

벼의 發芽後 生育, 細胞形態 및 根細胞膜 透過性에 미치는 BUTACHLOR와 1, 8-NAPHTHALIC ANHYDRIDE의 影響

全載哲 · 黃仁澤 · 韓民淑*

Butachlor and 1,8-Naphthalic Anhydride Effects on Post-Germination Growth, Anatomy and Root-Cell Membrane Permeability of Rice

Chun, J. C., I. T. Hwang and M. S. Han*

ABSTRACT

Effects of butachlor [N-(butoxymethyl)-2-chloro-2', 6'-diethyl acetanilide] and 1,8-naphthalic anhydride (NA) on post-germination growth, mesocotyl and root anatomy and root-cell membrane permeability of rice (*Oryza sativa* L.) were investigated. Lengths of mesocotyl and radicle were markedly decreased as the application rates of butachlor increased from 0.1 to 100 ppmW and NA from 1 to 100 ppmW, but there was no effect on coleoptile elongation. Application of butachlor-NA resulted in increase in coleoptile elongation, but decrease in mesocotyl elongation. Partial breakdown of cortical cells in root and mesocotyl was caused by either butachlor or NA treatments, resulting in increase in intercellular air space. Further increase in the intercellular air space of root and mesocotyl was obtained when butachlor was applied in combination with NA. Increase in root-cell membrane permeability occurred when either butachlor or NA was applied. However, butachlor-NA treatments resulted in reduction in the permeability.

Key words : butachlor, 1,8-naphthalic anhydride, anatomy, membrane permeability

緒 言

除草劑 butachlor는 α -chloroacetamide系에 속하는 土壤處理型 除草劑로서 水稻移秧栽培에서 뿐만 아니라 乾畝 및 灌水直播栽培 地域에서 대부분의 一年生 雜草를 비롯한 몇가지 廣葉雜草 및 莎草科 雜草의 防除에 우수한 效果를 나타내어 광범위하게 使用되고 있다. 그러나 벼에 대해서는 butachlor의 處理時期에 따라서 또는 藥劑處理 後의 環境條件에 따라서 때때

로 藥害가 發生되기도 한다.^{5,8)} 이러한 butachlor의 벼에 대한 藥害는 移秧畝에서 보다는 直播栽培 地域에서 더욱 크게 나타나는데 이것은 butachlor의 作用特性이 發芽抑制 및 幼苗의 初期生育抑制¹⁾ 作用때문이다.

除草劑의 藥害를 줄이기 위한 藥害輕減劑의 使用은 除草效果는 우수하지만 作物에 대한 藥害의 危險性이 있는 除草劑의 選擇性 幅을 넓혀주어서 作物의 除草劑에 대한 安全性을 높혀 줄 수 있다²⁾는 면에서 主目되고 있다. 이러한 目的으로 開發된 藥害輕

¹⁾本 論文은 1983年度 韓國科學財團支授 研究費로 遂行된 研究의 一部分.

*全北大學校 農科大學 農化學科.

* Department of Agricultural Chemistry, Jeonbuk National University, Jeonju 520, Korea.

滅劑는 數種에 이르며 이 중 현재 가장 광범위하게 사용, 研究되고 있는 것이 NA이다. Henry⁶⁾ Parker와 Dean¹³⁾ 및 Mabbayad와 Moody¹⁰⁾ 등은 NA를 벼에 使用하여 molinate, thiobencarb 및 butachlor 등의 處理로 나타나는 藥害를 輕減시켰음을 報告하고 있다. 그러나 이와같은 NA의 藥害輕減效果가 어떠한 作用性에 의해서 나타나는가에 대한 연구는 극히 制限的으로 이루어져 왔다. Hickey와 Krueger⁷⁾는 處理된 除草劑alachlor가 NA에 의해서 物理的으로 不活性化 되는 것이 아니라 生理的인 相互作用에 의해서 藥害輕減效果가 나타난다고 하였으며, Blair 등³⁾도 藥害輕滅劑가 除草劑로부터 作物을 保護하는 것은 단순히 植物體內로의 除草劑 侵透 移行을 妨害하여서라기 보다는 오히려 植物體內에서 吸收된 除草劑와의 反作用으로 植物을 保護한다고 하여 NA의 生理的 作用性을 示唆하였다.

本 研究는 除草劑 butachlor와 藥害輕滅劑 NA의 벼 幼苗 生育에 미치는 影響 및 butachlor와 NA의 相互作用에 의한 벼의 中莖과 根 細胞 形態와 根 細胞膜 透過性에 미치는 影響을 調査하여 그 作用性을 究明하고자 實施하였다.

材料 및 方法

實驗 1. 벼 幼苗의 生育에 미치는 影響

벼 種子(品種 IR 9575) 30粒을 Toyo No. 2 여자를 간 250ml용 삼각 후라스크에 넣고 butachlor 및 NA 용액 10ml를 加하였다. Butachlor 용액은 99.6%의 標準品을 먼저 소량의 에탄올에 녹인 다음 증류수로 희석하여 1%의 標準溶液을 만든 후 이것을 다시 희석하여 0, 0.1, 1, 10, 50 및 100ppmw butachlor 용액을 얻었다. NA 용액은 試藥用 1,8-naphthalic anhydride (Kanto Chemical Co.)를 증류수에 희석하여 1, 10, 50, 100ppmw를 만들었다.

Butachlor와 NA의 相互作用力은 藥劑處理後 最終濃度가 butachlor 0, 1 및 10ppmw와 NA 0, 10 및 100ppmw가 되도록 組合하여 處理하였다. 이들 溶液을 각 후라스크에 添加한 후, 후라스크는 고무마개로 막고 光이 차단된 32°C의 定溫器에 옮겨 發芽 生育시켰다. 이들을 藥劑處理 10日後에 中莖, 葉鞘 및 幼根長을 測定하였다. 이 實驗은 3회 연속으로 實施하였다.

實驗 2. 中莖과 根細胞 形態에 미치는 影響

所定濃度の butachlor 및 NA 용액에서 發芽 生育시킨 幼苗로부터 中莖과 幼根을 採取한 후 이를 Johansen⁹⁾의 方法에 따라 formaldehyde, acetic acid 및 ethyl alcohol의 混合溶液에 固定시켰다. 이 試料을 Sass¹⁵⁾의 方法으로 paraffine에 옮긴 후 회전식 microtome으로 10 μ 두께로 切斷하고, Haupt's adhesive⁹⁾로 glass slide 상에 固定하여 乾燥시킨 다음 Harris' Hematoxylin¹⁵⁾으로 染色하였다.

實驗 3. 根 細胞膜 透過性에 미치는 影響

發芽箱(33°C)에서 催芽시킨 벼 種子(品種 裡里350號)를 vermiculite가 담긴 포트에 播種하고 溫室(晝間 30°C, 夜間 17°C) 내에서 生育시켰다. 幼苗가 1.5葉期에 도달하였을 때 포트로부터 뿌리가 傷하지 않도록 조심스럽게 뽑은 다음 蒸溜水로 뿌리에 남아있는 vermiculite를 除去하고 미리 준비한 butachlor 및 NA溶液으로 옮겼다. 이때 使用한 butachlor 및 NA의 濃度는 0, 10, 50, 100 ppmw와 이들 濃度로써 두 藥劑間에 組合處理가 될 수 있도록 하였다.

Butachlor와 NA 溶液에 옮긴 幼苗들은 24時間동안 27°C, 光度 17.2 Wm⁻²의 栽培箱에서 生育시킨 후, 蒸溜水로 뿌리의 表面에 남아있는 藥劑를 洗滌하고 生體重으로 1g의 뿌리를 얻었다. 이 切斷 뿌리를 直徑 2cm의 시험관에 30ml의 蒸溜水와 함께 넣고 27°C의 栽培箱에서 1, 3, 5 및 24時間 후에 蒸溜水로 溶出되어 나온 電解質의 電導度(電導度計 YSI Model 31, Yellow Springs Instrument Co., Ohio, U. S. A.)를 測定하였다.

結果 및 考察

벼 幼苗의 發芽後 生育 벼 種子의 發芽後 中莖 伸長과 幼根 生育은 butachlor 處理 濃度の 增加와 함께 減少되었지만, 葉鞘 伸長에는 影響이 없었다(그림 1). 中莖과 幼根에 대한 50% 阻害를 나타내는 butachlor의 濃度는 각각 1ppmw 및 10ppmw로, 處理 除草劑에 대한 벼의 生育 反應은 中莖이 幼根보다 더욱 敏感함을 나타내었다. 이것은 中莖에 의한 除草劑의 吸收가 幼根보다 더 크기 때문인 것으로 생각할 수 있는데, Noriel과 Mercado¹²⁾는 butachlor에 의한 벼의 生育 阻害는 中莖과 葉鞘를 통해서 吸收시켰을 경우가 幼根으로부터 吸收시켰을 때보다 심하게 나타났었다는 報告와도 一致하고 있다. 그러나 葉鞘에 대한 butachlor 影響에는 濃度間에 뚜렷한

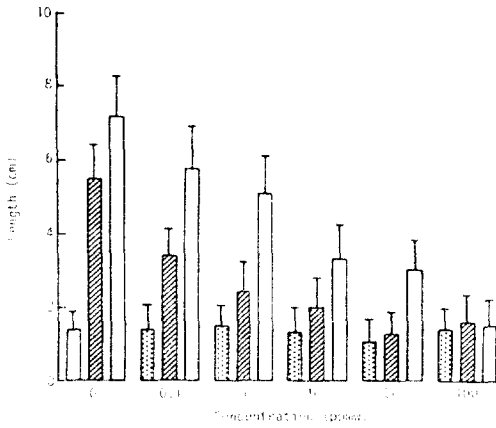


Fig. 1. Elongation of coleoptile () and mesocotyl () and radicle growth () of rice as affected by rate of butachlor application. Means and standard deviations are presented.

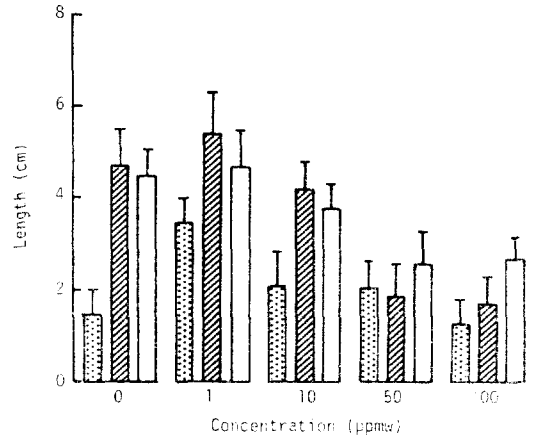


Fig. 2. Elongation of coleoptile () and mesocotyl () and radicle growth () of rice as affected by rate of naphthalic anhydride. Means and standard deviations are presented.

차이가 없었는데 이는 벼 種子가 發芽된 후 葉鞘은 中莖보다 늦게 伸長되므로,¹⁶⁾ 葉鞘에 의한 吸收이 적었기 때문인 것으로 생각된다.

除草劑의 藥害輕減劑인 NA의 處理가 벼의 發芽 生育에 미치는 影響을 보면 NA는 發芽에는 影響을 미치지 않지만(資料 提示 省略), 發芽後 生育에는 影響을 미치고 있었다. 中莖과 葉鞘의 伸長은 低濃度인 1ppmw가 處理된 때 促進되었던 반면에 NA의 濃度가 50ppmw로 增加됨에 따라 葉鞘 伸長은 약간 增大되나 中莖 伸長은 阻害되었다. NA 100ppmw 處

理에서는 葉鞘의 伸長 促進 效果는 없었으며, 中莖 伸長에 대한 阻害는 더욱 커지는 傾向이었다. 또한 幼根도 NA 處理에 의해서 抑制되는 傾向을 나타내었다(圖 2). 이와같은 結果는 藥害輕減劑로 開發된 NA 自體가 高濃度로 處理되면 벼에 對해서 生育 阻害 效果가 있음을 나타내는 것으로, NA에 의해서 藥害輕減 效果가 나타나는 것은 處理되는 除草劑와 NA의 相互作用에 의한 生理的 作用機作에 起因하는 것으로서, NA에 의한 處理 除草劑의 吸着에 따르는 不活性化와 같은 物理的 現象의 結果가 主된 機作의

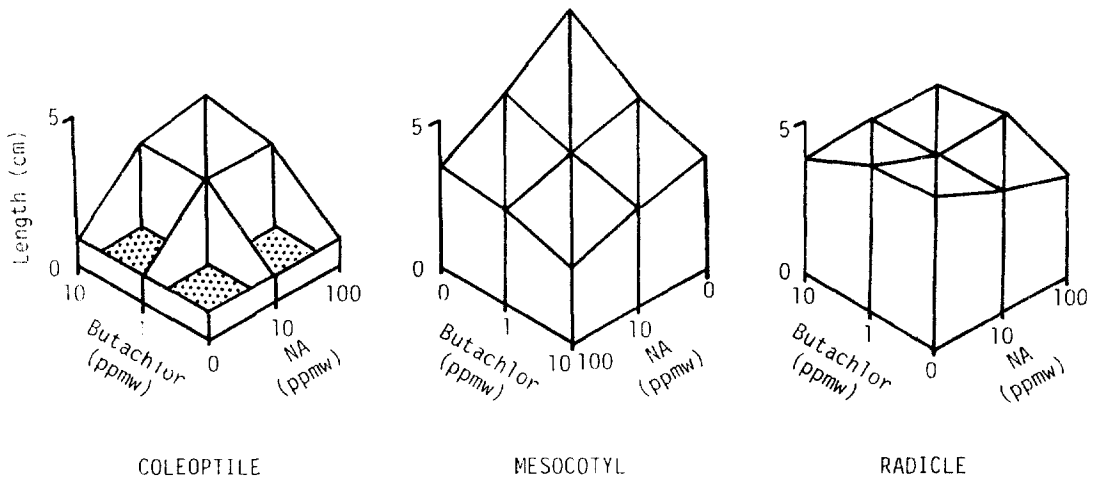


Fig. 3. Effect of butachlor and naphthalic anhydride (NA) on coleoptile and mesocotyl elongation and radicle growth of rice.

아남을 示唆한 것이라 할 수 있다.

Butachlor와 NA의 同時處理에 대한 벼 發芽後 生育에 미치는 이들의 相互作用은 벼 幼苗의 伸長에 影響을 미쳤다(그림 3). Butachlor와 NA를 組合하여 同時에 處理하면 이들을 單獨으로 處理하였을 때 보다 葉鞘의 伸長은 促進되지만 中莖의 伸長은 대신 減少되었으며, 幼根에 있어서도 butachlor에 의한 藥害가 NA 處理로 輕減되는 效果를 보였다.

Butachlor와 NA의 相互作用에 의한 中莖 伸長의 減少는 두 藥劑를 單一로 處理하였을 경우와 같은 傾向으로, 이는 두 藥劑 모두가 中莖 伸長을 抑制하였기 때문에 나타난 結果로 생각할 수 있다. 그러나 butachlor + NA 處理로 葉鞘 伸長이 促進되었던 것은 NA에 의한 效果로 認定할 수 있는데 이는 butachlor의 單獨處理가 葉鞘에 影響을 미치지 않았기 때문이다.

中莖과 根 細胞 形態 벼 中莖의 細胞形態(그림 4

A)는 butachlor의 處理로 皮層細胞가 部分的으로 파괴되어 細胞間空隙(Intercellular air space)이 커지는 傾向을 나타내었다. 그러나 表皮細胞, 內皮細胞 및 中心柱의 細胞形態에는 큰 影響이 없었다(그림 4 B). 이 細胞間空隙은 butachlor와 NA를 同時에 處理하면 더욱 크게 擴大되어 完全한 皮層細胞는 거의 찾을 수 없었다(그림 4C). 이러한 傾向은 根 細胞形態(그림 4D)에 있어서도 同一하게 나타나서 butachlor 處理는 皮層細胞의 파괴를 가져오며(그림 4 E), NA의 同時處理로 그 정도가 크게 增大되었다(그림 4 F). 한편 葉鞘에 대한 butachlor나 NA 및 butachlor+NA 處理에 의한 細胞形態의 變化는 없었다(그림 省略).

植物體의 吸收器官으로서의 뿌리는 그 全體 부피의 약 7~10%에 해당되는 部分이 水分이나 溶質 등이 自由롭게 通過되는 "free space"로, 이는 주로 細胞間 空隙과 皮層細胞壁으로 이루어져 있다.²⁾ 그러므로 處理된 除草劑가 뿌리를 통해서 吸收될 때 皮層內 側面까지의 移動은 自由로움기 때문에 비록 butachlor나 NA 處理로 正常的인 皮層細胞가 파괴되어 細胞間 空隙이 擴大되어도 이것이 除草劑의 吸收 移動에 直接的으로 影響을 미치는 것으로 생각되지는 않는다.

그러나 皮層細胞의 가장 內側에 存在하는 內皮細胞에는 그 細胞壁에 casparian 띠를 가지고 있어 이 로 말미암아 水分 및 外部에서 吸收 移動되는 溶質 등의 中心柱로의 自由로운 移動이 障礙를 받게 되므

로, 處理된 除草劑의 吸收 移動은 內皮細胞의 細胞膜을 通過하지 않으면 안된다.⁴⁾ 그러므로 뿌리를 통해 吸收된 butachlor가 生理作用에 影響을 미칠 수 있는 最初의 作用部位나 또 藥害輕減 效果를 나타내기 위한 NA의 作用 部位도 內皮細胞의 細胞膜이 一次的인 位置로 간주될 수 있다.

根 細胞膜 透過性 NA의 處理는 根 細胞膜의 透過性を 增大시켜 細胞內 電解質들을 細胞外로 溶出시켰다(表 1). NA 溶液에 침지시켰던 벼의 根細胞로부터 溶出되어 나온 電解質들의 電導度는 NA의 濃度가 增加함에 따라서, 또 溶出許容時間을 길게 함에 따라 增加하는 傾向이었다. 溶出許容時間을 1時間에서 24時間으로 增加시키면 電導度는 계속적으로 增加되어 NA가 10ppmw일 때 약 30%, 50ppmw일 때 약 55% 및 100ppmw일 때 약 70%가 增加되어 NA에 의한 細胞膜 透過성이 濃度에 依存됨이 明白하였다.

벼의 根 細胞膜 透過성은 butachlor의 處理에 의해서도 增加하였다. Butachlor 濃度가 增加함에 따라 電導度도 增加하였지만, 溶出許容時間別로 보면 處理後 3時間 以內에 대부분의 溶出이 이루어지고 그 後에는 24時間까지 완만한 增加를 보여 NA와는 다른 傾向을 나타내었다.

Table 1. Leakage of electrolytes from roots taken from rice plants at 24 h after treatment with different concentrations of butachlor and naphthalic anhydride.

Butachlor (ppmw)	Naphthalic anhydride (ppmw)	Solution Conductivity (μ mhos) Incubation Time (h)			
		1	3	5	24
0	0	13.8	14.2	14.3	14.8
	10	20.0	22.0	24.1	26.0
	50	19.5	21.3	22.9	30.2
	100	19.5	21.6	24.6	33.1
10	0	22.9	25.0	25.0	25.0
	10	22.0	22.5	19.3	27.8
	50	17.2	19.2	19.3	21.9
	100	16.7	17.2	19.0	20.0
50	0	29.2	32.0	33.0	33.8
	10	21.2	23.3	25.3	27.3
	50	18.2	19.6	21.0	23.0
	100	14.6	17.1	17.5	19.4
100	0	33.0	37.0	37.5	37.6
	10	23.5	32.0	32.0	34.0
	50	23.5	27.4	27.6	30.3
	100	19.0	19.6	20.0	22.0

Butachlor에 의한 根 細胞膜 透過性은 NA를 同時에 處理하면 減少하였는데, 各 butachlor 處理 濃度에서 NA의 混合 處理 濃度を 增加시키면 細胞膜

透過性은 減少되어, 溶出許容時間을 24時間으로 하였을 때 butachlor+NA 10+100ppmw의 電導度는 butachlor+NA 10+0ppmw의 것보다 20%가 減少

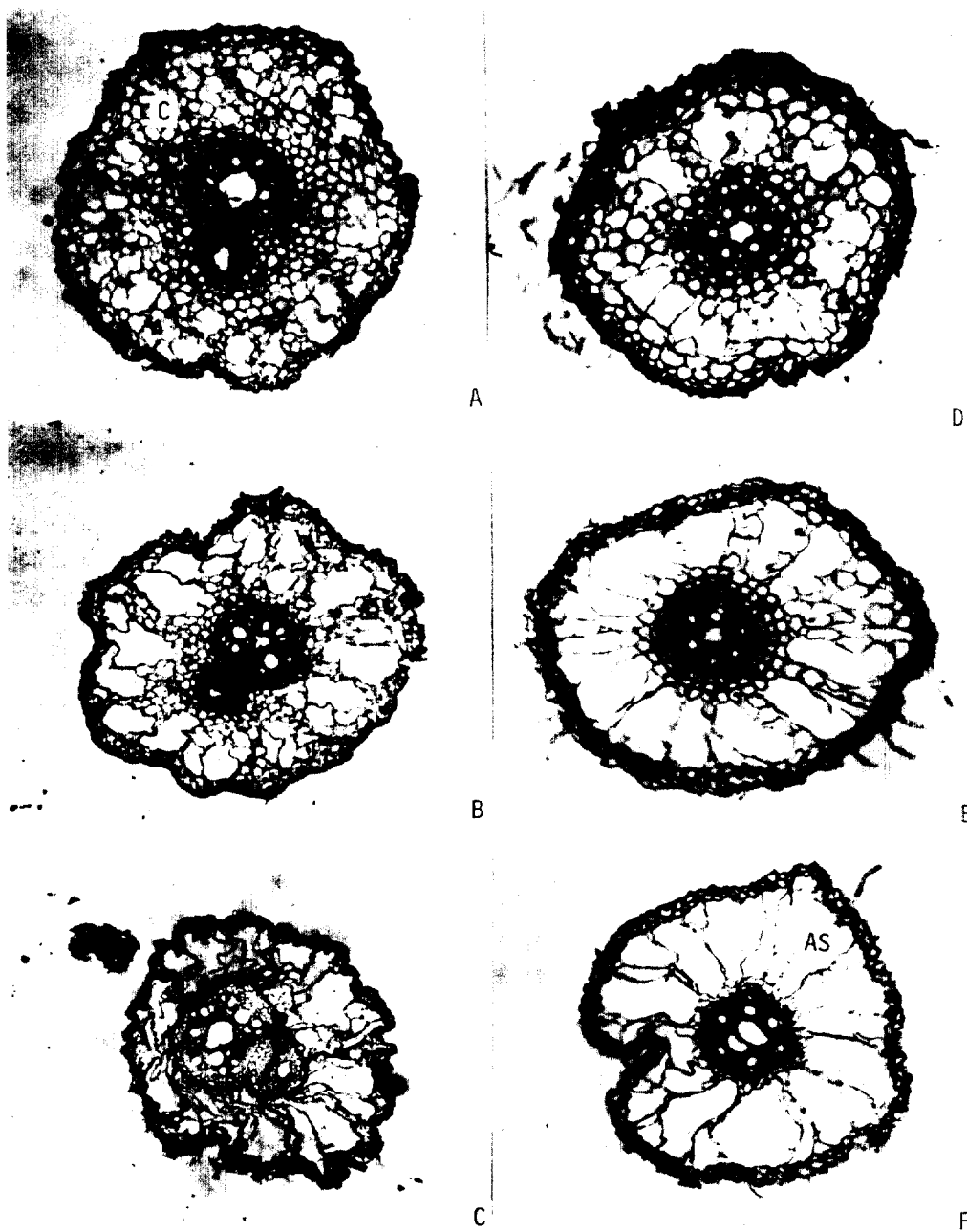


Fig. 4. Cross section of mesocotyl (x100) and root (x200) of rice. A, mesocotyl untreated; B, mesocotyl treated with 10 ppmw butachlor; C, mesocotyl treated with 10 ppmw butachlor + 10 ppmw NA; D, root untreated; E, root treated with 10 ppmw butachlor; F, root treated with 10 ppmw butachlor + 10 ppmw NA. C (Cortex), AS (Air space).

되었다. 또한 butachlor 50 및 100ppmw에 NA를
 組合시킨 경우에도 NA의 濃度を 增加하면 약 10%
 정도의 電導도가 減少되어 butachlor와 NA의 細胞
 膜 透過性에 대한 相互作用이 拮抗의 傾向을 나타내었
 다. Hickey와 Krueger⁷⁾는 수수에 대한 alachlor와
 NA의 影響을 檢討하여 NA에 의한 alachlor의 藥害
 輕減은 生理的인 作用의 結果로써, 이러한 輕減效果
 는 alachlor가 藥害를 나타내는데 伴하여 植物體
 內의 酵素에 대하여 NA 또한 制御中心的으로 作用
 하므로 이들의 單一處理는 각각 藥害를 가져오지만
 同時處理로써 NA가 이 酵素의 結合部位에 競合의
 으로 作用하여 alachlor가 이 作用部位에 結合될 수
 없도록 함으로써 藥害輕減 效果를 나타낼 것이라 하
 였다.

細胞膜의 透過性이 變化된다는 것은 細胞內外로의
 物質 移動에 關聯되어 있는 細胞膜의 完全性(Inte-
 grity)이 變化됨을 意味하는데, 이 경우 植物 細胞
 膜의 構造 혹은 機能에 影響을 미치는 것으로 생각할
 수 있다.^{11,14)} Butachlor와 NA의 相互作用에는 植物
 細胞膜의 構造에 대한 影響보다는 그 機能에 一次的
 으로 影響을 미치는 것으로 생각되는데 이것은 溶出
 許容時間內에서 電導도가 약간씩이나마 꾸준히 增加
 되고 있어 細胞膜의 生理的 機能이 減少되고 있음을
 나타내며 또한 外部形態의으로도 뚜렷한 藥害症狀이
 관찰되지 않았던 사실로도 이를 뒷받침 할 수 있었
 다. Morrod¹¹⁾는 除草劑 處理에 따른 植物體 外部의
 뚜렷한 藥害 症狀의 發現은 細胞膜의 破裂등에 따른
 構造의 變形에서 起因한다고 하였다.

摘 要

벼의 發芽後 生育, 中莖과 根 細胞形態 및 根 細胞
 膜 透過性에 대한 butachlor와 1,8-naphthalic an-
 hydride (NA)의 相互作用을 檢討하였다. Butachlor
 와 NA의 單一處理는 濃度の 增加와 함께 벼의 中莖
 및 幼根 伸長을 현저히 抑制시키지만 葉鞘에 대해서
 는 影響을 미치지 않았다. Butachlor + NA 處理로
 葉鞘 伸長은 增大되었지만 中莖 伸長은 減少되었다.
 Butachlor를 單一處理하면 中莖과 根 細胞의 皮層
 細胞가 部分的으로 파괴된 細胞間空隙이 形成되지만,
 NA를 同時에 處理하면 皮層細胞가 파괴된 細胞間
 空隙은 더욱 擴大되었다. 벼의 根 細胞膜 透過性은
 butachlor와 NA의 處理濃度 增加로 擴大되지만,
 butachlor + NA의 處理로 減少되는 傾向이었다.

引 用 文 獻

1. Ashton, F. M. 1981. Mode of action of herbi-
 cides. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
 525 p.
2. Bidwell, R. G. S. 1979. Plant Physiology. 2nd
 ed. Collier MacMillan, London. 726 p.
3. Blair, A. M., C. Parker and L. Kasasian. 1976.
 Herbicide protectants and antidotes-A review.
 PANS 22:65-74.
4. Bukovac, M. J. 1976. Herbicide entry into
 plants. p. 335-364. In L. J. Audus (ed) Herbi-
 cides: Physiology, Biochemistry, Ecology. vol.
 1. Academic Press, London.
5. Chang, W. L. and S. K. De Datta. 1974. Chemi-
 cal weed control in direct-seeded flooded rice
 in Taiwan. PANS 20:425-428.
6. Henry, C. S. 1972. 1,8-Naphthalic anhydride
 altered tolerance of rice to herbicides. Proc.
 25th Annu. Meet. South. Weed Sci. Soc.: 192.
 (Abstr.)
7. Hickey, J. S. and W. A. Krueger. 1974. Alachlor
 and 1,8-naphthalic anhydride effects on sorg-
 hum seedling development. Weed Sci. 22:86-90.
8. Imperial, E. M. 1980. Chemical weed control in
 direct-seeded rice (*Oryza sativa* L.) grown under
 puddled conditions. Philipp. J. Weed Sci.
 7:70-75.
9. Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique.
 McGraw-Hill Book Co., Inc., New York. 523 p.
10. Mabbayad, M. O. and K. Moody. 1982. Effect
 of time of application and the use of naphthalic
 anhydride on butachlor phytotoxicity in wet-
 seeded rice. Paper presented at the Cropping
 Systems Tuesday Seminar, Oct. 12, 1982, The
 International Rice Research Institute, Los
 Banos, Laguna, Philippines.
11. Morrod, R. S. 1976. Effect on plant cell mem-
 brane structure and function. p. 281-304. In
 J. L. Audus (ed) Herbicides: Physiology,
 Biochemistry, Ecology. vol. 1. Academic
 Press, London.
12. Noriel, L. M. and B. L. Mercado. 1981. Differen-

- tial response of IR 36 and C-168 rices (*Oryza sativa* L.) to butachlor. Philipp. J. Weed Sci. 8:25-29.
13. Parker, C. and M. L. Dean. 1976. Control of wild rice in rice. Pesticide Sci. 7:403-416.
14. Prendeville, G. N. and G. F. Warren. 1977. Effect of four herbicides and two oils on leaf-cell membrane permeability. Weed Res. 17:251-258.
15. Sass, J. E. 1958. Botanical microtechnique. The Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, 3rd ed. 228 p.
16. Yasue, T. and H. Kawai. 1977. On the mesocotyl elongation in the genus *Oryza*. Tokai Branch Report, Crop Sci. Soc. Japan 80:1-4.