

## Oxyfluorfen에 대한 담배의 연령별 생리적 반응\*

이희재\*\* · 신지산\*\*\* · 한성욱\*\*\* · 구자욱\*\*\*

### Physiological Responses of Tobacco(*Nicotiana tabacum* L.) Leaves of Different Age to Oxyfluorfen\*

Lee, H.J.\*\* , C.S. Shin\*\*\*, S.U. Han\*\*\* and J.O. Guh\*\*\*

#### ABSTRACT

Responses of tobacco(*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi) leaves of different age to diphenyl ether herbicide oxyfluorfen were evaluated with respect to cellular leakage, chlorophyll loss, and membrane lipid peroxidation. When tobacco leaves of different age were incubated under light condition at 25°C following 12hr dark incubation. Significant electrolyte leakage from the treated tissues into the bathing medium occurred. The change of electrolyte leakage was proportional to the oxyfluorfen concentration and the duration of light exposure to the tissues. Electrolyte leakage from the tissues treated with oxyfluorfen was highly dependent on the leaf age. From the tissues of younger age, more electrolyte leakage occurred and lag period was greatly reduced. Chlorophyll loss and membrane lipid peroxidation, as measured by malondialdehyde production, caused by oxyfluorfen treatment were also dependent on the age of treated leaf tissues. In conclusion, physiological responses of tobacco leaves to oxyfluorfen greatly varied with the age of treated tissues, and thus tobacco plants could be used as appropriate materials for studying the mechanisms of tolerance to diphenyl ether herbicides.

Key words : Cellular leakage, Chlorophyll, Lipid peroxidation, Oxyfluorfen, Tobacco

#### 서 언

Oxyfluorfen을 비롯한 diphenyl ether(DPE)계 제초제와 이와 구조적으로 관련된 여러 제초제들은 광상태하에서 식물체의 급격한 탈수와 탈색을 유지시킴으로써 제초 효과를 나타낸

다<sup>5,6,20</sup>. 이들 제초제의 작용점은 porphyrin 합성 과정에서 protoporphyrinogen IX(Proto IX)이 protoporphyrin IX(Proto IX)으로 산화되는 과정을 촉매하는 protoporphyrinogen oxidase(Protox)로 밝혀져 있으며<sup>6,17,24</sup> 이 효소의 저해로 축적되는 Proto IX은 광활성 물질로 작용하여 광상태하에서 분자산소로부터 일중항 산소(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

\* 본 논문은 농림부 첨단기술개발사업 연구지원에 의해 수행한 연구 결과의 일부임.

\*\* 전남대학교 생물공학연구소(Institute of Biotechnology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

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

⟨'98. 2. 7 접수⟩

를 발생시켜 지질과산화작용을 일으킴으로써 세포막을 파괴하고 궁극적으로 식물체를 죽게 한다<sup>2,5,9,20</sup>.

이러한 DPE계 제초제를 처리한 식물체에는 광상태하에서 원형질막 파괴에 따른 세포내 구성물질의 누출, ethane과 malondialdehyde(MDA)의 과다 생성, ascorbic acid와 reduced glutathione 함량의 감소 및 엽록소와 카로티노이드의 파괴 등 전형적인 세포막 지질과산화작용의 결과들이 나타난다<sup>2,5,13</sup>.

현재까지 여러 가지 DPE계 제초제가 발견되었으나 이들 제초제의 선택성 폭은 매우 좁다. 이들 제초제는 과수나 관상수의 재배지에서 국부처리(direct treatment)용 제초제로 사용되며 이들 제초제에 내성을 보이는 몇 가지 작물에만 생육기에 사용이 가능하다<sup>4</sup>. DPE계 제초제에 대한 식물의 내성은 제초제 흡수의 차이<sup>1,18</sup>, 제초제의 대사<sup>7,10</sup>, 활성산소에 대한 방어<sup>8,21</sup> 및 Protogen IX의 Proto IX이 아닌 다른 물질로의 변환<sup>12</sup> 등 매우 다양한 기작에 의해 이루어진다. 식물종간에 발견되는 DPE계 제초제에 대한 내성 또는 감수성의 차이는 같은 종의 식물간에서 뿐만 아니라 한 식물체내에서도 나타날 수 있다.

본 연구는 DPE계 제초제인 oxyfluorfen에 의해 나타나는 세포내 구성물질의 누출, 엽록소 파괴, 지질과산화작용 등 전형적인 생리적 반응을 재배종 담배를 대상으로 하여 엽령별로 조사함으로써 한 식물체내에서 나타나는 oxyfluorfen에 대한 감수성의 차이를 비교하여 앞으로 DPE계 제초제에 대한 내성기작을 연구하기 위한 기초 자료를 얻을 목적으로 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 식물재료

원예용 상토와 vermiculite를 1 : 1(v : v)로 혼합한 토양을 담은 플라스틱 컵에 담배(*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi) 중자를 파종하여 30/20℃(주/야)의 온도조건과 16시간의 일장조건의 생

장상에서 발아시킨 후 균일한 발아세를 보이는 담배만 포트에 이식하여 30±3/20±3℃(주/야)의 온실조건에서 성장시켰다.

### 2. 세포내 전해물질의 누출

위의 온실조건에서 생육시킨 3~4엽기, 5~6엽기, 7~8엽기의 담배 잎을 cork borer를 이용하여 엽절편(4-mm 직경)을 만들고 각 50개씩을 5ml의 1% sucrose/1mM 2-(N-morpholino) ethane-sulfonic acid buffer(pH6.5)가 담겨져 있는 polystyrene Petri dish(6-cm 직경)에 옮긴 후, oxyfluorfen을 acetone으로 용해하여 원하는 농도가 되도록 Petri dish에 가하고 무처리구의 경우에는 같은 양만큼의 acetone을 가했다<sup>13,15</sup>. 이때 acetone의 최종 농도가 1%(v/v)를 넘지 않도록 하였으며, oxyfluorfen의 농도는 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1000μM로 하였다. Oxyfluorfen을 처리한 담배의 엽절편을 25℃의 성장상에서 12시간 동안 암배양한 다음 250μmol/m<sup>2</sup>/sec의 광을 조사하면서 전기전도도계(Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, IL, USA)를 이용하여 전해물질의 누출 정도를 2시간 간격으로 24시간 동안 측정하였다. Oxyfluorfen의 처리 농도에 따라 최초의 전기전도도값이 다르므로 시간에 따른 전기전도도의 변화를 수치로 나타내었으며, 처리구와 무처리구에서의 차이값을 oxyfluorfen에 의한 전기전도도의 증가로 표시하였다.

### 3. 엽록소 파괴

담배 엽절편의 배양과 oxyfluorfen의 처리는 전해물질의 누출을 측정할 때 사용한 방법과 동일하게 하였다. Oxyfluorfen을 처리한 담배의 엽절편을 25℃의 성장상에서 12시간 동안 암배양한 후 250μmol/m<sup>2</sup>/sec의 광을 24시간 동안 조사한 다음 Hiscox와 Israelstam의 방법<sup>11</sup>)을 사용하여 엽록소 함량을 측정하였다. 광을 조사한 후 Petri dish에 있는 엽절편을 배양액과 분리하여 여과지로 흡수시켜 시험관에 넣고 10ml의 dimethyl sulfoxide를 넣은 다음 실온의 압조건에 24시간 동안 두었다. 이때 엽절편의 엽록

소는 완전히 추출되었으며, 흡광분광분석기 (Beckman, UV-52)를 이용하여 645nm와 663nm의 파장에서 흡광도를 측정하고 다음의 식으로 엽록소의 함량을 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll(mg/l)} = (20.2 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times \text{dilution factor}$$

#### 4. 지질과산화작용

지질과산화작용은 thiobarbituric acid(TBA) 방법<sup>3,23)</sup>을 이용하여 MDA의 생성량을 측정함으로써 조사하였다. Oxyfluorfen의 처리 및 배양 조건은 전해물질 누출 및 엽록소 함량 측정시 사용한 조건과 동일하게 하였으나 이 경우에는 sucrose가 TBA와 반응하여 MDA의 측정을 간섭한다고 알려져 있으므로<sup>3,13)</sup> 배양액 조제시 sucrose는 첨가하지 않았다.

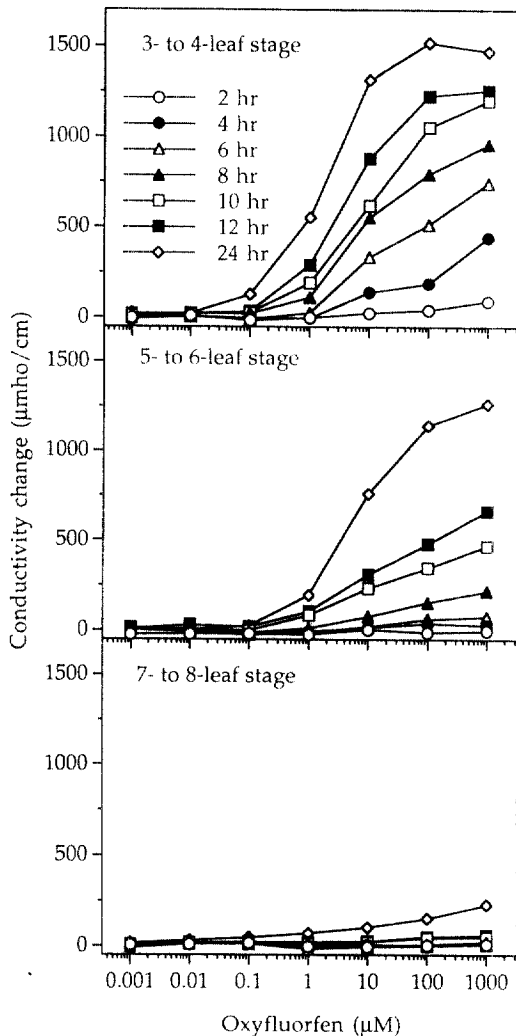
Oxyfluorfen을 처리한 담배의 엽절편을 25℃의 성장상에서 12시간 암배양한 다음 250 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/sec의 광도로 24시간 동안 광을 조사한 후 배양액과 엽절편을 분리하여 더 이상 oxyfluorfen에 의한 반응이 일어나지 않도록 MDA 생성량을 측정할 때까지 -80℃의 냉동고에 보관하였다. 냉동고에서 꺼낸 엽절편은 막자사발에 넣고 20% trichloroacetic acid에 0.5% TBA가 용해되어 있는 용액을 5ml 넣어 마쇄한 다음, 20,000g의 속도로 15분간 원심분리하여 상정액을 취하였다. 이 상정액을 100℃에서 25분간 끓인 다음 얼음에 넣어 냉각시킨 후 다시 20,000g의 속도로 15분간 원심분리하여 얻은 상정액을 흡광분광분석기를 이용하여 532nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 600nm의 파장에서 측정한 흡광도 값으로 보정하였다. 한편 배양액은 20% trichloroacetic acid에 0.5% TBA가 용해되어 있는 용액과 1:1(v/v) 비율로 하여 위와 같은 과정을 거친 후 흡광도를 측정하였다. MDA농도는 156mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>의 molar extinction coefficient를 이용하여 산출하였다<sup>3)</sup>. 산출한 배양액과 엽절편의 MDA 농도를 합하여 dish 당으로 환산하여 총 MDA 농도로 나타내었으며 처리구와 무처리구에서의 차이값을 oxyfluorfen에 의해 생성된 MDA의 양으로

하였다.

## 결과 및 고찰

DPE계 제초제는 식물세포의 원형질막에 손상을 일으켜 세포내의 구성물질을 누출시키므로 이를 정량적으로 측정함으로써 식물세포의 손상 정도를 평가할 수 있다<sup>2,13,16,22)</sup>. Oxyfluorfen을 담배의 엽절편에 처리하고 oxyfluorfen의 흡수 및 oxyfluorfen에 의한 Protox의 저해로 Protox IX의 축적이 충분히 이루어질 수 있도록 암조건에서 12시간 동안 배양한 후<sup>2,13,16,19)</sup> 광조건하에서 시간별로 전해물질의 누출을 측정하였다. 이와 같이 처리한 담배의 엽절편으로부터 이루어지는 전해물질의 누출은 암조건하에서는 일어나지 않았으나 광조건하에서 일정기간의 lag period를 거친 후 배양시간이 경과함에 따라 크게 증가하였다(Fig. 1). 이 lag period 동안에는 축적된 Protox IX으로부터 광에 의해 발생하는 일중항 산소가 식물체 자체가 갖고 있는 방어기작에 의해 무독화되므로 원형질막의 파괴가 일어나지 않으나<sup>19)</sup> 일중항 산소의 발생이 계속되면 이러한 방어기작에 의한 일중항 산소의 무독화가 더 이상 이루어지지 않아 일중항 산소에 의한 원형질막의 파괴가 일어나게 되고 그 결과 전해물질의 누출이 증가되는 것으로 생각되었다.

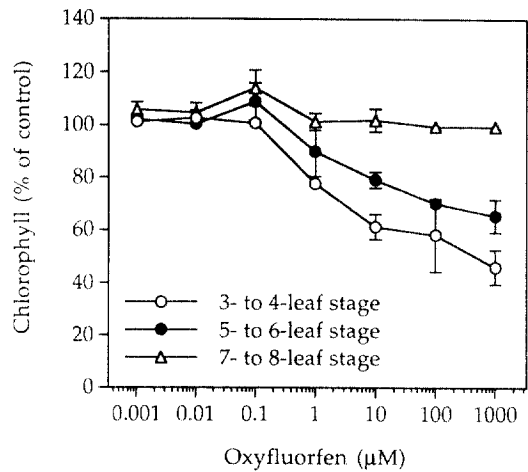
Oxyfluorfen에 의한 전해물질의 누출은 처리농도의 증가에 따라 증대되었으며 반응의 lag period도 단축되었다(Fig. 1). 담배 잎에 대한 oxyfluorfen의 효과는 엽령에 따라 크게 다르게 나타나 어린 잎일수록 전해물질의 누출이 뚜렷하였다. 광조건하에서 엽절편을 12시간 배양한 경우, 3~4엽기의 담배 잎으로부터는 0.1 $\mu$ M 이상의 oxyfluorfen의 농도 조건에서 전해물질의 누출이 이루어졌으나 5~6엽기의 담배 잎으로부터는 1 $\mu$ M의 oxyfluorfen이 처리되었을 때 나타났으며 7~8엽기의 담배 잎으로부터는 전해물질의 누출이 극히 미미하였다. 또한 전해물질 누출의 lag period도 3~4엽기의 담배 잎의 경우에는 2시간에 불과하였으나 엽령이



**Fig. 1.** Effect of oxyfluorfen on electrolyte leakage from tobacco leaf discs of different age up on exposure to continuous light at  $250\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$  at  $25^\circ\text{C}$  following 12hr dark incubation. Values are differences between treated and control tissues.

5~6엽기, 7~8엽기로 늘어날수록 각각 6시간, 12시간으로 크게 늘어남을 알 수 있었다(Fig. 1).

Oxyfluorfen에 의한 담배 잎의 엽록소 함량 감소도 엽령별로 어린 잎일수록 크게 나타났다(Fig. 2). 3~4엽기의 담배 잎의 경우에는  $10\mu\text{M}$ 의 oxyfluorfen 처리로 약 40%의 엽록소가 파괴되었으나 7~8엽기의 담배 잎의 경우에는

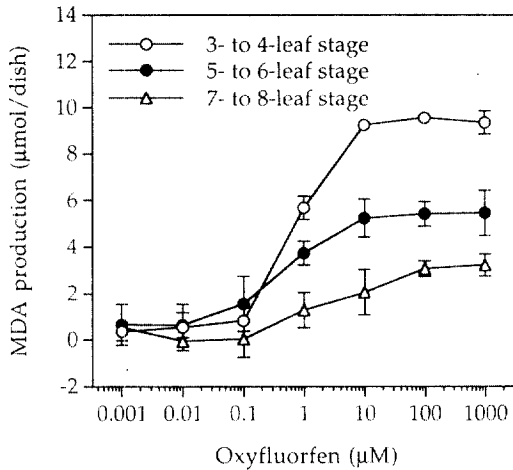


**Fig. 2.** Effect of oxyfluorfen on chlorophyll content of tobacco leaf discs of different age. The tissues were exposed to continuous light at  $250\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$  at  $25^\circ\text{C}$  for 24hr following 12hr dark incubation. Error bars are  $\pm 1$  standard error of the means. In some cases the error bar is obscured by the symbol.

oxyfluorfen에 의해 엽록소의 파괴가 이루어지지 않았다.

DPE계 제초제는 식물의 porphyrin 합성 과정의 중간물질인 Proto IX을 비정상적으로 과다 축적케 하는 것으로 알려져 있다<sup>2,5,6,16,20</sup>. Proto IX은 빛을 흡수하여 분자산소로부터 일중항 산소를 만드는 광활성 물질이다. 일중항 산소는 반응성이 매우 높아 전자가 많은 곳을 공격하게 되는데 세포막의 주요 구성 성분인 불포화 지방산을 공격하여 연쇄적인 지질과산화 작용을 일으키고 최종산물로 MDA와 ethane을 생성하게 한다<sup>5,9,23</sup>.

Oxyfluorfen의 처리에 의해 나타나는 이와 같은 세포막의 지질과산화작용의 지표로 MDA 생성량을 조사하였다. Oxyfluorfen에 의한 MDA의 생성량도 담배 잎의 엽령에 따라 크게 좌우되었는데 oxyfluorfen에 의한 전해물질의 누출이나 엽록소 파괴의 경우에서와 마찬가지로 3~4엽기의 어린 담배 잎에서의 MDA 생성량이 가장 크게 나타났으며 5~6엽기, 7~8엽기의 담배 잎의 순으로 MDA 생성량의 차이가 나타났다(Fig. 3). 3~4엽기의 담배 잎의 경우,



**Fig. 3.** Effect of oxyfluorfen on MDA production from tobacco leaf discs of different age. The tissues were exposed to continuous light at  $250\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$  at  $25^\circ\text{C}$  for 24hr following 12hr dark incubation. Error bars are  $\pm 1$  standard error of the means. In some cases the error bar is obscured by the symbol.

MDA의 생성은 oxyfluorfen을  $0.1\mu\text{M}$  이상의 농도로 처리했을 때 이루어졌으며  $10\mu\text{M}$  이상의 농도에서는 MDA 생성량이 더 이상 늘어나지 않는 경향이었다

이상의 결과에서와 같이 세포내 전해물질의 누출, 엽록소 파괴 및 지질과산화작용 등 oxyfluorfen에 의해 담배 잎에 나타나는 생리적 반응이 잎의 연령에 따라 크게 달라져 어린 잎일수록 oxyfluorfen의 효과가 크게 나타났다. 연령에 따라 한 식물체내에서 나타나는 oxyfluorfen에 대한 이러한 감수성 차이가 겨자(*Brassica hirta* Moench), 어저귀(*Abutilon theophrasti* Medik.), 나팔꽃(*Ipomoea lacunosa* L.) 등의 잡초와 오이(*Cucumis sativus* L.), 무(*Raphanus sativus* L.) 등의 작물에서도 보고된 바 있으나<sup>12,22)</sup> 담배 잎의 경우에서처럼 감수성의 차이가 수일 내에 뚜렷하게 나타난 예는 아직 보고된 바 없다.

DPE계 제초제의 작용기작은 색소체의 외막에 있는 Protox의 저해로 인해 이 효소의 기질인 Protogen IX이 색소체 바깥으로 이동된 후

원형질막에 존재하는 제초제 내성의 Protox 유사효소의 활성화에 의해 Proto IX으로 산화되며 광조건하에서 원형질막에 축적된 Proto IX으로부터 일중항 산소가 발생되어 원형질막이 파괴되는 것으로 알려져 있다<sup>6,14,16)</sup>. 이러한 작용기작을 근거로 생각해 볼 때 제초제의 흡수 및 대사와 같은 요인외에 이론적으로는 Protox 자체가 내성이거나 Proto IX을 덜 축적시키거나 또는 Proto IX으로부터 발생하는 일중항 산소를 소거시키는 능력을 지닌 식물에 경우에는 DPE계 제초제에 내성을 나타낼 것으로 추측할 수 있다. 그러므로 담배 잎이 연령이 늘어남에 따라 oxyfluorfen에 대해 내성을 나타내게 되는 이유는 벼(*Oryza sativa* L.)나 양파(*Allium cepa* L.) 등의 작물에서와 같이 DPE계 제초제가 잘 흡수되지 않는 잎의 구조<sup>1,18)</sup>로 발달하기 때문이거나, 콩과식물이 DPE계 제초제에 내성을 나타내는 것처럼 DPE계 제초제를 분해할 수 있는 glutathione-S-transferase 활성의 증대<sup>7,10)</sup> 또는 활성산소를 소거시킬 수 있는 ascorbic acid와 reduced glutathione의 함량 증대<sup>8,21)</sup>가 연령에 따라 이루어지기 때문일 가능성이 있다. 최근 Jacobs 등<sup>12)</sup>은 Protox 저해 이후에 색소체 바깥으로 이동한 Protogen IX을 파괴하는 활성이 겨자나 무와 같은 DPE계 제초제에 내성을 보이는 식물의 세포질에 존재하고 있어서 DPE계 제초제의 처리로 식물체내에 축적되는 Proto IX의 양이 다른 감수성 식물에 비해 적다고 하였다. 또한 Protogen IX을 파괴하는 이러한 활성이 연령에 따라 달라져 DPE계 제초제에 대한 감수성이 다르게 나타난다고 하였다. 그러나 Protox 자체가 DPE계 제초제에 내성을 보이는 식물은 아직까지 자연상태에서 보고된 바 없다<sup>4)</sup>.

본 연구에서 확인한 바와 같이 담배 잎은 다른 식물에 비해 연령에 따른 oxyfluorfen에 대한 내성의 차이가 뚜렷하게 나타나므로 담배는 연령이 늘어날수록 DPE계 제초제에 대한 내성을 나타내는 어떤 요인을 신속하게 구비할 수 있는 능력을 가지고 있는 것으로 추측된다. 이러한 관점에서 볼 때 담배는 DPE계

제초제에 대한 내성기작연구에 유용한 식물 재료로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

## 적 요

Diphenyl ether계 제초제인 oxyfluorfen에 의해 나타나는 세포내 구성물질의 누출, 엽록소 파괴, 지질과산화작용 등 전형적인 생리적 반응을 재배종 담배를 대상으로 하여 엽령별로 조사하였다. Oxyfluorfen을 담배의 엽절편에 처리하고 암조건에서 12시간 동안 배양한 후 광조건하에서 시간별로 전해물질의 누출을 측정한다. 암조건하에서는 전해물질의 누출은 일어나지 않았으나 광조건하에서 일정 기간의 lag period를 거친 후 배양시간이 경과함에 따라 크게 증가하였다. Oxyfluorfen에 의한 전해물질의 누출은 처리 농도의 증가에 따라 증대되었으며 담배 잎에 대한 oxyfluorfen의 효과는 엽령에 따라 크게 다르게 나타나 어린 잎일수록 전해물질의 누출이 뚜렷하였으며 반응의 lag period도 단축되었다. Oxyfluorfen에 의한 담배 잎의 엽록소 함량 감소와 malondialdehyde의 생성도 엽령에 따라 크게 좌우되어 엽령별로 어린 잎일수록 크게 나타났다. 이상의 결과에서와 같이 oxyfluorfen에 의해 담배 잎에 나타나는 생리적 반응이 잎의 엽령에 따라 크게 달라져 담배는 diphenyl ether계 제초제에 대한 내성기작연구에 유용한 식물 재료가 될 것으로 생각된다.

## 인 용 문 헌

1. Akey, W.C. and V.S. Machado. 1985. Response of onion(*Allium cepa*) to oxyfluorfen during early seedling development. *Can. J. Plant Sci.* 65 : 357-362.
2. Becerril, J.M. and S.O. Duke. 1989. Protoporphyrin IX content correlates with activity of photobleaching herbicides. *Plant Physiol.* 90 : 1175-1181.
3. Buege, J.A. and S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52 : 302-310.
4. Duke, S.O., H.J. Lee, M.V. Duke, K.N. Reddy, T.D. Sherman, J.M. Becerril, U.B. Nandihalli, H. Matsumoto, N.J. Jacobs and J. M. Jacobs. 1997. Mechanisms of resistance to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *In.* R. DePrado, L. Garcia-Torres and J. Jorrin(eds.) *Herbicide Resistance in Crops and Weeds.* Kluwer Publishers, Amsterdam, pp.155-160.
5. Duke, S.O., J. Lydon, J.M. Becerril, T.D. Sherman, L.P. Lehnen and H. Matsumoto. 1991. Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Weed Sci.* 39 : 465-473.
6. Duke, S.O., U.B. Nandihalli, H.J. Lee and M.V. Duke. 1994. Protoporphyrinogen oxidase as the optimal herbicide site in the porphyrin pathway. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 559 : 191-204.
7. Eastin, E.F. 1971. Fate of fluorodifen in resistant peanut seedlings. *Weed Sci.* 19 : 261-265.
8. Finckh, B.F. and K.J. Kunert. 1985. Vitamins C and E : An antioxidative system against herbicide-induced lipid peroxidation in higher plants. *J. Agric. Food Chem.* 33 : 574-577.
9. Foyer, C.H., M. Lelandais and K.J. Kunert. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.* 92 : 696-717.
10. Frear, D.S., H.R. Swanson and E.R. Mansager. 1983. Acifluorfen metabolism in soybean : Diphenyl ether bond cleavage and the formation of homogluthathione, cysteine, and glucose conjugates. *Pestic. Biochem. Physiol.* 20 : 299-310.
11. Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57 : 1332-1334.
12. Jacobs, J.M., N.J. Jacobs and S.O. Duke.

1996. Protoporphyrinogen destruction by plant extracts and correlation with tolerance to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 55 : 77-83.
13. Kenyon, W.H., S.O. Duke and K.C. Vaughn. 1985. Sequence of effects of acifluorfen on physiological and ultrastructural parameters in cucumber cotyledon discs. *Pestic. Biochem. Physiol.* 24 : 240-250.
  14. Lee, H.J., M.V. Duke and S.O. Duke. 1993. Cellular localization of protoporphyrinogen-oxidizing activities of etiolated barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves : Relationship to mechanism of action of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Plant Physiol.* 102 : 881-889.
  15. Lee, H.J., M.V. Duke, J.H. Birk, M. Yamamoto and S.O. Duke. 1995. Biochemical and physiological effects of benzheterocycles and related compounds. *J. Agric. Food Chem.* 43 : 2722-2727.
  16. Lee, H.J. and S.O. Duke. 1994. Protoporphyrinogen IX-oxidizing activities involved in the mode of action of peroxidizing herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 2610-2618.
  17. Matringe, M., J.M. Camadro, P. Labbe and R. Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target of diphenyl ether herbicides. *Biochem. J.* 260 : 231-235.
  18. Matsumoto, H., J.J. Lee and K. Ishizuka. 1994. Variation in crop response to protoporphyrinogen oxidase inhibitors. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 559 : 120-132.
  19. 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.
  20. Scalla, R. and M. Matringe. 1994. Inhibitors of protoporphyrinogen oxidase as herbicides : Diphenyl ethers and related photobleaching molecules. *Rev. Weed Sci.* 6 : 103-132.
  21. Schmidt, A. and K.J. Kunert. 1986. Lipid peroxidation in higher plants : The role of glutathione reductase. *Plant Physiol.* 82 : 700-702.
  22. Sherman T.D., J.M. Becerril, H. Matsumoto, M.V. Duke, J.M. Jacobs, N.J. Jacobs and S. O. Duke. 1991. Physiological basis for differential sensitivities of plant species to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Plant Physiol.* 97 : 280-287.
  23. Slater T.F. 1984. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 105 : 283-293.
  24. Witkowski, D.A. and B.P. Halling. 1989. Inhibition of plant protoporphyrinogen oxidase by the herbicide acifluorfen-methyl. *Plant Physiol.* 90 : 1239-1242.