

# 農藥(除草劑) Paraquat에 대한 抵抗性 植物體 選拔育成

## 第 1 報 Paraquat에 대한 植物의 耐性機作

金吉雄 · 金達雄 · 權純泰\*

### Development of Herbicide (Paraquat) Tolerant Plant Through Tissue Culture

#### 1. Mechanism of Plant Tolerance to Paraquat

Kim, K. U., D. U. Kim and S. T. Kwon\*

#### ABSTRACT

The study was conducted to screen paraquat-tolerant plant species among crops and weeds, using the response of plant like leaf disc discoloration, visual injury and dry weight in the presence of paraquat. Mechanism of paraquat-tolerance was investigated in strains of soybean through evaluating activities of superoxide dismutase and peroxidase and the multiplication of callus derived from soybean cotyledon. In crops, Kwanggyo has been selected as a paraquat-tolerant variety among soybean cultivars tested, and Hood as a susceptible one. In weeds, *Polygonum aviculare*, *Chenopodium album* and *Pinellia ternata* were evaluated as the paraquat resistant species, providing the possibility for the donor plant species for paraquat resistance. Activity of superoxide dismutase known to detoxify paraquat was markedly greater in Kwanggyo, a paraquat-tolerant cultivar than in Hood, a susceptible one. In addition, the similar response like superoxide dismutase was observed in peroxidase activity. The greater inhibition of callus multiplication was determined in Hood, a susceptible one than a tolerant one, Kwanggyo. Based on all the informations, it is strongly proposed that paraquat tolerance in soybean is due to destruction of  $O_2^-$  by elevated concentration of superoxide dismutase in the tolerant cultivar.

*Key-words: paraquat tolerance and susceptibility, superoxide dismutase, peroxidase*

#### 緒 論

지난 15年 동안에 우리나라 農業構造는 많은 變化를 가져 왔다. 特히, '70年代의 産業化로 農村勞働은 크게 不足해지고 勞賃은 크게 上昇하였다. 農村勞賃의 上昇은 雜草防除을 손으로부터 除草劑에 依存하는 栽培型態로 轉換시켰다. '85年度 除草劑 使用量은 實物量으로 49,431톤, 有效成分量 3,994톤, 金

額으로는 400餘億 以上 除草作業에 没入하고 있는 實情이다. 앞으로도 除草劑의 使用量은 繼續 增加될 것으로 推定된다.

除草劑 Paraquat은 非選擇性 除草劑로서 綠色을 떠는 모든 植物體를 枯死시킬 수 있고 價格이 싸서 全世界의으로 가장 많이 利用되고 있는 除草劑 中의 하나다. 最近에 植物體(作物 및 雜草)의 種 또는 品 種間에 paraquat에 感受性 程度를 달리 한다는 研究報告가 많이 있다.<sup>4, 6, 7, 10, 13, 20)</sup>

\* 慶北大學校 農科大學 農學科

\* Dept. of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu 635.

Meredith 등<sup>16)</sup>은 最近에 除草제에 對한 抵抗力 또는 耐性을 나타내는 變異種이 植物細部養을 通해 選拔될 수 있음을 報告한 바 있고 Thomas 등<sup>19)</sup>은 토마토 細胞培養을 通해 paraquat 에 耐性을 나타내는 變異種을 選拔하였다.

Paraquat 에 抵抗力을 나타내는 ryegrass는 paraquat 處理로 superoxide dismutase (SOD)의 活性이 增加되어 paraquat 處理로 生成되며 殺草力을 發揮하는 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 파괴 또는 分解시키며 그 結果로 發生된 hydrogen peroxide 또는 peroxidase 나 catalase의 增加로 無毒化됨을 報告했다.<sup>5)</sup>

Hassen 등<sup>8,9)</sup>은 superoxide dismutase(SOD)가 superoxide ion을 除去시키고 植物細胞가 酸化的 被害로부터 保護하는 데 꼭 必要한 酵素라고 하였고, Asada 등<sup>1)</sup>은 光合成하는 植物體細胞에 불가피하게 發生되고 superoxide ion을 除去하는 데 SOD가 重要한 役割을 한다고 報告하고 있다. 한편으로 bacteria細胞<sup>8,9)</sup>나 chlorella細胞<sup>17)</sup>에서는 paraquat 處理로 SOD가 誘起된다고 하였고 Furusawa 등<sup>5)</sup>은 몇 차례의 繼代培養으로 paraquat 에 抵抗力인 담배의 카루스가 얻어졌으며 이 카루스의 SOD가 잎細胞보다 14-159 배 增加되었으나 peroxidase 나 catalase의 活性은 거의 增加되지 않으므로 SOD增加가 paraquat 抵抗力 發現과 密接한 關係가 있음을 報告하였다.

이와 같이 paraquat 에 耐性 또는 抵抗力을 나타내는 植物體가 存在하고 耐性은 完全植物體나 細胞水準에서 共히 나타나며 耐성과 SOD活性增加와 密接한 關係가 있다. 따라서 植物體의 屬·種間·種內로부터 耐性源을 探索하여 栽培種이나 交雜 또는 細胞融合을 通해 paraquat 에 抵抗力인 植物體가 育成된다면 paraquat 을 어느 時期나 處理하여도 效果的인 雜草防除가 可能하고 栽培技術의 혁신과 生産費節減으로 農業生産을 極大化시킬 수 있고 抵抗力源을 農業에 應用하는 技術體系를 確立할 수 있을 것이다. 本試驗의 目的은 抵抗力源의 探索 및 原因을 究明하는 데 있다.

## 材料 및 方法

### 實驗 1. 抵抗力源 探索

作物(콩 Hood 外 13種, 옥수수 Danok 1 外 13種)을 對象으로 paraquat 處理에 依한 感受性 程度를 豫備實驗을 通하여 一次選拔했다. 그 가운데 比較

의 反應差가 있는 콩 6種을 '86年 7月 10日에 本圃에 播種하여 本葉이 第三節에 이르렀을 때 paraquat 을 1, 10, 100, 1000 ppm 濃度로 하여 잎 全面에 고르게 撒布하고 10日後 藥害反應(chlorosis)을 visual rating(0-5)하고 살아 있는 部分의 leaf area 및 leaf dry weight 도 調査하였다. 同時に 第三節의 本葉으로부터 1cm<sup>2</sup>로 leaf disc를 잘라서 paraquat 1, 10, 100, 1000 ppm 溶液 15 ml씩 들어있는 샤페에 10個씩 담그어서 照度 3,000 lux 및 溫度 25℃로 維持되는 生長調節室에 넣어 72時間後 葉色の 變化程度를 visual rating하였으며 反應의 檢定은 完全히 脫色된 것을 5로, 全히 脫色되지 않은 것을 0으로 調査하였다. 옥수수 6種에 對하여 圃場狀態에서는 콩과 같이 調査하였고 leaf disc는 處理後 48時間째 葉色の 脫色反應을 調査하였으며, 그외의 모든 方法이나 條件은 콩과 同一하게 遂行하였다.

雜草는 6~8月에 명아주外 12種의 雜草를 對象으로 中間部位에 위치한 잎을 選擇하여 1cm<sup>2</sup>의 leaf disc를 만들어 paraquat 1, 10, 50, 100, 500, 1000 ppm 溶液 15 ml씩 들어 있는 샤페에 10個씩 담그어서 處理後 96時間째 잎의 脫色反應을 調査하였다. 處理條件이나 方法은 콩과 同一하다.

### 實驗 2. Paraquat 에 對한 콩 葉部位別 反應.

實驗 1에서 paraquat에 比較的 反應差가 큰 Kwanggyo 및 Hood 두 品種을 25℃로 維持되는 植物生長調節室에서 栽培하면서 本葉의 第一, 二, 三節의 잎을 採取하여 각 잎의 基部와 先端 1cm<sup>2</sup>로 잘라 각 10個씩 paraquat 濃度 10 및 100 ppm 에 實驗 1과 같이 沈漬시켜 48時間後 脫色反應을 調査하였다.

### 實驗 3. Peroxidase의 活性 및 同位酵素 檢定.

實驗 1에서 paraquat 에 感受性差를 크게 보이는 콩에 對해서만 檢定하였고 比較的 耐性인 Kwanggyo와 感受性인 Hood 두 品種을 植物生長室에 栽培하면서 本葉의 第三節이 展開되는 時期에 paraquat 濃度 100 ppm을 잎 全面에 고르게 撒布하고 處理後 6, 12, 24 및 48時間째에 잎을 採取하여 peroxidase의 活性을 測定했다.

Peroxidase의 抽出은 採取한 잎 材料에 3배는 50 mM potassium phosphate 緩衝液(pH 7.0)을 加해 미리 얼음물에 식힌 주발에서 磨碎시킨 後 16,500 rpm에서 10分間 低速遠心分離하여 上澄液을 粗酵素液으로 使用하였다. Peroxidase의 活性度는 Wor-

thington Enzyme Manual<sup>21)</sup>의 方法에 따라 31.5mM 0-dianisidine dihydrochloride (3, 3'-dimethoxybenzidine) 0.05 ml, 12.3mM hydrogen peroxide 0.05 ml, 50 mM potassium phosphate 緩衝液(pH 7.0) 3 ml가 含有되어 있는 反應溶液에 粗酵素液 0.1 ml를 添加하여 30℃에서 1分間 反應시켜 double beam spectrophotometer로 436 nm에서 吸光度를 測定하였다. 酵素活性度の 單位는 30℃에서 1分當 1μmol의 0-dianisidine dihydrochloride를 分解할 수 있는 酵素的 量을 unit로 表示하였다.

Peroxidase 同位酵素的 檢定은 polyacryamide slab gel electrophoresis에 依해 Davis<sup>2)</sup>의 方法에 따라 resolving gel은 7.0%, stacking gel은 2.5% acrylamide를 使用하여 200 V에서 電氣泳動을 實施하였다. Peroxidase activity band의 確認은 電氣泳動시킨 gel을 0.1 M sodium acetate 緩衝液(pH 5.0)에 30分間 沈漬시킨 後 50 mM potassium phosphate 緩衝液(pH 7.8), 31.5mM 0-dianisidine 및 12.3mM hydrogen peroxide의 混合溶液에서 一定時間 反應시킨 後 發色된 band를 이 酵素的 activity band로 하였다.

#### 實驗 4. Superoxide dismutase (SOD) 活性測定.

實驗 3과 같이 paraquat 100 ppm 處理하였다. SOD粗酵素的 抽出은 採取한 材料에 3倍의 0.2 M phosphate 緩衝液(pH 7.8)을 加해 주발에서 磨碎시킨 後 3分間 超音波處理를 하고 2℃, 20,000 g에서 30分間 低溫遠心分離시켜 上澄液을 粗酵素液으로 使用하였다. 酵素的 活性은 Elistner<sup>3)</sup>의 方法에 依해 測定하여 SOD標準曲線과 比較하여 粗酵素液 ml當 活性을 나타내는 unit로 환산하였다.

#### 實驗 5. Paraquat이 콩의 카루스 增殖에

##### 미치는 影響.

充實한 콩 種子(Kwanggyo, Hood)를 選別하여 8%의 Ca(OC1)<sub>2</sub>에 20分間 殺菌시켜 殺漕水에 3回 水洗한 後 MS 基本培地에 sucrose 3%, agar 1%를 添加하여 殺菌한 後 50 ml 삼자프라스크에 20 ml씩 넣어, 25℃ 暗狀態에 置床하였다. 置床後 2日째 부터 2日間 25℃, 3,000 lux의 光狀態下에 두어 發芽하는 cotyledon을 綠化시켰다. 綠化된 cotyledon을 약 2 mm<sup>3</sup>로 절단 후 70% ethanol에 10초간 殺菌後 殺菌水에 3回 水洗한 後 MS 基本培地에 2, 4-D 4 ppm, sucrose 3%, agar 1%가 添加된 培地

溶液을 30 ml 시험관에 10 ml씩 넣고 paraquat을 0.1, 1.0, 10.0, 100 ppm 넣은 後 120℃에서 15分間 殺菌後 준비된 2 mm<sup>3</sup>의 cotyledon을 시험관당 5개씩 5反覆으로 25℃ 暗狀態下에 置床하고 誘導된 카루스의 增殖量은 置床後 15日째 測定하였다.

## 結果 및 考察

抵抗力源 探索: 豫備試驗을 거쳐 選拔된 콩 品種을 圃場狀態下에서 잎 全面에 paraquat을 處理하고 또 leaf disc를 만들어 paraquat 溶液에 沈漬한 後에 藥害나 脫色反應을 visual rating한 成績은 Figure 1과 같다. 圃場狀態下에서 1 ppm 處理에는 品種에 關係없이 藥害가 없었으나 濃度가 增加될수록 藥害가 增加되며 特히 100 ppm 處理區에는 比較的 藥害가 2前後인 Kwanggyo, Milyang, Kanglim 등의 感受性이 낮은 品種과 藥害가 多少 큰 3~4에 屬한 D<sub>4</sub>, Jangyeob 및 Hood 등의 感受性이 큰 品種 등으로 大別할 수가 있다. 1,000 ppm의 高濃度에서는 品種에 關係없이 全部 枯死하였다. Leaf disc로 脫色反應을 보면 低濃度인 1 및 10 ppm에서는 品種에 關係없이 1以下(즉 20%)의 경미한 反應을 보였으나 100 및 1,000 ppm으로 濃度가 增加할수록 藥害反應과 마찬가지로 脫色反應도 增加되어 脫色이 比較的 큰 Hood 및 D<sub>4</sub> 品種과 1,000 ppm에서도 Kwanggyo는 1(20%)以下로 경미한 脫色反應을 보여 品種間에 큰 差異가 있었다. 1,000 ppm의 高濃度에서 全部脫色反應을 보이지 않은 것은 沈漬處理時間이 짧기 때문일 것으로 思料된다.

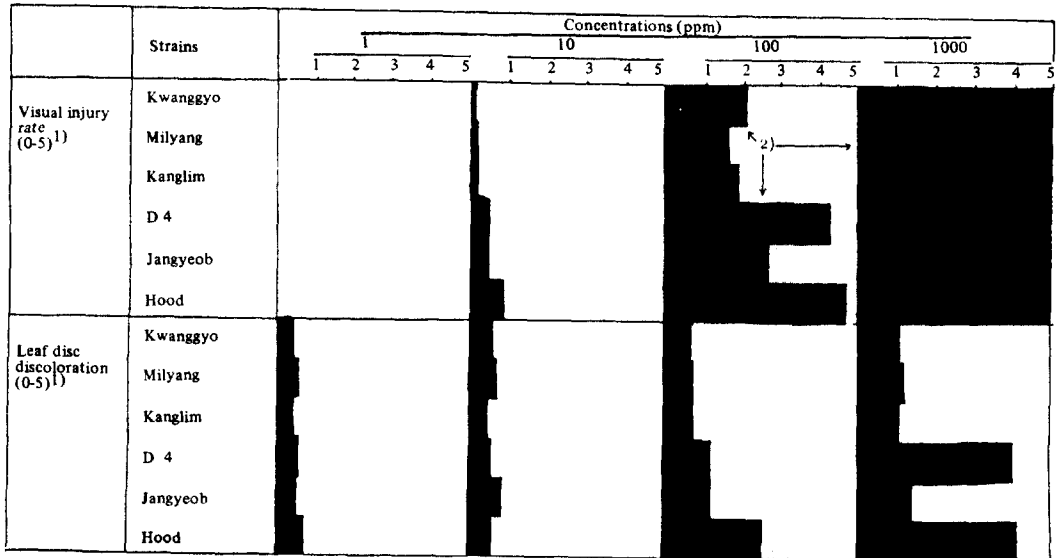
Figure 2는 Figure 1에서 살아 남은 部分의 葉面積에 對한 比率로 나타낸 것으로 低濃度인 1 및 10 ppm에서는 Kanglim이나 Jangyeob 콩을 除外한 나머지 品種에서는 無處理와 같았으나 濃度가 100에서 1,000 ppm으로 增加될수록 藥害가 컸던 品種에서는 낮고 藥害가 적었던 Kwanggyo 品種에서는 높았다. 잎의 乾物重에서도 類似한 反應을 보였다. 두 反應의 結果로 콩 品種가운데는 paraquat에 感受性인 Hood 品種과 이것보다 耐性인 Kwanggyo 品種으로 大別할 수가 있다.

Figure 3에서 옥수수의 藥害 및 脫色反應을 보면 콩 品種과는 달리 品種間에 뚜렷한 경향치를 보이지 않았다. 藥害는 1 ppm에서는 없었으며 10 ppm에서는 아주 경미하나 100 및 1,000 ppm에서는 아주 높아서 品種間 區別이 어렵다. leaf disc의 脫色

反應을 보면 Danok 1 이나 A 636 等이 濃度에 關係없이 脱色이 他品種보다 잘되는 感受性 品種같으나 圃場狀態下의 藥害反應과 一致하지 않아 두 가지 反應으로 感受性 程度를 決定지을 수 없는 것 같다.

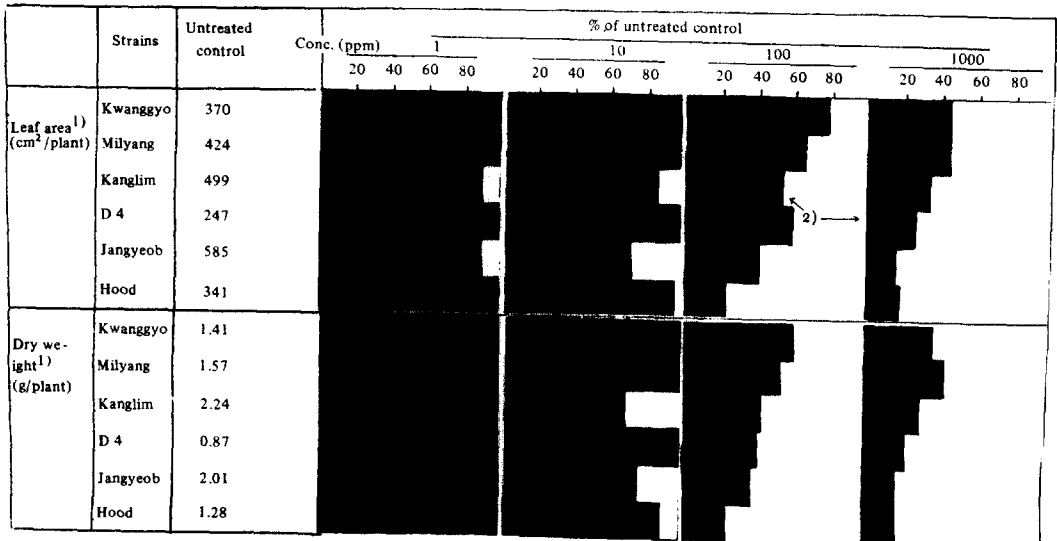
옥수수 乾物重에는 品種間에는 差異가 있으나 乾物重과 藥害反應과 脱色反應을 연관시켜 感受性 程度를 決定하기는 어려울 것 같다(Figure 4).

쇠비름外 12 種의 雜草를 對象으로 leaf disc 를



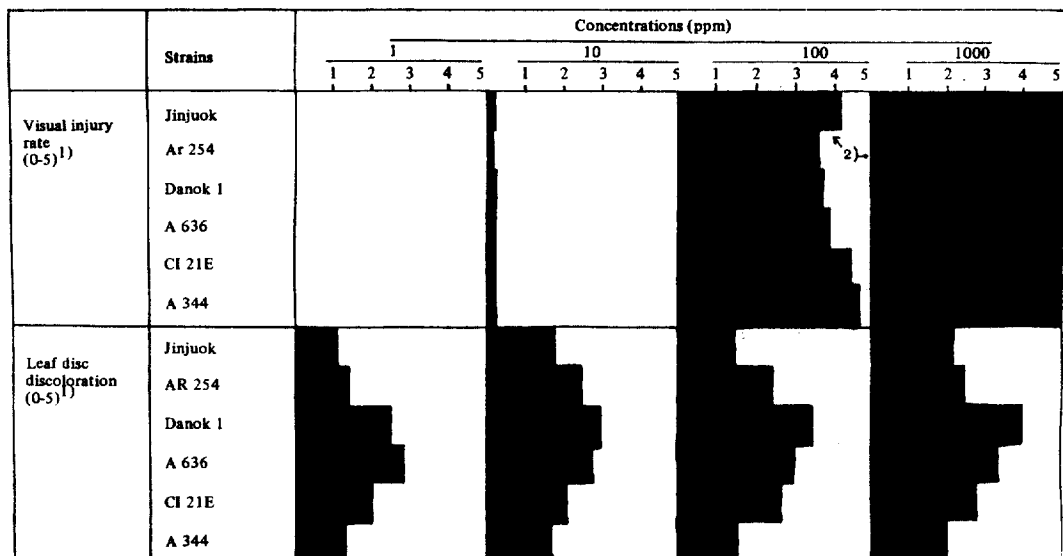
- 1) Time of determination; Visual injury; 10 days after treatment at field condition Leaf disc discoloration; 72 hours after treatment in petridish 0; no effect, 5; completely killed or complete discoloration
- 2) [shaded area]; indicates levels of injury or discoloration

Fig. 1. Visual rate of injury or leaf discoloration of soybeans affected by paraquat



- 1) Time of determination: Leaf area; 15 days after treatment
- 2) [shaded area]; indicates levels of leaf area or dry weight

Fig. 2. Leaf area or dry weight of soybeans affected by paraquat treatment at field condition




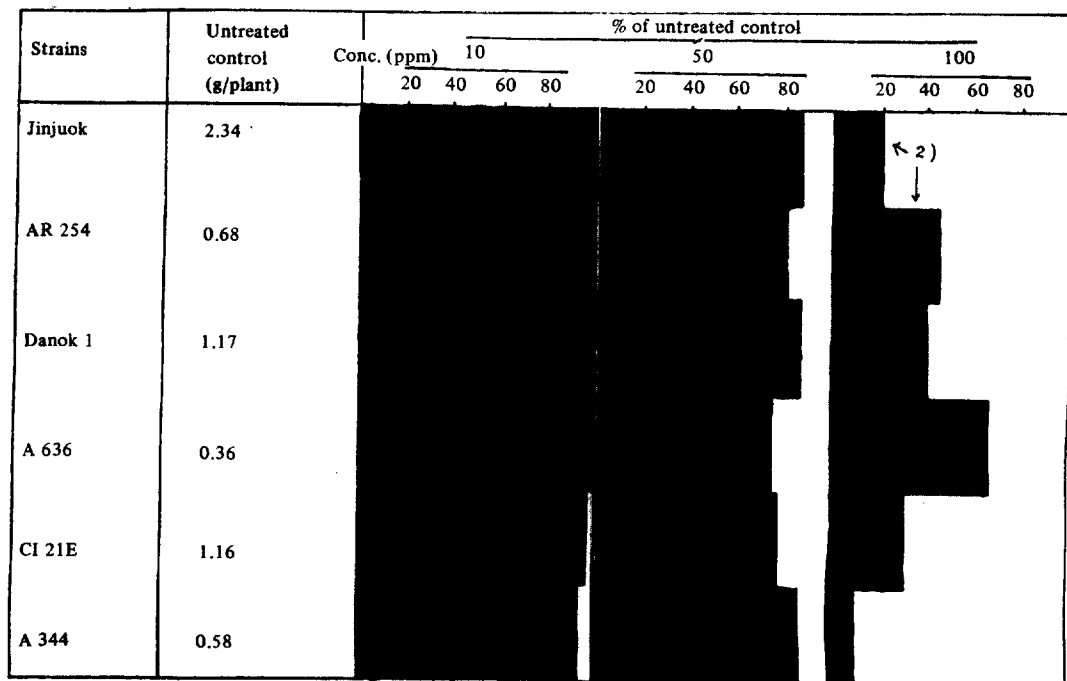
- 1) Time of determination; Visual injury; 10 days after treatment at field condition. Leaf disc discoloration; 72 hours after treatment in petridish. 0; no effect, 5; completely killed or complete discoloration
- 2)  : indicates levels of injury or discoloration

Fig. 3. Visual rate of injury or leaf discoloration of corns affected by paraquat




- 1) Time of determination; 15 days after treatment at field condition
- 2)  ; indicates levels of dry weight

Fig. 4. Dry weight of shoot portion of corns affected by paraquat

Table 1. Degree of discoloration of weed leaf disc treated with paraquat.

Weeds	Conc. (ppm)	Degree of leaf disc discoloration <sup>1)</sup> (0-5)						Leaf discoloration at 500ppm				
		1	10	50	100	500	1000	1	2	3	4	
<i>Imperata cylindrica</i> var. <i>koenigii</i>		0.8	1.7	1.7	2.4	2.7	3.1					
<i>Portulaca oleracea</i>		1.1	2.2	2.7	3.1	3.2	3.9					RS <sup>2)</sup>
<i>Cephalonoplos segetum</i>		1.7	2.1	2.7	2.7	3.2	4.1					
<i>Polygonum aviculare</i>		0.3	1.0	1.3	1.4	1.3	1.4					
<i>Amaranthus mangostanus</i>		0.8	1.1	1.6	1.8	2.4	2.5					
<i>Acalypha australis</i>		0.7	1.9	2.1	2.7	3.3	3.6					
<i>Setaria viridis</i>		1.0	1.7	2.2	2.4	2.7	3.7					
<i>Commelina communis</i>		1.1	1.9	2.5	3.1	3.0	3.5					
<i>Chenopodium album</i>		0.3	1.0	0.8	1.3	1.6	1.6					
<i>Rumex japonicus</i>		0.8	1.7	1.8	3.1	3.2	3.2					
<i>Pinellia ternata</i>		0.3	0.6	0.6	1.0	1.3	1.6					
<i>Artemisia princeps</i>		0.6	2.2	2.7	3.5	3.5	4.2					
<i>Digitaria sanguinalis</i>		1.0	2.2	2.5	3.0	3.3	3.6					

1) Discoloration of leaf disc : 0-5, 0; no discoloration  
5; complete discoloration  
Determined at 96 hrs after treatment.

2) RR : relative resistance (about 30 % discoloration)  
RS : relative susceptibility (above 70 % discoloration)

만들어 여러 농도의 paraquat 에 沈漬하여 96 時間 後에 脱色反應을 無處理와 比較해 봤을 때 低濃度 인 1 ppm 에서는 脱色의 程度가 경미하였으나 濃度 가 50, 100, 500 및 1,000 ppm 으로 增加될수록 雜草種間에는 큰 差異가 認定되었다(Table 1). 全 濃度間에 가장 脱色이 잘 안되는, 다시 말하면 paraquat 에 耐性을 나타내는 草種은 마디풀(*Polygonum aviculare*), 명아주(*Chenopodium album*), 반하(*Pinellia ternata*) 등으로 1,000 ppm 의 高濃度에서도 30% 程度의 낮은 脱色反應을 보였다. 밭에 가장 많이 發生 하는 바랭이(*Digitaria sanguinalis*), 쇠비름(*Portulaca oleracea*), 강아지풀(*Setaria viridis*) 등은 感受性을 보여서 草種間에 相異한 反應을 나타냄을 立證할 수 있었다. 草種間的 相異한 反應은 雜草의 形式的·生理 生態의 및 나아가 遺傳의 特性 差異 等에 起因되지 않나 思料된다.

以上の 結果를 要約해 보면 草 品種間에는 相對的 耐性을 나타내는 Kwanggyo와 相對的 感受性을 나타내는 Hood와 같은 品種을 認定할 수 있으나 옥수수과 같이 葉脈이 그물처럼 된 콩보다는 植物體內의 移行이 多少容易할 것으로 思料되며 藥害反應의 폭이 좁을 것으로 推定된다. 어떤 特性에 연유한 것 인지는 確實치 않지만 마디풀과 반하 같은 雜草는

paraquat 에 對하여 抵抗性을 나타내어 抵抗性源을 提供해 주고 있다.

Paraquat 에 對한 莖 葉部位別 反應: 藥害 및 leaf disc 의 脱色反應으로 相對的 耐性 또는 感受性을 보이는 Kwanggyo와 Hood 두 品種을 對象으로 本葉 第 1, 2 및 3 節의 基部와 先端이 paraquat 에 어떠한 反應을 보이는가를 調査한 成績은 Figure 5 와 같다. 10 ppm 의 低濃度에서는 Hood 品種이 Kwanggyo 보다 基部나 先端 양쪽에서 脱色이 本葉의 節에 關係없이 多少 큰 것 같으나 100 ppm 에서는 Hood 의 先端部位 脱色反應이 1, 2, 3 節 모두에서 Kwanggyo 보다 2~3 倍 높아서 品種間 反應差는 바로 感受性 品種의 葉 先端部의 예민한 反應에 起因한다는 特異한 反應結果를 얻었다. 淺野<sup>22)</sup>가 망초類(*Erigeron philadelphicus*)에 paraquat 100 ppm 을 處理하면 大部分의 葉이 枯死하나 葉身의 先端部에 一部 抵抗性이 認定된다고 한 것은 本 研究結果와 類似하다.

Peroxidase 의 活性度 變化: 本葉 第 3 節의 莖 葉을 따서 100 ppm 의 paraquat 溶液에 沈漬시킨 後 6 時間째부터 48 時間까지의 peroxidase 의 活性度를 調査한 成績은 Figure 6 과 같다. 相對的 耐性系인 Kwanggyo 가 全 調査期間 동안에 感受性系인 Hood

Leaf order (compound leaf)	Variety	Leaf part	
		Base	Tip
10 ppm			
1st	Kwanggyo		
	Hood		
2nd	Kwanggyo		
	Hood		
3rd	Kwanggyo		
	Hood		
100 ppm			
1st	Kwanggyo		
	Hood		
2nd	Kwanggyo		
	Hood		
3rd	Kwanggyo		
	Hood		

1) ; discoloration, no discoloration, determined at 48 hour after treatment

Fig. 5. Discoloration Beeponse of soybean leaf part to paraquat

보다 peroxidase의 活性이 높아서 paraquat 處理로 發生하는 hydrogen peroxide를 無毒化 또는 分解시키므로서 耐性을 나타내지 않나 思料된다. 그러나 paraquat 處理後의 peroxidase 活性度의 變化가 無處理보다 48 時間째 peroxidase의 活性이 낮은 理由

가 있을 沈漬한 때문인지 處理時間이 긴 때문인지 說明하기가 現在로선 어렵다. 그러나 콩 品種間에는 paraquat 處理로 peroxidase의 活性이 增加된 경우도 있었다(未發表). Harper 등<sup>6)</sup>은 paraquat 에 對한 ryegrass의 抵抗性은 주로 superoxide dismutase의 活性增加에 기인하나 peroxidase나 catalase의 活性도 增加시켜 無毒化시키므로 抵抗性이 發現된다고 보고한 反面 Furusawa 등<sup>5)</sup>은 paraquat에 耐性을 나타내는 담배 카루스는 superoxide dismutase의 活性增加에 依해 發現된 것이며 catalase나 peroxidase의 活性에는 影響을 미치지 않은 것으로 報告하므로서 paraquat 處理에 依한 peroxidase 活性에 對해서는 種에 따라 差異가 나는 것인지에 關하여 더욱 研究檢討가 必要하다고 思料된다.

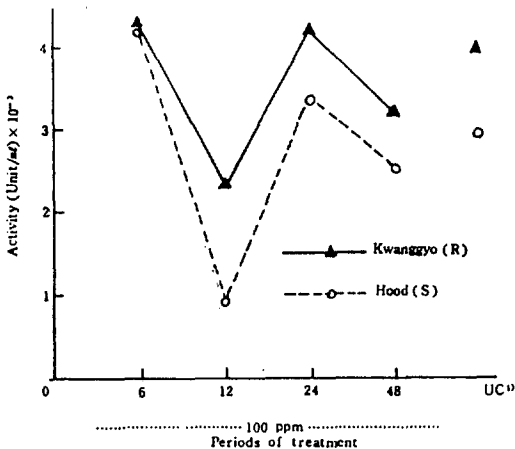
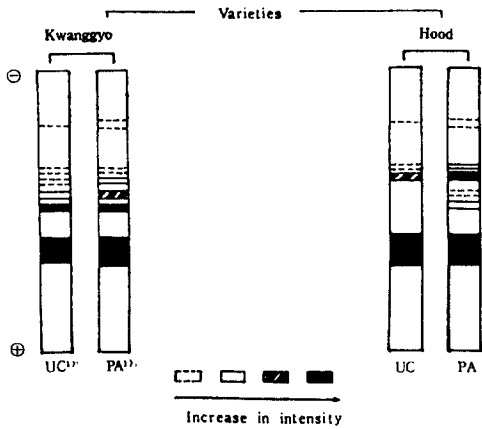


Fig. 6. Changes in peroxidase activity of soybeans as affected by paraquat treatment.

Peroxidase의 電氣泳動上 變化: paraquat 處理에 依한 peroxidase의 同位酵素의 變化를 polyacryl amide gel electrophoresis에 依해 調査해 본 結果 無處理의 peroxidase 同位酵素의 數는 耐性인 Kwanggyo는 6個, 感受性인 Hood는 4個였다(Figure 7). Paraquat 處理로 感受性인 Hood에는 새로운 2



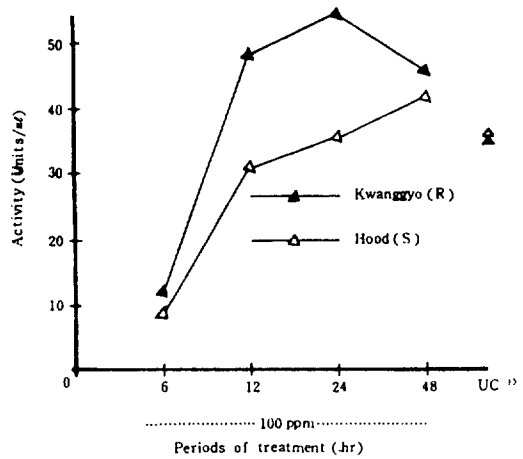
1) UC; untreated control, determined at 48 hours after incubation

Fig. 7. Changes in isoperoxidase patterns of soybean leaves as affected by paraquat, 100 ppm for 12 hrs.

個 同位酵素가 나타났으나 耐性인 Kwanggyo의 peroxidase 同位酵素의 pattern은 無處理와 類似하여 paraquat 處理에 크게 影響받지 않은 것 같다.

Scandlios<sup>18)</sup>는 peroxidase가 植物의 成長 및 自體保存에 重要한 生理的 役割을 擔當하고 있으며 多類의 同位酵素를 가지고 있다고 多類의 同位酵素를 가지고 있다고 報告하였으며 paraquat 處理에 依한 콩의 藥害·脫色反應 및 乾物重 變化에서 減受性인 Hood에서 同位酵素數가 적으나 paraquat 處理로 同位酵素數가 적으나 paraquat 處理로 同位酵素의 pattern이 多少 變化되나 耐性인 Kwanggyo에서는 거의 變化가 없는 것으로 보아 peroxidase의 intensity나 同位酵素의 數와 感受性에는 多少 관련이 있지 않나 思料된다.

Superoxide dismutase의 活性變化: Superoxide dismutase는 paraquat 處理에 依한 抵抗性을 發揮하는 데 가장 밀접하게 相關된 酵素이다.<sup>5,6,7)</sup> 本試驗에서 paraquat 處理後 6時間에서 48時間까지의 superoxide dismutase의 活性變化를 보면 處理後 時間이 경과할수록 增加하다가 48時間째 耐性인 Kwanggyo에서는 減少하나 Hood에서는 계속 增加現象을 보였다. 全 調査期間 동안에 耐性인 Kwanggyo에서 Hood보다 活性이 아주 높아서 Kwanggyo가 耐性인 理由를 잘 說明해 주고 있다. Kwanggyo는 無處理에서 보다 paraquat 處理後에 크게 增加되며 48時間째 處理區가 46.5 unit/mℓ에 比하여 無處理



1) UC: Untreated control, PA: Paraquat, 100 ppm

Fig. 8. Changes in superoxide dismutase activity of soybeans as affected by paraquat treatment.

1) UC; untreated control, determined at 48 hours after incubation

는 33.0 units/mℓ로 낮았으며 Hood는 處理區에서 42.0 units/mℓ이고 無處理에서 34.5 units/mℓ 이었다. 耐性種이든 感受性種이든 間에 paraquat을 處理하면 superoxide dismutase의 耐性이 增加되며 耐性인 品種에서 현저히 增加됨이 立證되었다.

담배 카루스 가운데 paraquat에 耐性인 카루스의 superoxide dismutase보다 무려 14에서 159배 增加되었다는 Furusawa 등<sup>5)</sup>의 結果로 미루어 보아 Kwanggyo의 耐性은 바로 superoxide dismutase의 活性差에 起因하는 것으로 思料된다. 한편, 古澤等<sup>23)</sup>에 依하면 抵抗性타입과 感受性타입의 카루스에 있어서 SOD活性은 抵抗性타입이 훨씬 높았다고 報告한 것은 本實驗의 結果와 類似하였다.

Paraquat이 카루스 增殖에 미친 影響: 콩의 cotyledon으로부터 誘導한 카루스 增殖反應에서 paraquat의 處理濃度가 0.1에서 100 ppm으로 增加할 수록 크게 抑制되었다 (Table 2).

耐性인 Kwanggyo는 0.1 ppm에서 3.9%, 100 ppm에서 68.6% 抑制된 反面 感受性인 Hood는 0.1 ppm에서 67.2%, 100 ppm에서 92.4% 抑制되어 두 品種間에 카루스 增殖에 paraquat이 細胞水準에서 抑制現象을 나타내는 것으로 思料된다. 無處理의 카루스 增殖은 Hood에서 일등히 많았다. Kim<sup>13)</sup> 및 Kim 등<sup>12, 14, 15)</sup>에 依하면 數種의 除草劑가 數種의 植物體 카루스 增殖에 相異한 抑制現象을 보



Table 2. Effect of various concentrations of paraquat on the multiplication of callus induced from soybean cotyledon<sup>1)</sup>

Soybean variety	Concentrations (ppm)				
	0	0.1	1	10	100
	mg/tube				
Kwanggyo	107.8	103.6 (96.1) <sup>2)</sup>	75.3 (69.9)	42.2 (39.1)	33.8 (31.4)
Hood	356.1	116.9 (32.8)	102.1 (28.7)	56.1 (15.8)	26.9 (7.6)

1) determined at 15 days after incubation

2) ( ): indicates % of untreated control

여 組織培養을 통한 除草劑 選拔法을 提案한 바 있고 이들의 差異가 細胞水準의 差異에 기인한 것으로 報告한 것으로 보아 本試驗의 結果도 그런 맥락에서 理解가 可能하다. 카루스 增殖反應差는 superoxide dismutase의 活性差와 더불어 感受性差를 立證하는 主要 結果로 思料된다.

以上の 研究結果를 綜合해 보면 植物體 相互間에는 特殊物質에 對하여 相異한 反應을 나타내는 特性이 存在하는 것으로 思料된다. 本試驗의 藥害反應, 脫色反應, 酵素의 活性反應 및 카루스의 增殖反應을 綜合해 볼 때 感受性인 Hood와 耐性으로 기록된 Kwanggyo間에는 細胞水準에서 根源的인 相異한 反應을 나타내는 것으로 思料된다. 今後에 細胞培養을 通해 Kwanggyo로부터 cell line을 選拔하여 分化되면 원래의 研究目的대로 paraquat에 抵抗性인 콩品種이 選拔育成될 수 있으리라 思料된다.

## 摘 要

1. Paraquat에 對한 植物體의 反應은 相異하며 感受性 程度에 큰 差가 認定되었다. injury, discoloration, leaf area 및 leaf dry weight 등으로 보아 Kwanggyo, Milyang 등의 콩 品種은 Hood나 D<sub>4</sub>에 比하여 耐性을 보였다. Paraquat에 對한 옥수수 品種間의 反應幅은 아주 좁았다.

2. 밭에 優占雜草인 바랭이, 쇠비름, 갯지풀은 paraquat에 感受性인데 比하여 마디풀, 명아주, 반하 등은 抵抗性을 나타내어 抵抗性源을 提供하였다.

3. Paraquat의 無毒化에 關連하는 peroxidase의 活性은 Kwanggyo에서 높았으나 無處理와 差異가 작았다. Peroxidase의 同位酵素는 Kwanggyo에 6個, Hood에 4個였으며 paraquat을 處理해도 Kwanggyo의 pattern은 거의 變化가 없으나 Hood에는 多少

變化가 認定되었다.

4. paraquat에 對한 植物體 抵抗性 mechanism인 superoxide dismutase의 活性은 paraquat 100 ppm 處理後 48時間째 Kwanggyo는 48.6 units/ml, Hood는 34.2 units/ml 이고 無處理는 Kwanggyo가 33.0 units/ml, Hood는 34.5 units/ml로서 SOD의 活性差가 感受性的 差를 發現시켰다고 思料된다.

5. paraquat의 濃도가 增加할수록 카루스의 增殖이 크게 抑制되었으며 100 ppm 處理에서 Kwanggyo는 69.4%, Hood는 92.4%의 抑制를 보여 Hood가 Kwanggyo보다 約 1.5倍 感受性을 나타내어 superoxide dismutase와 더불어 콩 品種間差를 잘 說明해 주고 있다.

## 引 用 文 獻

- Asada, K., M. Takahashi, K. Tanaka and Y. Nakano. 1977. Formation of active oxygen and its fate in chloroplasts. In *Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen*. Edited by O. Hayashi and K. Asada. 45-63. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo.
- Davis, B. J.: 1964. Disc electrophoresis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 404-427.
- Elstner, E. F., R. J. Youngman and W. O. Wald. 1983. Superoxide dismutase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd Ed. Vol. III, Edited by Bergmeyer 293-302. Verlag Chemie Press.
- Faulkner, I. S. 1974. Heritability of paraquat tolerance in *Lolium perenne* L. *Euphytica* 23: 281-288.
- Furusawa, I., K. Tanaka, P. Thanutong, A. Mizuguchi, M. Yazaki and K. Asada. 1984. Paraquat resistant tobacco calluses with en-

- hanced superoxide dismutase activity. *Plant and Cell Physiol.* 25: 1247-1254.
6. Harper, D. B. and M. R. Harvey. 1978. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass (II. Role of superoxide dismutase, catalase and peroxidase). *Plant Cell and Environment.* 1: 211-215.
  7. Harvey, B. M. R., J. Muldoon and H. B. Harper. 1978. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass (I. Uptake, metabolism and translocation of paraquat). *Plant Cell and Environment.* 1: 203-209.
  8. Hassen, M. M. and I. Fridovich. 1977. Regulation of the synthesis of superoxide dismutase in *E. coli*. Induction by methyl viologen. *J. Biol. Chem.* 252: 7667-7672.
  9. Hassen, M. M. and I. Fridovich. 1978. Superoxide radical and the oxygen enhancement of the toxicity of paraquat in *E. coli*. *J. Biol. Chem.* 253: 8143-8148.
  10. Itoh, K. and M. Miyahara. 1984. Inheritance of paraquat resistance in *Erigeron philadelphicus* L. *Weed Res. (Japan)* 29: 301-307.
  11. Kato, A., Y. Okuda, T. Juri, M. Dan and Y. Uejyo. 1982. Resistance to paraquat and diquat in *Erigeron canadensis* L. *Bull. Osaka Agri. Res. Center.* 19: 59-64.
  12. Kim, B. C. and K. U. Kim. 1986. Hormone effect on the callus induction from perennial weeds (Korean with English abstract). *Korean J. of Weed Sci.* 6: 25-32.
  13. Kim, K. U. 1984. Resistance of plants to herbicide (Korean with English abstract) *Korean J. of Weed Sci.* 4: 96-106.
  14. Kim, K. U., S. H. Kim and D. H. Shin, 1985. Herbicide screening through tissue culture. *Proceeding of 10th Asian Pacific Weed Science Society Conference held at Changmai, Thailand* 2: 50-58.
  15. Kim, K. U. 1985. Herbicide resistance in plant tissue culture. *Korean J. of Weed Science* 5: 9-14.
  16. Meredith C. P. and P. S. Carlson. 1982. Herbicide resistance in plant cell culture. *Herbicide resistance in plants*, ed. by LeBaron, H. M. and Gressel, J., John Wiley and Sons, N.Y.: 278-279.
  17. Ravinowitch, H. D., D. A. Clare, J. D. Crapo and I. Fridovich. 1983. Positive correlation between superoxide dismutase and I. Fridovich. 1983. Positive correlation between superoxide dismutase and resistance to paraquat toxicity in the green alga *Chlorella* Saro Kiniana. *Biochem, Biophys. Acta.* 225: 640-648.
  18. Scandellios, J. G. 1974. Isozyme in development and differentiation. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 25: 255-258.
  19. Thomas, B. R. and D. Pratt. 1982. Isolation of paraquat-tolerant mutants from tomato cell cultures. *Theor. Appl. Genet.* 63: 169-176.
  20. Watanabe, Y., T. Honma, K. Itoh and M. Miyahara 1982. Paraquat resistance in *Erigeron philadelphicus* L. *Weed Res. (Japan)* 27: 49-54.
  21. Worthington Enzyme Manual. 1972. Worthington Biochemical Corp. Freehold New Jersey, 41-45.
  22. 浅野絏臣, 1986. *Erigeron* 属のハラコト抵抗性變異. *雜草研究(日本)*, 31 (別): 83-84.
  23. 古澤巖・水口敦雄・田中國介・淺田浩二. 1985. パラコート耐性タバコ植物. *雜草研究(日本)*, 30 (別): 125-126.