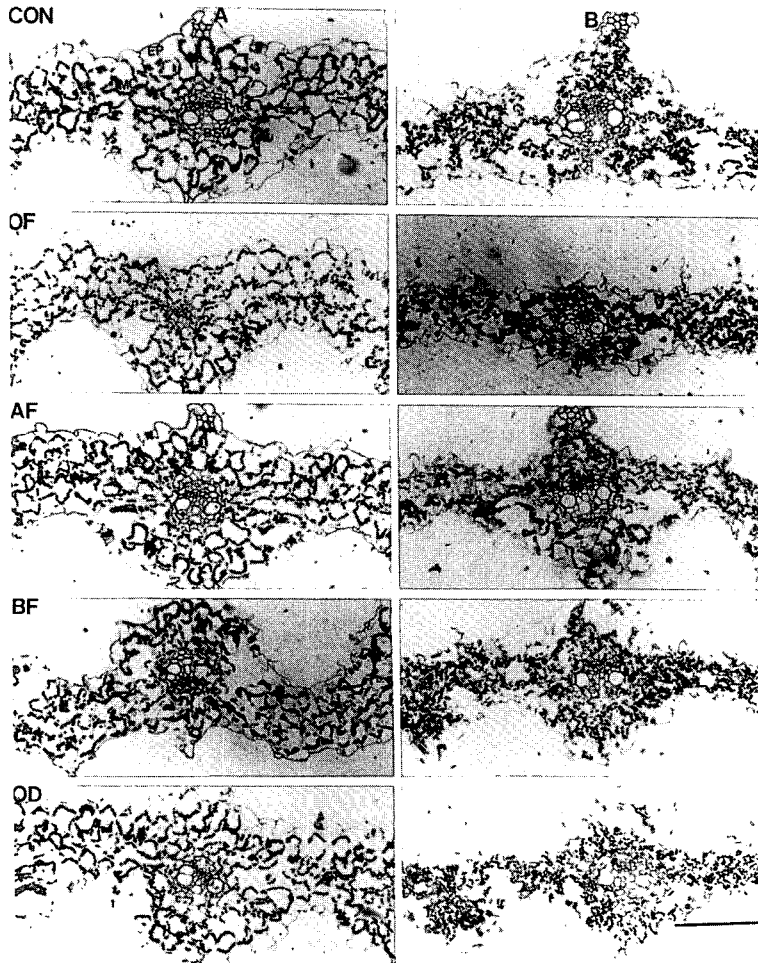


Fig. 9. Symptom development in transverse sections of cleaved leaf in wheat and barley at 12 hours after protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides treatment(100 μ M). A:Wheat, B:Barley, CON:Control, OF:Oxyfluorfen, AF:Acifluorfen, BF:Bifenox, OD:Oxadiazon, EP:Epidermal cell, MC:Mesophyl cell, BSC:Bundle sheath cell, The bar represents 10 μ m.

적 요

Protoporphyrinogen oxidase(protox) 저해형 제초제로 알려진 oxyfluorfen(OF), acifluorfen(AF), bifenox(BF) 및 oxadiazon(OD)에 대한 밀과 보리의 감수성 차이를 생리적 요인, 14 C-oxyfluorfen의 흡수 및 해부학적 변화를 온실

및 *in vitro* 상태에서 알아 보고자 하였다.

1. OF에 대한 밀과 보리의 품종간 I_{50} 검정결과, 밀품종들의 I_{50} 은 10^{-4} M의 진후를 보였고, 보리 품종들은 10^{-6} 진후로 유의적인 차이를 보였다.
2. OF에 내성인 밀은 AF, BF 및 OD경엽처리에서 감수성인 보리보다 생체중 및 엽록소 함량 감소가 적었다. 그러나 이들 제초제들은 OF보다 밀과 보리간에 특이적인 반응차이는 보이지

않았다. 또한, 토양처리에서도 경엽처리와 유사한 경향을 보였다.

3. OF, AF, BF 및 OD의 100 μ M 처리에 따른 밀과 보리의 엽절편으로부터 시간별 전해질의 누출은 밀보다 보리에서 뚜렷하게 이루어졌다. 그러나 OF처리에서는 밀이 보리보다 광노출 10시간까지 차이를 보였으나 그 밖의 약제들은 광노출 후 20시간에서만 차이를 보였다.
4. 지질과산화 작용의 지표인 MDA의 생성량은 이들 약제를 10⁻⁵M 농도로 처리시 밀보다 보리에서 많았다. 따라서 밀과 보리는 온실 및 *in vitro* 수준에서 Protox저해형 제초제에 대한 뚜렷한 감수성 차이를 보였다.
5. OF에 대하여 내성인 밀은 감수성 보리보다 ¹⁴C-OF의 흡수량이 적었고, 이러한 경향은 처리시간이 경과될수록 뚜렷하였다.
6. 밀은 OF 및 OD처리에 따른 잎표면의 구조적인 피해를 볼 수 없었으나, 보리는 낱질의 손상이 컸다. 그러나 AF 및 BF처리에서는 밀과 보리간의 차이가 적었다. 또한, 4약제 처리에는 따른 밀은 해부학적 변화가 적었으나, 보리는 표피세포 및 엽육세포의 파괴로 엽신의 두께가 감소되는 경향을 보였다.

LITERATURE CITED

1. Camadro J.M, M Matringe, R Scalla and P Labbe. 1991. Kinetic studies on protoporphyrinogen. *Biochem. J.* 277:17-27.
2. Chon S.U, J.O Guh, Y.M Lee and D.J Lee. 1988. Anatomical difference between two rice cultivars selected to oxyflourfen. *Korean J. Weed Sci.* 8(2):187-198.
3. Duke S.O, J Lydon, J.M Becerril, T.D Sherman, L.P Lehnen Jr and H Matsumoto. 1991. Protoporphyrinogen oxidaseinhibiting herbicides. *Weed Sci.* 39:465-473.
4. _____, _____ and P.N Paul. 1989. Oxadiazon activity is similar to that of p-nitro-diphenyl ether herbicides. *Weed Sci.* 37:152-160.
5. Finckh B.F and K.J Kunert. 1985. Vitamin C and E : An antioxidative system against herbicide-induced lipid peroxidation in higher plants. *J. Agric. Food Chem.* 33:574-577.
6. Frear D.S, H.R Swanson and E.R Mansager. 1983. Acifluorfen metabolism in soybean:Diphenyl ether bond cleavage and the formation of homogluthione, cystein and glucose conjugates. *Pestic Biochem. Physiol.* 20:299-310.
7. Guh J.O, Ishizuka and J.Y Pyon. 1988. Differential absorption and translocation of oxyfluorfen between selected rice cultivars. *Korean J. Weed Sci.* 8:37-44.
8. Higgins J.M, T Whitwell, F.T Corbin, G. E Carter Jr and H.S Hill Jr. 1988. Absorption, translocation and metabolism of acifluorfen and lactofen in pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) and ivyleaf morningglory (*Ipomoea hederacea*). *Weed Sci.* 36:141-145.
9. Jacobs J.M, N.J Jacobs, T.D Sherman and S.O Duke. 1991. Effect of diphenyl ether herbicides on oxidation of protoporphyrinogen to protoporphyrin organellar and plasma membrane enriched fractions of barley. *Plant Physiol.* 97:197-203.
10. Joy D.N and A.R Bell. 1992. Weed control in winter wheat, chemical fallow, and other crops with UCC-C4243. *Proc. West. Soc. Weed Sci.* 45:98.
11. Kuk Y.I, J.O Guh and J.Y Pyon. 1996. Different physiological activity of selected rice cultivars to diphenylether herbicide, oxyfluorfen, I. Different anatomical and ultrastructural responses. *Korean J. Weed Sci.* 16(1):54-63.
12. _____. 1995. Different physiological ac-

- tivity of selected rice cultivars to diphenylether herbicide, oxyfluorfen. Chonnam National University. Ph. D., Thesis. p. 173.
13. Lambert R, G Sandmann and P Boger. 1987. Mode of action of nitrodiphenyl ethers affecting pigments and membrane integrity. *Pesticide Chem.* 2:97-100.
 14. Lee H.J, H.S Choi, H.H Kwak. I.T Hwang, K.Y Cho and J.Y Pyon. 1996. Differential sensitivities wheat and barley to diphenyl ether herbicide oxyfluorfen. *Korean J. Weed Sci. Abstract.* 16(1):60-61.
 15. Matringe M, J. M Camadro, P Labbe and R Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target for diphenyl ether herbicides. *Biochem. J.* 260:231-235.
 16. _____ and R Scalla. 1987. Induction of tetraphyrrole accumulaion by diphenylether-type herbicides. *British Crop Protection Conference-Weeds*, 981-996.
 17. Nagi R.A, R.C Kirkwood and W.W Fletcher. 1984. Oxadiazon absorption, translocation and metabolism in rice(*Oryza sativa*) and barnyardgrass(*Echinochloa crus-galli*). *Weed Sci.* 32:727-751.
 18. Orr G.L and F.D Hess. 1981. Characterization of herbicidal injury by acifluorfen-methyl in excised cucumber(*Cucumis sativus* L.) cotyledons. *Pestic. Biochem. Physiol.* 16:171-178.
 19. Preston C, J.A.M Holtum and S.B Powles. 1991. Resistance to the herbicide paraquat and increased tolerance to photoinhibition are not correlated on several weed species. *Plant Physiol.* 96:314-318.
 20. Sherman T.D, M.V Duke, R.D Clark, E.F Sanders, H Matsumoto and S.O Duke. 1991. Pyrazole phenyl ether herbicides inhibit protoporphyrinogen oxidase. *Pesticide Biochemistry and Physiol.* 40:236-245.
 21. Slater T.F. 1984. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 105:283-293.
 22. South D.B. 1982. Relationship between amount of epicuticular wax and activity of oxyfluorfen on sweetgum leaves. In *Proc. 35th Ann Meet. S. Weed Sci. Soc.* 82:245.
 23. Wright T.R, E.P Fuerst, A.G Ogg TR and U.B Nandihalli. 1995. Herbicidal activity of UCC-C4243 and acifluorfen is due to inhibition of protoporphyrinogen oxidase. *Weed Sci.* 43:47-54.