

組織培養 方法을 利用한 除草劑 作用性 및 除草劑 抵抗性 檢定方法 研究

金純哲, 李壽寬, 鄭根植*

Tissue Culture Method as a Possible Tool to Study Herbicidal Behaviour and Herbicide Tolerance Screening

Kim, S. C., S. K. Lee and G. S. Chung*

ABSTRACT

A series of laboratory and greenhouse experiments were conducted to find out the possibility of tissue culture and cell culture methods as a tool to study herbicidal behaviour and herbicide tolerance screening from 1985 to 1986 at the Yeongnam Crop Experiment Station.

For dehulled-rice culture, pure agar medium was the most appropriate in rice growth compared to other media used for plant tissue culture method. All the media but the pure agar medium resulted in growth retardance by approximately 50% and this effect was more pronounced to root growth than shoot growth.

Herbicidal phytotoxicity was enhanced under light condition for butachlor, 2,4-D, and propanil while this effect was reversed for DPX F-5384 and CGA 142464, respectively. And also, herbicides of butachlor, chlornitrofen, oxadiazon, and BAS-514 resulted in more phytotoxic effect when shoot and root of rice were exposed to herbicide than root exposure only while other used herbicides exhibited no significant difference between two exposure regimes. Similar response was obtained from *Echinochloa crusgalli* even though the degree of growth retardance was much greater. Particularly, butachlor, 2,4-D, chlornitrofen, oxadiazon, pyrazolate and BAS-514 totally inhibited chlorophyll biosynthesis even at the single contact of root.

Apparent cultivar differences to herbicide were observed at the young seedling culture method and dehulled rice cultivars were more tolerant in DPX F-5384, NC-311, pyrazolate and pyraoxyfen, respectively. For dehulled rice culture, on the other hand, Japonica-type rice cultivar was less tolerant to herbicides of butachlor, propanil, chlornitrofen and oxadiazon that was reversed trend to young seedling culture test. Cultivar differences were also exhibited within same cultivar type. In general, relatively higher tolerant cultivars were Milyang 42, Cheongcheongbyeo, Samgangbyeo, Chilseoungbyeo for Tongil-type, Somjinbyeo for Japonica-type and IRSO for Indica-type, respectively.

The response of callus growth showed similar to dehulled rice culture method in all herbicides regardless of property variables. However, concentration response was much sensitive in callus response. The concentration ranges of 10^{-9} M - 10^{-8} M were appropriate to distinguish the difference between herbicides for *E. crusgalli* callus growth. Among used herbicides, BAS-514 was the most effective to *E. crusgalli* callus growth.

* 嶺南 作物 試驗場

* Yeongnam Crop Experiment Station, Milyang 605, Korea.

Based on the above results, tissue culture method could be successfully used as a tool for studying herbicidal behaviour and tolerance screening to herbicide.

Key-words:

緒 言

除草劑는 1945年 2.4-D가 開發된 以來 지금까지 200餘種이 開發, 普及되어 農業生產에 있어 人力除草努力을 解放시켜 주는 劃期的인 成果를 達成하여 왔고 지금에는 全體 農藥市場의 約 40%를 차지하는 時點에 이르고 있으며,²⁶⁾ 앞으로 2000年代 農業生產을 考慮해 볼 때 除草劑의 位置는 더욱 크게 重要視 될 것으로 期待된다.

지난 40여년間의 除草劑 使用結果를 둘이켜 보면, 當初 바람직한 바 대로 좋은 成果를 가져 온 것이 事實이나 한편으로는 몇가지豫想하지 못한 問題點들을 惹起시키고 있다. 몇가지 擡頭되고 있는 問題點으로는 雜草群落型 變化, 環境污染, 抵抗性生態型 分化等을 들 수 있는데, 이 中에서 雜草群落型 變化와 環境污染 問題는 效果의 除草劑 使用方法 改善과 低毒性 新除草劑 및 純粹植物 除草劑 開發을 通하여 解決이 可能하나 除草劑에 對한 抵抗性生態型 分化面에 있어서는 보다 慎重하게 對處하여야 될 分野로 생각된다. 왜냐하면 自然生態系는 아무리 좋은 除草劑라 하더라도 모든 對象 雜草를 오랜 세월동안 完璧하게 防除할 것으로는 期待할 수 없기 때문이다. 例를 들면 作物栽培地에서 特定除草劑를 長期間에 걸쳐 使用하게 되면 必然的으로 特定除草劑에 抵抗性을 보이는 變種이 나타나게 된다. 만약의 경우 이와 같은 過程을 거쳐 大部分의 對象雜草들이 抵抗性을 가진다면 이를 雜草를 죽이기 위해서는 當初의 使用量 水準보다 越等히 多은 量을 使用하여야 하는데, 그러면 對象作物은 더 이상 살아남지 못하게 되는 結果를 招來하게 된다.

實際로 많은 研究者들에 의해 除草劑 抵抗性生態型 發達이 報告되고 있는데 主要對象 除草劑로는 2.4-D, paraquat, glyphosate, bentazone, amitrol, atrazine 等이 있다.^{1,4,5,13,14,19,25,29,32,35)} 이를 報告들에 의하면 特定除草劑에 抵抗性 變種이 나타날 때까지의 期間은 同一系統의 除草劑를 10回 以上的 連續使用이 必要하며, 일단抵抗性 變種이 나타나면當初 致死量의 8~10倍의 濃度에서도 50% 以下の 防除效果를 보일 뿐 아니라抵抗性 變種은 同一系統의

除草劑들에 對해서도 橫的인 抵抗性(cross resistance)를 보이는 경우가 많다고 하였다.¹⁴⁾ 이와 같은 點을 考慮하여 볼 때 除草劑 使用上 가장 바람직한 것은 特定除草劑에 對한 變種이 나타나기 前에 性質이 다른 除草劑들을 바꾸어 使用하는 方法과 아울러 根本의 으로 特定除草劑에 對한 抵抗性品種을 栽培하는 것이 될 것이다.

最近에는 植物組織 및 細胞培養方法을 利用하여 除草劑 抵抗性 細胞選拔 및 抵抗性品種 開發의 努力이 試圖되고 있고^{37,38)} 實제로 strawberry, potato, soybean, oilseedrape, sugarbeet, sunflower, safflower, turnip rape, cabbage, tomato, tobacco 等의 作物에서 成果를 얻고 있으며,^{7,8,9,11,15,16,17,18,19,20,27)} 또한 栽培되고 있는 경우도 있다.¹⁹⁾ 그러나 아직까지 벼에 關한 研究報告는 없는 實情이다.

한편 細胞培養 method에 의해 抵抗性細胞 또는 個體를 얻을 수 있었던 對象除草劑로는 terbutryn, metobromuron, bromoxynil, chlorsulphuron, sulphometuron methyl, glyphosate, amitrol, picloram, simazine, atrazine, bentazone, phemephidapharm, paraquat, diphenamid, 2.4-D, 2.4.5-T, 2.4-DB 等을 들 수 있다.^{7,16,19,27,32,36)}

本報告는 組織 및 細胞培養方法을 利用하여 除草劑作用性研究와 除草劑 抵抗性檢定의 可靠性을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 除草劑 作用性 研究

除草劑 作用性研究는 玄米培養 method을 利用하였으며 培養培地의 影響을 알기 위해 嶺南作物試驗場 벼 药培養에서 使用하는 N₆-Y₁培地와¹²⁾ 純粹 寒天培地에 洛東벼를 1986年 4月 19日에 播種하여 光狀態(1,500 lux)와 暗狀態로 區分하여 25℃로 10日間 試驗管에서 培養하였다. 벼 生育 影響은 地上部 길이와 地下部 길이를 區分하여 調査하고 아울러 生體重을 달았다. 本實驗의 結果 N₆-Y₁培地 自體가 벼 生育를 抑制하기 때문에 以後부터는 모든 玄米培養은 純粹 寒天培地를 利用하였다.

다음으로 除草劑 濃度反應試驗에서는 洛東벼와 三

剛벼를 利用하여 butachlor, propanil, bentazone, 2.4-D, chlornitrofen, DPX-F 5384, NC-311, CGA 142464, metsulfuronmethyl, pyrazolate, oxadiazon 等의 濃度를 $10^{-3} \sim 10^{-9}$ M範圍에서 處理하여 除草劑에 의한 地上部, 地下部 生育影響을 調查하였다.

光條件에 따른 除草劑 作用性 影響試驗은 除草劑濃度를 $10^{-3} \sim 10^{-7}$ M範圍로 調整하여 光狀態(1500 lux)와 暗狀態로 處理하였고 벼生育은 除草劑를 處理하지 않은 區에 對한 相對的生育量으로 表示하였으며, 吸收部位 影響試驗에서는 除草劑濃度를 10^{-4} M로 하여 殺菌된 玄米를 培地表面과 培地 0.5 cm 깊이에 播種을 하여 地上部와 地下部 生育量을 無處理區에 對해 相對的인 수치로 나타내었다. 마지막으로 볍씨播種深度 影響 實驗에서는 吸收部位 影響 試驗과 같은 方法으로 處理하였고播種深度만 0, -0.5 cm, -1.0 cm, -1.5 cm, -2.0 cm로 調節하였다.

除草劑 作用性研究에서 共通으로 使用된 試驗方法으로는 모든 試驗은 處理當 10回 反復으로 試驗管에서 이루어졌으며, 각 試驗管에는 必要濃度로 調節된 除草劑가 含有된 純粹寒天培地 10 ml를 넣고 玄米 또는 畈(*Echinochloa crusgalli*) 種子를 70% 알콜에 1~2分間 浸漬한 後 다시 1~2%의 NaOCl에 10~20分간 浸漬한 뒤, 滅菌水로 2~3回 洗滌하는 方法으로 消毒하여 置床하였다. 調查方法으로는 10個의 試驗管 中에서 比較的生育이 均一하고 汚染이 되지 않은 3個의 試驗管을 골라 地上部는 길이를 그리고 地下部는 모든 뿌리의 길이를 쟀어 總根長으로 나타내었고 아울러 株當 生體重을 달았다. 試驗項目當 試驗期間은 無處理區의 試驗管內 生育量을勘案하여 7~10日로 하였다.

2. 除草劑 抵抗性 檢定 研究

除草劑 抵抗性 研究는 幼苗檢定, 玄米檢定, callus 檢定으로 나누어 實施하였는데 幼苗檢定은 洛東벼, 三剛벼, IR 36 等과 같이 日本型 3品種, 統一模(日本型/印度型) 5品種, 印度型 3品種을 使用하여 우리나라 水稻作 除草劑로 많이 使用되는 butachlor, pretilachlor, thiobencarb, perfluidone, oxadiazon 과 最近에 開發된 新除草劑 DPX-F 5384, NC-311, pyrazolate, pyraoxyfen을 供試하였다. 耕作方法으로는 플라스틱 사각 pot(2.0×2.0 cm)를 使用하여 pot 當 催芽된 種子를 10粒씩 5回反復으로 播種하여 溫室에서 10日間 育苗한 後 10 ppm

으로 調節된 除草劑 溶液을 20 ml씩 處理하여 20日間 栽培하였다. 벼生育調査는 pot 當 生育反應이 均一한 5苗를 選定하여 地上部와 地下部를 區分하여 調査하였다.

한편 玄米檢定方法은 앞의 除草劑 作用性 研究方法과 같으며, callus 檢定方法은 洛東벼와 畈(*E. crusgalli*)의 種子를 利用하여 $N_6-Y_1 + 2.4-D 2mg/\ell +$ kinetin 0.2 mg/ℓ로 造成된 callus 誘導培地에서 誘起된 callus를 充分히 增殖시킨 後 除草劑 必要濃度로 調整된 $N_6-Y_1 + 2.4-D 2mg/\ell +$ kinetin 0.2 mg/ℓ 培地(洛東벼)와 MS + 2.4-D 2 mg/ℓ 培地(畠)에 試驗管別 約 10 mg의 callus를 移植하여 光狀態(1500 lux)와 暗狀態로 區分하여 25℃로 維持하였다. 移植後 約 30日(洛東벼)과 60日(畠)後에 callus 生體重을 달고 아울러 直徑을 쟀어 이를 두 要因을 同時에 考慮하여 無除草劑에 對한 相對生長量으로 表示하였다. 여기서도 앞에서와 마찬가지로 모든 處理區는 處理別 10個의 試驗管을 處理하여 그 中에서 生育量이 比較的 均一하고 汚染이 되지 않은 3個를 골라 調査하였다.

結果 및 考察

1. 除草劑 作用性 研究

除草劑 作用性研究를 위해 우선 玄米培養에 어떤 培地가 適合한 가를 究明할 必要가 있다. 一般的으로 植物 組織培養에 使用되는 培地는 Heller(1953), Nitsch & Nitsch(1956), White(1963), Murashige & Skoog(1962), Ericksson(1965), Gamborg, Miller & Ojima(1968), R₂(1973), N₆-Y₁(1986) 等이^{12,24)} 있으나 이 中에서 벼에 있어서는 그동안 研究된 結果를 보면 $N_6-Y_1 + 2.4-D (2 mg/\ell) +$ kinetin(0.2 mg/ℓ) 培地가 比較的 좋은 結果를 보인 것으로 알려져 있다. 除草劑 作用性研究에 있어서는 培地自體가 벼生育에 影響을 미쳐서는 올바른 試驗을 遂行하지 못하므로 벼生育에 影響을 주는 培地는 使用할 수 없게 된다. 本 試驗에서는 여러 種類의 培地를 豐備試驗을 通하여 實施한 結果 모든 種類의 培地가 다같이 벼生育에 크게 影響을 미치게 됨을 알았다. 따라서 이 中에서 代表의 N_6-Y_1 培地를 純粹寒天培地와 比較하여 본 結果 表 1과 같다. N_6-Y_1 培地는 光狀態나 暗狀態 다 같이 벼生育抑制效果가 뚜렷하였는데, 그 程度는 地上部生育抑制效果가 33~23%인데 반해 地下部의 뿌리生育抑制效果는 88~

Table 1. Comparison of the effects of media on rice growth between pure agar medium and N_6+Y_1 medium

Item	Light Regime	Pure Agar	N_6+Y_1	Percentage
Seedling height(cm)	Light	11.7	7.7	66
	Dark	7.5	5.8	77
Root length	Light	33.0	4.1	12
	Dark	26.3	5.7	22
Fresh weight(mg)	Light	87.3	57.3	66
	Dark	90.5	57.5	64
Relative growth rate(RGR)	Mean	100	51	

* Rice cultivar : Nacdongbyeo

* RGR = (relative height + relative root + relative weight)/3

* Experimental period : April 19 - May 1, 1986

Table 2. Concentration responses of butachlor on rice growth

Concentration (M)	Seedling height (cm)	Leaf number	Root number	Root length (cm)	Fresh weight (mg)	Relative growth rate
0	11.0	2.8	11	32.5	88.0	100
10^{-9}	10.8	2.8	11	29.4	88.1	98
10^{-8}	10.3	2.8	11	29.0	85.5	96
10^{-7}	10.0	2.5	11	27.9	80.0	91
10^{-6}	8.8	2.5	11	27.3	70.4	87
10^{-5}	7.6	2.5	11	25.5	68.0	83
10^{-4}	7.0	2.5	9	13.3	49.3	66
10^{-3}	3.3	1.8	9	8.2	40.5	49

* Medium : agar

* Temperature : 25°C

* Cultivar : Samgangbyeo

* Experimental period : July 6 - 18, 1986.

* Light : 1500 lux

78%로써 뿌리伸長이 크게抑制를 받고 있음을 보여 주었다. 以上의結果를 미루어 볼 때玄米培養에 있어서는 볍씨自體의貯藏養分으로 約 3葉期까지는 자랄 수 있기 때문에 뼈生育에影響을 미치는 기존培地를 使用하는 것보다는 오히려純粹寒天培地가 바람직한 것으로 생각되어 以後부터는 모든玄米培養 및雜草種子培養에서는純粹寒天培地를 使用하였다.

다음으로玄米培養方法이除草劑作用性研究에 어떤有利한點이 있는가를檢討할必要가 있다. 除草劑는處理에서부터植物體가吸收하여作用性을 나타낼 때까지는 많은土壤的要因(粘土含量, 有機物含量, 酸度等), 生物的要因(微生物) 및氣象的要因(光, 溫度, 濕度等)들의相互複合의in結果로 나타나기 때문에^{2,3)} 많은要因들中에서 어느 한가지要因만 달라져도最終的인除草劑作用性은 크게 달라지게 된다. 이와 같은點을 미루어 볼 때試驗管內에서의玄米培養方法은土壤의in要因과生物的要因을完全히

除去시킬 수 있을 뿐만 아니라氣象的要因을調節할 수 있고 또한地下部의生育影響을分明히把握할 수 있으므로除草劑作用性研究를 위해서는 좋은方法이 될 것으로 보여진다.

實際butachlor를利用한三剛벼의生育反應을表2에서 보면,濃度에따른生育反應이 대단히敏感하게 나타나고 있음을 알 수 있는데,生育要因中에서도草長과根伸長反應이뚜렷함을볼 수 있어玄米培養法의優越性을立證하여주고 있다. 여기에서 한가지考慮하여야 할點은玄米培養法에서處理後 몇일째調查를하느냐에따라벼生育影響은 많이 달라질 수 있다는 것이다.一般的으로 볼 때處理後 7~10日이면無除草劑區의 경우試驗管先端까지伸長하므로이時期를基準으로調查하는 것이 바람직하였다.

다음으로水稻用主要除草劑들에對한濃度反應을 좀더 구체적으로 살펴보면表3과 같다. butachlor의 경우 10ppm까지는地下部生育이顯著히抑制되

Table 3. Concentration responses of various herbicides on rice growth.

No	Herbicide	Growth (cm)	Concentration (ppm)				
			0	5	10	15	20
1	Butachlor	Shoot	7.5(100)	5.8 (77)	2.8 (37)	1.1 (15)	0.7 (9)
		Root	26.5(100)	10.8 (41)	6.8 (26)	6.5 (25)	4.2 (16)
2	Propanil	Shoot	7.6(100)	3.6 (47)	2.4 (32)	1.7 (22)	1.5 (20)
		Root	25.8(100)	5.8 (22)	6.8 (26)	0.7 (3)	0.6 (2)
3	Bentazon	Shoot	7.4(100)	8.0(108)	7.7(104)	8.0(108)	7.2 (97)
		Root	24.9(100)	22.4 (90)	20.8 (84)	18.9 (76)	20.0 (80)
4	2,4 - D	Shoot	7.7(100)	1.0 (13)	1.0 (13)	1.0 (13)	1.2 (16)
		Root	25.8(100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
5	Chlornitrofen	Shoot	7.7(100)	6.2 (81)	5.4 (70)	5.3 (69)	5.3 (69)
		Root	26.3(100)	13.0 (49)	16.6 (63)	11.5 (44)	9.9 (38)
6	DPX 5384	Shoot	8.6(100)	9.2(107)	8.7(101)	9.0(105)	5.8 (67)
		Root	27.8(100)	27.0 (97)	20.0 (72)	17.6 (63)	8.5 (31)
7	NC - 311	Shoot	8.7(100)	8.6 (99)	9.0(103)	8.9(102)	7.2 (83)
		Root	26.3(100)	25.6 (97)	28.4(108)	23.5 (89)	21.6 (82)
8	CGA 142464	Shoot	8.6(100)	8.6(100)	8.7(101)	9.0(105)	7.4 (86)
		Root	24.3(100)	24.8(102)	26.1(107)	26.0(107)	23.9 (98)
9	Metsulfuronmethyl	Shoot	8.8(100)	9.1(103)	8.8(100)	8.6 (98)	9.0(102)
		Root	24.7(100)	24.4 (99)	22.7 (92)	15.2 (62)	11.8 (48)
10	Pyrazolate	Shoot	8.7(100)	9.4(108)	9.1(105)	8.6 (99)	8.9(102)
		Root	24.8(100)	24.1 (97)	26.4(106)	25.8(104)	14.5 (58)
11	Oxadiazon	Shoot	8.5(100)	5.1 (60)	4.1 (48)	3.5 (41)	3.2 (38)
		Root	24.2(100)	7.6 (31)	8.0 (33)	7.8 (32)	4.0 (17)

*() : index

* Cultivar : Samgangbyeo

* Experimental period : July 5 - 15, 1986.

며 그 以上의 濃度에서는 오히려 地下部 生育이 더 抑制되었으며, propanil 的 경우는 全濃度에서 地上部 보다 地下部 生育이 더 크게 抑制받은데 반해 같은 光合成 抑制劑인 bentazon 은 20 ppm 까지에서도 生育에 影響을 주지 않았다. chlornitrofen과 oxadiazon 도 propanil 과 비슷한 反應을 보였는데 뿐生育抑制 程度는 propanil > oxadiazon > chlornitrofen 順이었다. 2,4-D 는 모든 濃度에서 뿌리伸長은 전혀 되지 않았고 幼芽伸長도 極히 低調하였을 뿐 아니라 葉緣素도 形成되지 않았다. 한편 最近에 開發된 sulfonyl urea 系 新除草劑인, DPX-F5384, NC-311, CGA 142464, metsulfuronemethyl 와 diazine 系인 pyrazolate 는 既存 水稻用 除草劑에 比해 대단히 높은 安全性을 보여 주고 있으며, 이 中에 서도 DPX-5384 > metsulfuronemethyl > pyrazolate 順으로 濃度가 높을수록 뿌리伸長 抑制 影響이 커졌다. 이들 除草劑들에 對한 뿌리伸長 抑制 效果는 이미 發表된 研究論文과 一致하고 있다.^{6,10,33,34)}

다음은 除草劑 行動에 미치는 光의 影響을 除草劑 反應 效果가 가장 잘 나타났던 10^{-4} M 濃度에서 調

查한 結果 表4에서 보는 바와 같이 除草劑 性質에 따라 다르게 나타나고 있다. 大體的으로 protein 生合成 抑制劑인 butachlor 와 RNA 生合成과 呼吸에 主로 關與하는 2,4-D 와 主로 光合成을 抑制하는 propanil 은^{2,3)} 暗狀態보다 光이 있는 狀態에서 뿐生育抑制 效果가 더 커졌는데 이것은 光이 있는 狀態에서의 活發한 吸收가 分解 代謝量보다 높은데 基因된 것으로 보여지며, 아미노산 生合成 抑制劑인 DPX-5384 와 CGA 142464 의 경우는 오히려 光이 있는 狀態보

Table 4. Degree of growth retardance of Nacdong-byeo as affected by herbicide in association with light regime

Herbicide (10^4 M)	Growth Retardance (%)	
	Light	Dark
butachlor	42	26
2,4 - D	84	53
propanil	43	16
DPX - 5384	0	28
CGA - 142464	12	21

* Data collected based on seedling height

* Experimental period : April 19 - May 1, 1986.

Table 5. Growth response of Samgangbyeo to various herbicides in association with seeding depth.

Herbicide (10 ⁻⁴ M)	0cm seeding			0.5cm seeding		
	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll
Control	12.8(100)	32.6(100)	+	12.9(100)	29.5(100)	+
Butachlor	2.0 (16)	17.7 (54)	+	0.5 (4)	0.8 (3)	-
Propanil	12.7 (99)	23.9 (73)	+	13.3(103)	19.2 (65)	+
Bentazone	10.9 (85)	31.4(96)	+	13.8(107)	34.6(117)	+
2,4 - D	1.1 (9)	0 (0)	-	1.3 (10)	0 (0)	-
Chlornitrofen	8.0 (63)	14.3 (44)	+	2.9 (22)	3.6 (12)	+
Oxadiazon	5.8 (45)	6.3 (19)	+	0.6 (5)	0 (0)	-
Pyrazolate	12.0 (94)	23.9 (73)	+	13.5(105)	27.3 (93)	+
BAS - 514	7.8 (61)	10.9 (33)	+	3.8 (29)	9.6 (33)	+
DPX - 5384	11.6 (91)	31.8 (98)	+	11.7 (91)	23.5 (80)	+
NC - 311	14.0(109)	26.2 (80)	+	10.1 (78)	25.9 (88)	+
CGA 142464	11.4 (89)	23.3 (71)	+	12.2 (95)	21.9 (74)	+
Metsulfuronemethyl	11.9 (93)	23.2 (71)	+	13.8(107)	27.3 (93)	+

* Experimental condition : 1,500 lux at 25°C, July 9-29, 1986

*() : Index * Chlorophyll : +; formed, - ; not formed, +- ; unclear

다暗狀態에서生育을 더抑制시켰는데 이것은 DPX-F 5384의 경우葉綠素가 있는 앞에서主로分解된다는報告를^{10,33,34)} 토대로하여 볼때 이들除草劑는光條件下의葉綠體에서分解되기 때문인 것으로推定된다.

한편除草劑吸收部位와生育과의關係를 알기 위해玄米를培地表面과 0.5 cm 깊이로播種하여 뿌리部位接觸과 뿌리+幼芽部同時接觸으로區分한結果表5(三剛벼)와表6(洛東벼)에서 보는 바대로除草劑性質에 따라 큰差異를 보이고 있다. 먼저三剛벼의 경우多少間程度의差異는 있으나 butachlor,

chlornitrofen, oxadiazon은根部接觸에比해根部와幼芽部가同時에接觸되므로서藥害發生이커지는것으로보아幼芽部가重要한除草劑吸收部位임을알수있고 2,4-D와 BAS-514는두處理方法間뚜렷한差異點을보이지않으나生育低害程度는2,4-D가越等히높았다. 앞에서와마찬가지로本處理區에있어서도2,4-D處理는뿌리伸長이停止되었다. 그외의除草劑들은두處理方法間에뚜렷한差異를보이지않으면서벼에對한安全性이매우높게나타났다. 그리고葉綠素形成에미치는除草劑影響으로는2,4-D處理區에서는전혀葉綠素가形成

Table 6. Growth response of Nacdongbyeo to various herbicides in association with seeding depth

Herbicide (10 ⁻⁴ M)	0cm seeding			0.5cm seeding		
	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll
Control	13.7(100)	39.7(100)	+	13.6(100)	32.2(100)	+
Butachlor	5.8 (42)	12.3 (31)	+	0.8 (6)	2.0 (6)	-
Propanil	13.5 (99)	29.0 (73)	+	13.4 (99)	25.4 (79)	+
Bentazone	12.4 (91)	33.5 (84)	+	11.8 (87)	23.8 (74)	+
2,4 - D	1.2 (9)	0 (0)	-	1.8 (13)	0 (0)	-
Chlornitrofen	7.4 (54)	14.6 (37)	+	1.7 (13)	5.3 (16)	+-
Oxadiazon	5.4 (39)	5.8 (15)	+	0.7 (5)	0.2 (1)	-
Pyrazolate	13.0 (95)	38.9 (98)	+	12.5 (92)	28.0 (87)	+
BAS - 514	6.7 (49)	9.2 (23)	+	6.3 (46)	11.2 (35)	+
DPX - 5384	12.2 (89)	36.7 (92)	+	14.3(105)	28.9 (90)	+
NC - 311	12.8 (98)	30.2 (76)	+	13.1 (96)	31.6 (98)	+
CGA 142464	12.3 (90)	37.8 (95)	+	13.9(102)	34.0(106)	+
Metsulfuronemethyl	10.9 (80)	33.8 (85)	+	13.4 (99)	27.5 (85)	+

* Experimental condition : 1,500 lux at 25°C, July 9-29, 1986

*() : Index * Chlorophyll : +; formed - ; not formed +- ; unclear

Table 7. Growth response of *Echinochloa crusgalli* to various herbicides in association with seeding depth.

Herbicide (10 ⁻⁴ M)	0cm seeding			0.5cm seeding		
	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll	Shoot(cm)	Root(cm)	Chlorophyll
Control	8.5(100)	6.2(100)	+	7.1(100)	5.4(100)	+
Butachlor	0.5 (6)	0.8 (13)	-	0.4 (6)	0 (0)	-
Propanil	3.4 (40)	1.4 (23)	+	0.9 (13)	0 (0)	+
Bentazone	5.3 (62)	3.4 (55)	+	1.6 (23)	0.8 (15)	+
2.4 - D	0.2 (2)	0 (0)	-	0.2 (3)	0 (0)	-
Chlornitrofen	0.6 (7)	0.3 (5)	-	0.3 (4)	0 (0)	-
Oxadiazon	0.4 (5)	0.6 (10)	-	0.3 (4)	0 (0)	-
Pyrazolate	0.9 (11)	3.2 (52)	-	0.6 (8)	2.8 (52)	-
BAS - 514	0.5 (6)	0 (0)	-	0.4 (6)	0 (0)	-
DPX - F 5384	7.9 (93)	5.4 (87)	+	1.0 (14)	0.4 (7)	+
NC - 311	7.8 (92)	5.3 (85)	+	0.9 (13)	2.5 (46)	+
CGA 142464	7.6 (89)	5.9 (95)	+	0.7 (10)	1.0 (19)	-
Metsulfuronemethyl	2.9 (34)	4.8 (77)	+	0.5 (7)	0 (0)	-

* Experimental condition : 1,500 lux at 25°C, July 9-29, 1986

*() : Index * Chlorophyll : + ; formed, - ; not formed, +- ; unclear

Table 8. Effect of seeding depth on herbicidal activity.

No	Herbicide (10 ⁻⁴ M)	Item	Seeding depth(cm)					No	Herbicide (10 ⁻⁴ M)	Item	Seeding depth(cm)				
			0	-5	-1.0	-1.5	-2.0				0	-5	-1.0	-1.5	-2.0
1	Butachlor	Shoot	66	3	5	6	10	7	NC-311	Shoot	100	113	64	40	48
		Root	54	0	0	0	0			Root	103	75	46	42	0
		M	60	2	3	3	5			M	102	94	55	41	24
2	Propanil	Shoot	96	32	6	9	17	8	CGA 142464	Shoot	104	116	56	57	59
		Root	92	10	0	0	0			Root	104	103	59	67	100
		M	94	21	3	5	9			M	104	110	58	62	80
3	Bentazone	Shoot	92	100	27	43	31	9	Metsulfuronemethyl	Shoot	90	103	110	57	45
		Root	113	102	14	11	0			Root	110	109	74	56	0
		M	103	101	21	27	16			M	100	106	92	57	23
4	2.4 - D	Shoot	11	18	21	32	48	10	BAS - 514	Shoot	99	94	57	30	52
		Root	0	0	0	0	0			Root	80	27	22	3	0
		M	6	9	11	16	24			M	90	61	40	17	26
5	Chlornitrofen	Shoot	60	27	14	21	38	11	Pyrazolate	Shoot	100	116	54	43	41
		Root	114	9	0	0	0			Root	113	97	38	17	0
		M	87	18	7	11	19			M	107	107	46	30	21
6	DPX - F 5384	Shoot	112	106	32	30	45	12	Oxadiazon	Shoot	21	10	5	8	17
		Root	115	93	27	0	0			Root	23	2	0	0	0
		M	114	100	30	15	23			M	23	6	3	4	9

* Rice cultivar : Samgangbyeo

* Culture condition : 1,500 lux at 25°C * Experimental period : July 1-15, 1986

되지 않았으며, chlornitrofen의 경우는 幼芽部十根部를 同時に 接触시키게 되면 거의 葉綠素가 形成되지 않았다. 以上과 같은 試驗結果는 洛東벼에서도 비슷한 順向이었다.

그러나 벼의 경우와는 달리 피 (*E. crusgalli*)에 있어서는 除草劑 反應이 크게 달라졌다. 表7에서 보는 바와 같이 butachlor의 경우는 根部接触만으로도 거의 완전히 피 生育을 抑制시켰으나, 幼芽部를 함께接觸시키므로서 抑制效果를 높일 수 있었으며, propanil과 bentazone의 경우는 벼의 경우와는 달리 幼芽부와 根部를 同時に 接触시키므로서 피의 生育抑制效果를 높일 수 있었다. propanil의 경우 벼 앞에는 propanil을 分解할 수 있는 分解酵素 arylacetylaminidase가 있으나 피에는 없다는 報告를³⁾根據로 할 때, 쉽게 説明이 可能할 것으로 본다.

觸시키므로서 抑制效果를 높일 수 있었으며, propanil과 bentazone의 경우는 벼의 경우와는 달리 幼芽부와 根部를 同時に 接触시키므로서 피의 生育抑制效果를 높일 수 있었다. propanil의 경우 벼 앞에는 propanil을 分解할 수 있는 分解酵素 arylacetylaminidase가 있으나 피에는 없다는 報告를³⁾根據로 할 때, 쉽게 説明이 可能할 것으로 본다.

2.4-D와 BAS-514의 경우는 根部接触만으로서

도 거의 완전히生育을抑制시켰으며, pyrazolate는根部와 幼芽部를 다같이接触하여도 根部單獨接触보다 더以上的抑制效果를 보이지 않았으며 地下部보다 地上부의生育抑制效果가 뚜렷하였다. 그 외의除草劑들은 根部와 幼芽部를同時に接触시킴으로써生育을 뚜렷이抑制시켰으며, 그 程度는 sulfonyl urea系除草劑인 DPX-5384, NC-311, CGA 142464, 및 metsulfuronemethyl에서顯著하였다. 한편 葉綠素形成에 미치는影響을 보면 根部接触에서는 butachlor, 2,4-D, chlornitrofen, oxadiazon, pyrazolate, BAS-514에서는 葉綠素가 전혀形成되지 않았으나 그外除草劑는正常的으로形成되었으며, 幼芽部과 根部의 同時接触區에서는 propanil, bentazone, DPX-5384, NC-311에서만正常的으로形成되었으나 그外除草劑에서는形成이되지 않았다. 다음으로는 幼芽部의吸收部位가 많을수록除草劑反應이 어떤것인지 알기위해 三刷拂을利用하여玄米를表面置床을包含하여地下2.0cm까지5cm間隔으로播種하였다. 그結果(表8), 大部分의 경우 幼芽部露出部位가 많을수록生育抑制效果가 커졌다. 그러나 bentazone, NC-311, metsulfuronemethyl 및 pyrazolate를除外한 모든除草劑에서는播種深度가 가장깊었던-2cm深度에서는 오히려生育抑制效果가減少되었는데 이것은播種depth가 깊을수록光의影響을 덜받기때문이아닌가생각된다.

2. 除草劑抵抗性検定研究

除草劑에對한벼品种의反應은品种의生態型에따라差異가큰것으로알려져있으며, 같은生態型내에서도品种의差異가있는것으로밝혀져있다. 대체로 지금까지알려진事實은日本型品种이統一型이나印度型品种에比해除草劑抵抗성이높은것으로나타났으며^{21,22,23,28,30)} 最近에는 Sulfonyl urea系의 DPX-5384는 오히려日本型보다統一型品种의抵抗성이높다고하였는데,^{33,34)} 이를抵抗性原理는吸收力差異에基因되는것이아니라植物體內의分解力差異에있는것으로밝혀졌다.

앞에서도言及한바와같이除草劑의藥害反應은여러가지復合的인要因에 의해나타나므로圃場實驗에의해서는正確한抵抗性判斷이어려울경우가많다. 지금까지試驗結果를보면成苗檢定이나種子檢定보다는幼苗檢定方法이比較的的反應이均一하고 뚜렷한傾向이었다. 따라서本實驗에서도幼苗檢定法

Table 9. Cultivar responses to herbicides in terms of relative growth rate.

Cultivar Group	Cultivar	Relative growth rate (%)								Mean
		butachlor	pretillachlor	thiobencarb	perfluorodone	oxadiazon	DPX-F5384	NC 311	pyrazolate	
Japonica	Nakdongbyeo	90bcd	79cd	87cd	72f	88b	80d	73d	90bc	83cd
	Somjinbyeo	105a	84ab	96b	80bcd	86bc	94bc	75cd	93b	84e
	Dongjinbyeo	92bc	81bc	103a	84ab	95a	92c	78c	85d	89cd
	Mean	96	81	95	79	90	89	75	89	90a
Ind./Jap.	Chilseoungbyeo	87def	76de	81f	70f	83cd	100a	90ab	100a	91bc
	Gayabyeo	90bcd	80c	90cd	80bcd	71e	98ab	91ab	99a	101a
	Samgangbyeo	88de	78cd	.82f	71f	81d	96b	89ab	91bc	93bc
	Tongil	87de	85a	98b	88a	83cd	98ab	92a	92b	102a
	Milyang 23	89cde	76de	96b	84ab	79d	100a	90ab	101a	101a
	Mean	88	79	89	79	79	98	99	97	98
Indica	IR 36	86ef	73e	81f	77de	83cd	91c	79c	87cd	77d
	IR 50	90b	79cd	91c	82ab	74e	94bc	79c	93b	90c
	TKM 9	84f	62g	83ef	79cde	74e	96ab	87b	93b	92bc
	Mean	88	71	85	79	77	94	82	91	86

* Seedling age : 10 days, * Herbicide concentration : 10 ppm.

과 玄米檢定法 및 callus 檢定法을 利用하여 보다 簡便하고 正確하게 除草劑 抵抗性을 檢定할 수 있는 方法을 模索하였다.

가. 幼苗檢定

表 9 는 現在 우리나라 水稻에 많이 使用되고 있는 主要除草劑와 最近에 開發된 몇 가지 優秀除草劑를 包含하여 品種 類型別로 除草劑 抵抗性을 檢定한 結果이다. 벼 生育은 除草劑 性質에 따라 地上部 및 地下部에 미치는 影響이 다르기 때문에 모든 要因을 同時に 考慮하여 綜合的으로 나타내기 위해 苗草長, 根長 및 生體重을 同時に 考慮한 3要因相對生育量(3 factors summed dominance ratio)으로 表示하였다.³¹⁾ 表에서 보는 바와 같이 現在 많이 使用되고 있는 butachlor, pretilachlor, thiobencarb 및 oxadizon의 경우는 지금까지 黑혀진 바와 같이 日本型 品種이 統一型이나 印度型보다 抵抗性이 높은 傾向이었으며, perfluidone의 경우는 差異를 보이지 않았다. 그러나 最近에 開發된 sulphonyl urea系 除草劑인 DPX-5384 와 NC-311 그리고 diazine系인 pyrazolate 와 pyraoxyfen의 경우는 오히려 反對의 傾向

으로 日本型 品種이 가장 抵抗性이 떨어졌다. 本試驗結果에서 보는 바와 같이 除草劑 抵抗性은 品種類型뿐 아니라 同一 類型內에서도 品種間 差異가 큰 것을 알 수 있다. 물론 除草劑 性質에 따라 差異가 있으나, 大體의 傾向으로는 日本型 品種中에서는 洛東벼가 東津벼나 慈珍벼에 比해 相對的抵抗性이 떨어지며, 統一型 品種中에서는 統一과 密陽 23 號가, 印度型 品種中에서는 IR 50이 相對的으로抵抗性이 높게 나타났다.

나. 玄米檢定

供試되었던 品種이 幼苗檢定의 品種과 同一하지 않은 關係로 橫의 傾向은 困難하나 大體의 傾向은 把握할 수 있었다. 表 10에서 보는 바와 같이 玄米培養 檢定에서는 幼苗檢定과는 달리 統一型 品種이나 印度型 品種이 오히려 日本型 品種보다 除草劑抵抗性이 높은 것으로 나타나 지금까지의 一般的의 概念과는 다른 結果를 招來하였다. 이러한 原因에 대해서는 實際히 說明할 수는 없으나 純粹寒天培地에서 無菌狀態로 7 ~ 10日程度 栽培를 하게 되면, 거의 純粹한 種子의 貯藏養分과 種根에 의한 生育이라 볼 수 있다. 이

Table 10. Cultivar tolerance to herbicide in dehulled rice culture method.

Cultivar	Relative Growth Rate					
	Butachlor	Chlornitrofen	Propanil	2,4-D	Oxadiazon	Mean
Indica/Japonica-type						
· Weonpoongbyeo	52e	87abc	75ef	11def	40g	53fg
· Milyang 42	81bc	88abc	95a	14cd	69bc	69ab
· Cheongcheongbyeo	89a	90ab	95a	13de	74ab	72a
· Milyang 23	78c	86abc	74ef	8fg	69bc	63cd
· Chilseoungbyeo	86ab	92a	90abc	12de	66cd	69ab
· Samgangbyeo	76c	86bc	92abc	13de	75a	68abc
Mean	77	88	87	12	66	-
Japonica-type						
· Somjinbyeo	64d	75e	80de	7gh	52f	56ef
· Gwangmyeongbyeo	65d	73e	78ef	6hi	38g	52fg
· Nacdongbyeo	78c	40f	58g	3hi	60e	48g
· Daecheongbyeo	80bc	83cd	72f	7gh	65cde	61de
· Mean	72	68	72	6	54	-
Indica-type						
· IR 36	75c	79de	88bc	11def	74ab	65bcd
· IR 50	79c	92a	94ab	26a	75a	73a
· TN 1	80bc	84bc	93ab	10efg	78a	69ab
· TKM 9	86ab	87ab	93ab	18b	63de	69ab
· BG 367-4	80bc	72e	86cd	17bc	60e	63cd
Mean	80	83	91	16	70	-

* Relative growth rate was based on the relative growth of shoot and root growth at two herbicide concentrations, 10^{-3} and $10^{-5}M$.

* Experimental period : Feb. 28 - March 10, 1986.

Table 11. Cultivar difference to herbicide between IR36 and IR50.

Herbicide and concentration (ppm)	IR 36				IR 50			
	Plant height (cm)	Root number	Root length (cm)	Chlorophyll (0-7)	Plant height (cm)	Root number	Root length (cm)	Chlorophyll (0-7)
Butachlor								
0	1.4	3	2.3	1.8	1.3	1	0.9	1.9
10	0.7	0	0	0	0.7	1	0.4	1.6
50	0.5	0	0	0	0.6	1	0.2	1.9
Thiobencarb								
0	5.6	5	4.5	0.8	7.3	5	2.7	1.8
10	1.7	0	0	0.5	1.1	1	0.2	2.1
50	0.7	0	0	0	0.9	1	0.1	1.5
2,4 - D								
0	6.3	5	2.4	1.6	6.0	6	3.7	1.4
10	3.5	0	0	0	3.1	0	0	0
50	2.9	0	0	0	2.6	0	0	0

려한 觀點에서 볼 때, 根本的으로 貯藏養分과 種根에 의한 生育은 正常의으로 獨立的인 生育을 할 때와는 다르지 않을까 생각된다.

다음으로 同一 品種類型에서의 品種間 差異를 보면 統一型 品種에서는 密陽 42 號 青青벼, 七星벼, 三剛벼 가 相對的으로 抵抗性이 높은 편이고, 日本型品種中에서도 洛東벼가 相對的으로 가장 弱한 品種이었으며, 印度型品種 中에서는 IR 50 이 IR 36이나 다른 品種에 比해 相對的으로 抵抗性이 높았다. 以上의 結果로 보아 幼苗檢定과 玄米檢定間에는 品種類型間의 反應은 反對의 傾向으로 나타났으나, 品種의 反應은相當히 비슷하게 보였다. 特히 品種의 反應中에서도 IR 36과 IR 50의 除草劑濃度反應에 있어서는 生育形質中에서도 葉綠素形成力에 큰 差異를 보였다(表 11).

다. Callus 檢定

最近 水稻作栽培에 있어서도 뜬자리와 機械移植畠에서 除草劑藥害被害가 每年 重要問題點으로 나타나 있어 除草劑側面에서는 보다 安全한 優秀除草劑開發이 要求되며, 品種育成側面에서도 除草劑에 對한抵抗性品種을 育成할 必要가 있다. 이와 같은 觀點에서 이미 콩, 고구마, 옥수수 담배, 토마토, 딸기^{7,8,9,11,15,16,17,18,20,27)} 등 主要 食糧作物과 所得作物에서細胞培養 및 組織培養 方法을 利用하여 除草劑抵抗性品種開發이 試圖되어 왔고 몇몇 作物에서는 實用化가 되고 있는 實情이나,¹⁹⁾ 벼와 같은 禾本科 作物에서는 아직까지 뚜렷한 進展을 보이지 않고 있다.

細胞培養이나 組織培養 方法에서 가장 바람직한 것은 細胞單位에서 나타나는 反應이 全體植物體에서도

같은 反應을 보여야 하고, 얻어진 callus에서 쉽게 植物體를 얻을 수 있어야 하며, 細胞 單位에서 選拔된 遺傳形質은 安定의으로 後代에 까지 傳達되어야 하는 것이다. 그리고 組織培養 方法이 除草劑 利用研究에서의 長點을 요약하여 보면 첫째, 적은 量의 細胞로 除草劑抵抗性 細胞選拔이 比較的 쉽고, 빠르며, 둘째, 特定除草劑들에 각각抵抗性을 보이는 몇개의 單細胞들을 細胞融合方法을 通하여 몇개 除草劑들에 對해 同時抵抗性을 보이는 品種開發이 可能하며, 세째, 除草劑作用性研究에서 均一하고 無菌狀態에서 除草劑와 細胞의直接的인 作用性을 究明할 수 있고, 네째, 自然圃場 狀態에서는 나타나지 않는 새로운抵抗性機構가 發현될 可能성이 있으며, 마지막으로 對象植物의 材料를 年中 保存이 可能하기 때문에 試驗上の 時間的 制約을 받지 않는다는 點을 들 수 있다.

한편 組織培養 方法에서도 몇가지 制限要因들을 推列할 수 있는데 그 代表의 例는 對象除草劑의 主作用性이 細胞單位에서 나타나야 한다는 데 있다. 즉 除草劑는 除草劑 性質에 따라 作用性이 다른데, 主作用性이 細胞分裂 및 伸長, 蛋白質合成, 呼吸作用에 影響을 미치는 경우는 組織培養 方法을 利用할 수 있으나 主抵抗性 要因이 吸收力 差異, 作用點까지의 移行性 差異, 그리고 主作用性이 光合成 滞害로 葉綠素가 必要한 경우 等에는 理論의으로 適用할 수 없다는 點이다. 또 다른 問題點으로 提示할 수 있는 것은抵抗性을 보인 callus에서 植物體를 얻었다 하더라도 이植物體가 除草劑에抵抗性을 보이는 경우와 보이지 않는 경우가 많다는 實情과抵抗性을 보이는 경우에

Table 12. Growth responses of Nakdongbyeo in dehulled rice culture and callus culture methods.

Butachlor concentration (M)	Dehulled Rice Culture						Callus Culture		
	Seedling height (cm)	Leaf no.	Root no.	Chlorophyll (0-10)	Biomass (mg/seedling)	Relative growth rate	Callus diameter (mm)	Callus fresh wt. (mg)	Relative growth rate
0	12.9	3.0	6.5	10	87.5	100	9.3	77.0	100
10^{-9}	11.0	3.3	5.3	8	98.0	97	11.3	57.0	98
10^{-7}	10.8	3.0	6.2	7	105.0	100	8.5	64.0	88
10^{-5}	2.2	2.0	5.5	7	40.0	54	8.5	27.0	64
10^{-3}	1.0	1.7	0	0	43.0	29	4.7	10.0	32

* Treatment ; December 24, 1985

* Measurement ; January 8 (dehulled rice culture) and January 24, 1986 (callus culture), respectively.

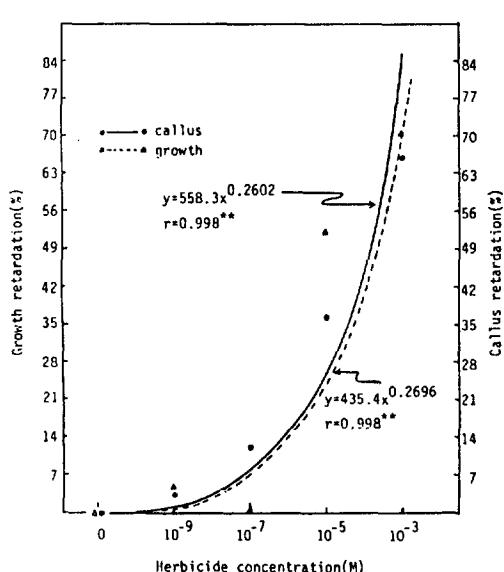


Fig. 1. Relationship between growth retardation and callus retardation in association with butachlor concentration.

는世代가經過될수록 抵抗性發現이徐徐히 없어지는 경우가 많고, 그리고 대부분의 경우, 除草劑에抵抗性을 보이는 生態型은環境適應力이 낮고, 環境利用에 있어서도 競爭力이 낮게 되는 경우가 많다는 것이다.

事實上에關해서는 몇몇 品種과 雜草를除外하고는 아직 쉽게充分한量의 callus를 얻기 힘들뿐만 아니라 callus에서植物體로의再分化效率도極히 낮아, 앞으로 解決되어야 할問題點들이 많이 남아 있다. 따라서 現時點에 있어서는 우선 몇가지 利用可能한 分野를 다루는 것이 바람직하다.

除草劑에對한 callus生育程度를通하여 除草劑

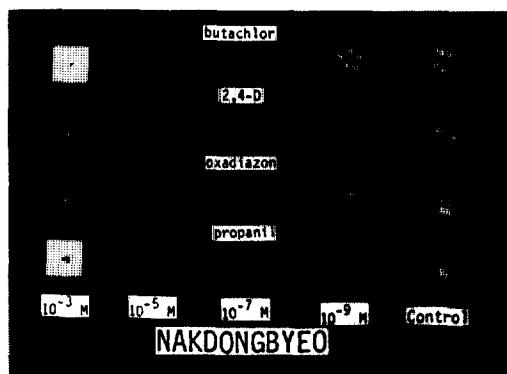


Fig. 2. Callus growth of Nakdongbyeo as affected by herbicides in association with concentration.

抵抗性程度를判定하기 위해 우선 butachlor를利用하여,玄米培養과 callus培養의結果를比較하여 보면表12 및 그림1의 두方法 다같이 거의비슷한濃度反應을 나타내었으나 특히低濃度에서의反應敏感性은 callus檢定方法이 높았다. 다음으로는 몇가지性質이 다른除草劑들에對한callus濃度反應을表13과寫眞1에서볼수있다. 여기에서보는바와같이使用되었던4種의除草劑모두濃度反應이뚜렷하였는데 그中에서도 2,4-D의경우는極히낮은濃度인 $10^{-9}M$ 에서는오히려callus生育量을增加시키는結果를가져왔다. 또한지금까지主作用성이光合成抑制劑로알려진propanil의경우에서도뚜렷한濃度反應을보였는데 이것은2次作用性에基因된것으로보여진다.

다음으로는보다많은除草劑를利用하여濃度를 $10^{-9}\sim 10^{-3}M$ 의範圍에서callus培養反應과玄米培養反應을比較하였는데(表14), 앞에서의경우와같이모든除草劑가뚜렷한濃度反應을보였고,그리고

玄米培養反應보다 callus 生育反應이 더욱 뚜렷하게 나타났는데 그 程度는 特히 sulfonyl urea 系 除草劑에서 컸다. 以上의 結果로 보아 어떤 性質의 除草劑라도 主作用性에 基因하건 副作用性에 基因하건 뚜렷한 生育反應을 보이기 때문에 callus 培養 方法은

除草劑의 抵抗性檢定을 위해 좋은 한가지 方法이 될 수 있으리라 본다. 여기서도 한가지 考慮하여야 할 點은 어느 時點에 調査하느냐에 있다. 앞에서도 잠시 言及한 바와 같이 玄米培養 方法이든 callus 培養 方法이든 無處理區에 對해 相對的으로 生育量을 나타내기

Table 13. Callus growth of Nacdongbyeo as affected by various herbicides.

Herbicide	Callus	0	$10^{-9}M$	$10^{-7}M$	$10^{-5}M$	$10^{-3}M$
Butachlor	Diameter (mm)	14.4	9.5	9.0	8.0	4.2
	Weight (mg)	213.0	119.1	109.1	65.2	21.3
	Relative growth	100	61	57	44	20
2.4 - D	Diameter	8.6	9.5	9.6	4.3	2.7
	Weight	104.6	132.6	112.4	20.4	10.4
	Relative growth	100	119	110	35	21
Propanil	Diameter	9.0	9.0	8.1	5.6	5.0
	Weight	132.3	103.2	82.6	56.4	24.0
	Relative growth	100	89	76	53	37
Oiadiazon	Diameter	9.0	6.6	5.8	5.2	3.2
	Weight	132.3	52.8	47.0	28.9	12.4
	Relative growth	100	57	51	40	23

* Medium : M_6 -Y₁ + 2.4-D(2mg/L) + Kinetin(0.2mg/L)

* Experimental period : Feb. 17 - March 17, 1986

Table 14. Comparison of the growth responses between callus culture and dehulled rice culture.

Herbicide	Culture Regime	Relative growth (%)						
		10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	$10^{-3}M$
Butachlor	Callus	99	85	89	75	64	21	12
	Dehulled rice	95	96	89	82	74	53	28
Propanil	Callus	103	88	74	66	57	34	9
	Dehulled rice	104	102	105	103	75	69	5
Bentazone	Callus	105	96	72	70	65	56	18
	Dehulled rice	105	105	107	89	91	75	49
2.4-D	Callus	113	114	83	74	31	15	11
	Dehulled rice	104	76	72	36	7	5	4
Chlornitrofen	Callus	103	82	88	67	58	44	26
	Dehulled rice	101	74	55	57	53	54	31
Pyrazolate	Callus	107	89	75	74	58	44	12
	Dehulled rice	97	94	92	86	85	87	65
BAS-514	Callus	106	100	78	77	62	35	10
	Dehulled rice	104	94	65	67	65	40	15
DPX-F 5384	Callus	103	102	102	78	67	38	20
	Dehulled rice	100	103	106	102	84	83	87
NC-311	Callus	104	86	86	71	61	60	18
	Dehulled rice	103	92	93	95	95	88	63
CGA 142464	Callus	107	108	92	73	72	45	27
	Dehulled rice	103	103	104	98	93	86	28

* Media ; Callus culture : N_6 -Y₁ + 2.4-D 2mg/L + Kinetin 0.2mg/L

Dehulled rice culture : Pure agar

* Rice cultivar ; Nacdongbyeo

* Experimental period ; Callus culture : June 5 - July 8, 1986

Dehulled rice culture : May 28 - June 7, 1986.

Table 15. Callus growth of *Echinochloa crusgalli* as affected by herbicide in association with concentration under light condition.

Herbicide	Callus growth (%)	Concentration (M)						
		10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
Butachlor	Diameter	29	19	14	10	10	5	5
	Weight	6	6	4	4	3	1	0
	Relative Growth	18	13	9	7	7	3	3
Propanil	Diameter	23	14	10	10	10	5	0
	Weight	5	3	2	1	1	0	0
	Relative Growth	14	9	6	6	6	3	0
Bentazone	Diameter	67	43	43	29	23	10	5
	Weight	87	62	54	40	23	6	0
	Relative Growth	77	53	49	35	23	8	3
2,4 - D	Diameter	76	71	33	19	14	14	5
	Weight	81	60	59	7	7	4	3
	Relative Growth	79	66	46	13	11	9	4
Chlornitrofen	Diameter	71	33	19	23	19	5	0
	Weight	39	24	23	25	18	7	1
	Relative Growth	55	29	21	24	19	6	1
Pyrazolate	Diameter	48	24	29	29	14	10	3
	Weight	36	7	6	5	4	0	0
	Relative Growth	42	16	18	12	9	5	2
BAS-514	Diameter	29	23	19	14	10	5	0
	Weight	6	4	4	1	1	0	0
	Relative Growth	18	14	12	8	6	3	0
DPX-F 5384	Diameter	71	38	14	14	5	5	0
	Weight	71	18	3	4	3	3	2
	Relative Growth	71	28	9	9	4	4	1
NC-311	Diameter	71	38	23	19	19	14	14
	Weight	81	11	9	5	7	3	2
	Relative Growth	76	25	16	12	13	9	8
CGA-142464	Diameter	48	43	33	29	29	14	10
	Weight	72	53	40	25	19	15	4
	Relative Growth	60	48	37	27	24	15	7

* Experimental Condition ; Nacdongbyeo, light (1500/lux) at 25°C, June 24 - August 24, 1986

때문에 時間이 經過하면 할수록 濃度間의 反應 差異가 커지게 된다. 一連의 本實驗을 通해 玄米培養 方法에서는 無處理區의 苗草長이 試驗管 길이보다 길지 않는 範圍에서, 그리고 callus 培養 方法에서는 處理間 또는 濃度間 差異를 量的으로 表示가 可能한 時期로 보면 玄米培養에서는 7 ~ 10 日, callus 培養에서는 뼈의 경우는 約 30 日, 피 (*E. crusgalli*)의 경우는 50 ~ 60 日 程度가 適合하리라 본다.

다음은 마지막으로 피(*E. crusgalli*)에 對한 Callus 反應을 調查하였던 結果는 表 15 와 같다. 낮은 濃度에서의 callus 生育反應은 이미 밝혀진 植物體反應에서와 마찬가지로 禾本科雜草에 對한 殺草效果가 相對的으로 낮은 除草劑인 bentazone, 2,4-D, DPX-5384, NC-311, CGA 142464 에서는 피의

Callus 生育도 相對的으로 높았다. 그러나 除草劑濃度가 높아질수록 除草劑相互間의 差異는 적어졌으며, 大體로 10⁻⁷M 以上에서는 除草劑種類에 關係없이 모든 除草劑가 피의 callus 生育을 크게 抑制시켰으며, 供試除草劑 中에서 特히 BAS-514의 경우는 가장 낮은 濃度에서도 卓越한 生育抑制效果를 보여 優秀한 피 防除用 除草劑로 認定되었다. 다음으로 같은 光合性抑制型 除草劑인 propanil과 bentazone의 경우에 있어서도 피의 callus 反應은 이미 植物體反應에서 밝혀진 바와 같이 callus 生育抑制程度의 差異가 뚜렷하였다.

한편 callus 生育反應은 培養條件으로서 光의 有無에는 크게 影響을 받지 않는 것으로 나타났다. 表 15는 光(1,500 lux)이 있는 狀態로 培養한 結果이고 表

Table 16. Callus growth of *Echinochloa crusgalli* as affected by herbicide in association with concentration under dars condition.

Herbicide	Callus Growth (%)	Concentration (M)						
		10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
Butachlor	Diameter	50	39	28	11	11	0	0
	Weight	42	7	5	4	3	0	0
	Relative Growth	46	23	17	7	7	0	0
Propanil	Diameter	44	22	17	17	17	6	6
	Weight	33	11	4	1	1	0	0
	Relative Growth	39	17	11	9	9	3	3
Bentazone	Diameter	94	89	61	39	33	11	6
	Weight	90	41	65	26	16	0	0
	Relative Growth	92	65	63	33	25	6	3
2,4-D	Diameter	56	50	33	39	22	22	6
	Weight	45	38	16	16	5	5	0
	Relative Growth	51	44	25	28	14	14	3
Chlornitrofen	Diameter	83	67	25	33	39	11	0
	Weight	23	26	21	15	20	2	0
	Relative Growth	53	37	33	24	30	7	0
Pyrazolate	Diameter	61	39	33	28	6	0	0
	Weight	39	33	24	6	0	0	0
	Relative Growth	50	36	29	17	3	0	0
BAS-514	Diameter	22	22	17	11	11	6	0
	Weight	1	2	1	1	0	0	0
	Relative Growth	12	12	9	6	6	3	0
DPX- F 5384	Diameter	78	50	39	28	22	11	0
	Weight	51	39	15	8	8	1	0
	Relative Growth	65	45	27	18	10	6	0
NC-311	Diameter	33	22	28	11	6	6	0
	Weight	47	22	16	3	1	0	0
	Relative Growth	40	22	22	7	4	3	0
CGA-142464	Diameter	94	44	33	22	28	22	22
	Weight	71	28	44	35	22	23	24
	Relative Growth	83	36	39	29	25	23	23

* Experimental condition ; Nacdongbyeo, dark, at 25°C, June 24 - August 24, 1986

Table 17. Callus growth of *Echinochloa crusgalli* in association with light regime

Light regime	Diameter (cm)	Fresh weight (mg)	Relative Growth (%)
Light (1,500/ux)	1.25	287.5	100
Dark	1.20	383.0	115

* Experimental period ; June 24 – August 24, 1986

임을 알 수 있다(表 17).

이상의 결과로 미루어 볼 때 callus 培養 檢定方法은 除草劑의 作用性 및 濃度에 따른 殺草力反應을 研究하는 데 좋은 方法이 될 것으로 보인다.

摘 要

組織培養 方法을 利用하여 除草劑의 作用性 및 除草劑抵抗性 檢定方法 改善의 可能性을 檢討하기 위해 1985年~1986年까지 2個年에 걸쳐 嶺商作物試驗場 溫室 및 組織培養實驗室에서 一連의 試驗을 進行하였던 결과를 要約하면 다음과 같다.

1) 除草劑 作用性을 研究하는 데 使用되는 培地條件으로서는 기존의 MS, N₆, N₆-Y₁ 等의 培地는

16은 光이 없는 暗狀態에서 培養한 成績인데, 두 培養條件間에 濃度에 따른 生育反應 傾向은 큰 差異를 보이지 않으나, 少少間 暗狀態에서의 反應이 높은 傾向이었다. 이것은 無處理(無 除草劑區) 狀態에서의 callus 生育이 暗狀態에서 約 15% 높기 때문인 것

벼 自體의 生育을 50% 以上 抑制하므로 玄米培養培地로서는 適合하지 않았으며, 生長調節劑가 添加되지 않은 純粹寒天培地를 利用하는 것이 바람직하였다.

2) 玄米培養方法에 있어서 除草劑의 濃度反應을 뚜렷이 밝힐 수 있었으며, 大部分의 水稻用除草劑는 地上部生育보다 地下部生育抑制程度가 더 큰 것으로 나타났고, 光의 有無, 除草劑吸收部位에 따라 作用性의 差異를 보였는데 butachlor, 2,4-D, propanil은 光이 있는 狀態에서, 그리고 DPX-F 5384와 CGA 142464는 光이 없는 狀態에서 生育抑制影響이 커졌다. 그리고 吸收部位反應에 있어서는 butachlor, chlornitrofen, oxadiazon, BAS-514는 根部와 幼芽部를 同時に 除草劑에 接觸됨으로서 벼에 對한 藥害程度가 增加되었고, 그外 除草劑는 두 接觸方法間에 큰 差異를 보이지 않았다. 한편 피 (*E. crusgalli*) 的 경우도 비슷한 傾向이었으나, 全般的으로 벼보다는 生育抑制程度가 越等히 높았으나 butachlor, 2,4-D, chlornitrofen, oxadiazon, pyrazolate 및 BAS-514는 根部만 接觸시켜 피의 葉綠素生合性을 抑制시킬 뿐 아니라 生育이 거의 進展되지 않았으며, 그外 除草劑들은 根部와 幼芽部를 함께 接觸시켜 주는 것이 바람직하였다.

3) 水稻品種의 除草劑抵抗性은 檢定方法間에多少 差異를 보였는데 幼苗檢定의 경우는 既存 除草劑인 butachlor, pretilachlor, thiobencarb, perfluidone, oxadiazon, 等에 있어서는 日本型品種이 統一型品種이 印度型品種의 順으로 除草劑抵抗성이 높았으나 DPX-F 5384, NC-311, pyrazolate, pyrazoxyfen에 對해서는 오히려 日本型品種이 가장 높은抵抗性을 보였으며, 玄米檢定의 경우 butachlor, propanil, chlornitrofen, oxadiazon, 等에 있어서는 幼苗檢定과는 달리 日本型品種이 統一型品種이나 印度型品種보다抵抗성이 낮게 나타났다.

4) 同一品種類型內에서도 除草劑抵抗性的品種間 差異를 보였는데 幼苗檢定이나 玄米檢定에서 다같이 相對的으로抵抗性을 보인 品種은 統一型의 경우 密陽 42號, 青青벼, 三剛벼와 七星벼가 日本型의 경우는 섬진벼가 洛東벼보다 印度型의 경우는 IR 50이 IR 36보다 높은抵抗性을 보였다.

5) 玄米培養方法과 callus培養方法 다같이 除草劑種類에 關係없이 除草劑濃度에 따른 벼生育反應이 비슷하였는데, callus生育反應이 더욱 敏感하였다.

6) 除草劑에 對한 callus生育反應은 벼 뿐만 아

니라 피 (*E. crusgalli*)에 있어서도 대단히 敏感한 反應을 보였는데, $10^{-9} \sim 10^{-8}$ M의 低濃度에서 除草劑種類間의 差異가 뚜렷이 나타났으며, 10^{-7} M以上的濃度에서는 除草劑性質에 關係없이 모든 除草劑가 피의 callus生育을 크게 抑制시켰다. 供試除草劑中에서 BAS-514가 가장 높은濃度에서도 피의 callus生育을 뚜렷이 抑制시켜 피에 對한 級草力이 卓越함을 알 수 있었다. 한편 除草劑에 對한 callus生育反應은 光의 有無에는 큰 影響을 받지 않았다.

引用文獻

1. Arntzen, C. J., C. L. Ditto and P. E. Brewer. 1979. Chloroplast membrane alterations in triazine-resistant *Amaranthus retroflexus* L. biotypes. Proc. Nat. Acad. Sci. 76: 126-128.
2. Ashton, F. M. and A. S. Crafts. 1981. Mode of action of herbicide. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons. New York, 525.
3. Audus, L. J. 1976. Herbicides (Physiology, Biochemistry, Ecology). Vol. 1, Academic Press, New York. 547.
4. Bandeen, J. D., J. V. Parochetti, G. F. Ryan, B. Maltais and D. V. Peabody. 1979. Discovery and distribution of triazine resistant weeds in North America. Abstr. Weed Sci. Soc. Am. 108.
5. Bandeen J. D., Stephenson GR, Cowett ER. 1982. Discovery and distribution of herbicide resistant weeds in North America. In Baron Le H, Gressel, J. (eds) Herbicide resistance in Plants. Wiley and Sons, New York.
6. Beth, A. S. and Monte, R. W. 1986. Comparative detoxification of chlorsulfuron in leaf disks and cell cultures of two perennial weeds. Weed. Sci. 34: 507-512.
7. Bright, S. W. J., G. Doms, D. Foulger, A. Karp and N. Evans, 1986. Mutation and tissue culture. p. 431-450. In plant tissue culture and its agricultural applications. L. A. Withers and P. G. Alderson. Butterworths. London. 526.
8. Chaleff, R. S. 1981. Genetics of higher plants. Applications of cell culture. Cambridge, Cambridge University Press.

9. Chaleff, R. S. 1983. Isolation of agronomically useful mutants from plant cell cultures. *Science*. 219: 676-682.
10. Chaleff, R. S. and Mauvals, C. J. 1984. Acetolactate synthetase is the site of action of two sulfonylurea herbicides in higher plants. *Science*, 224: 1443-1445.
11. Chaleff, R. S. and Ray, T. B. 1984. Herbicide-resistant mutants from tobacco cell cultures. *Science*. 223; 1148-1151.
12. 鄭根植・孫再根. 1986. 藥 및 花粉培養에 의한 半數體育者. p.11 ~ 30. 慶北大學校 開校 40周年 紀念 Symposium特輯號. 植物組織培養의 農業의利用 및 產業化. 1986. 7. 慶北大學校. 216.
13. Comai, L., Sen, L. C. and Stalker, P. M. 1983. An altered *AraA* gene product confers resistance to the herbicide glyphosate. *Science*. 221; 370-371.
14. Craig, R. S. and A. R. Martin. 1985. Kochia scoparia growth response to triazine herbicides. *Weed science*. 34: 40-42.
15. Crocomo, O. J. and N. Ochoa-Alejo. 1983. Herbicide tolerance in regenerated plants. p. 770-781. In *Handbook of plant cell culture; Techniques for propagation and breeding*. D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada. Macmillan Publ. Co. New York: 970.
16. Cseplo, A., P. Medgyesy and L. Marton. 1986. In vitro induction, isolation and transfer of chloroplast mutation in *Nicotiana*. p. 137-146. In *Proc. Symposium, Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement, vienna, 19-23 August 1985* jointly organized by IAEA and FAO. 529.
17. De Block, M., Herrera Estrella, L., Van Montagu, M., Schell, J. and Zambryzki, P. 1984. Expression of foreign genes in regenerated plants and in their progeny. *EMBO J*. 3: 1681-1691.
18. Dix, P. J. 1985. Cell line Selection. In *plant cell culture technology*, (M. Yeoman, Ed.) p. 141-199. Oxford, Blackwell Scientific.
19. Genetic engineering of plants. 1984. Board on Agriculture National Research Council. National Academy Press. Washington, D. C. 83.
20. Hughes, K. 1983. Selection for herbicide resistance. p. 443-460. In *Handbook of plant cell culture; Techniques for propagation and breeding*. D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada. Macmillan Publ. Co. New York. 970.
21. Ishizuka, K., M. Matsumoto and Y. Kakimoto, 1984. Effect of temperature on absorption and translocation of simetryne in rice cultivars. *Weed Res. Japan*. 29(2) : 116-122.
22. Ishizuka, K., H. Matsumoto and T. Imahase, 1984. Selective mode of action of simetryne among rice cultivars. *Weed Res. Japan*, 29(4): 289-294.
23. Kim, K. U., S. B. Ahn and M. Miyahara. 1975. Rice Varietal response to various preemergence herbicide. p. 298-302. In *Proc. 5th Asian-Pac. Weed Sci. Soc. Conf.*, Tokyo, Japan.
24. 高山真策. 1984, 植物培養細胞の物質生産効率向上へのアプローチ, p.10 ~ 23. In 植物組織培養とファインケミカルズ . CMC. Tokyo. 243.
25. Le Baron, H. and Gressel, J. 1982. *Herbicide resistance in plants*. New York, Wiley.
26. Ludwig Eue. 1985. World challenges in weed science. *Weed Science*. 34: 155-160.
27. Malone, R. P. and P. J. Dix. 1986. Selection for herbicide resistance in tissue cultures of *Rragaria* and *Nicotiana*. p. 479-486. In *Plant tissue culture and its agricultural applications*. L. A. Withers and P. G. Alderson. Butterworths. London. 526.
28. Matsumoto, H. and K. Ishizuka, 1984. Effect of temperature on metabolism of simetryne in rice cultivars. *Weed Res. Japan*. 29(2); 159-164.
29. Meredith, C. and Carlson, P. S. 1982, p. 275-293. In *Herbicide resistance in Plants*, H. Le-Baron and J. Gressel. New York, Wiley.
30. Moody, K. and M. T. Madrid, 1983. Rice Cultivar tolerance to herbicides. p. 8-1-19. In *Seminar on weed control in the Asian and Pacific region*. Sept. 13-17, 1983. FFTC/ASPAC & ORD. Suweon, Korea.

31. Numata, M. 1971. Methodological problems in weed-ecological research. *Biotrop Bull.* 2: 41-58.
32. 農業実験法；除草剤編, 1981. ソフトサイエンス社. Tkyo. 499.
33. Ray, T. B. 1982. Mode of action of chlorsulfuron : a new herbicide for cereals, *Pestic. Biochem. Physiol.* 17: 10-17.
34. Ray, T. B. 1984. Site of action of chlorsulfuron; inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Pl. physiol.*, 75; 827-831.
35. Thomas, B. and Pratt, D. 1982. Isolation of paraquat-tolerant mutants from tomato cell cultures. *Theoret. Appl. Genet.* 63: 169-176.
36. Yadav, N. and Benard, S. A. 1984. Mutations in cloned *E. Coli* gene for acetolactate synthase II. confer resistance to sulfometuron methyl herbicide by enzyme alteration. In Proc. of 11th Katzir-katchalsky conf.: Plant Molecular Biology, Jerusalem, Abstract. D-11.
37. Zilkah, S. and Gressel, J. 1977. Cellcultures vs. whole plants for measuring phytotoxicity. III. Correlations between phytotoxicity in cell suspension cultures, calli and seedlings. *Pl. Cell physiol.* 18: 815-820.
38. Zilkah, S., Bocion, P. F. and Gressel, J. 1977. Cell cultures vs. whole plants for measuring phytotoxicity II. correlations between phytotoxicity in seedlings and calli. *Pl. Cell Physiol.*, 18: 657-670.