

# 除草劑 Butachlor 및 Simetryne 에 抵抗性인 植物體 選拔育成

金吉雄\* · 金相鎬\*

## Development of Herbicide Resistant Plant Through Plant Tissue Culture

Kim K. U.\* and S. H. Kim\*

### ABSTRACT

This study was conducted to select and develop herbicide resistant plant through tissue culture. Growth response of seedlings and callis of various rice varieties with *Echinochloa* species was assessed under the treatment of various rates of butachlor [N-(butoxy methyl)-2-chloro-2', 6'-diethyl acetamide] and simetryne [2,4-bis(ethyl amino)-6-methyl thio-1,3,5-triazine]. Further, succinate dehydrogenase activity was determined in herbicide treated callus to characterize different response of plants to herbicide. Rice variety like Sangpung showed relative resistance in both callus and seedling states against butachlor, indicating maintenance of resistance. However, in the simetryne treatment, the similar response was not observed in callus and seedling state, although there was a great different response among plant materials against simetryne. Rice variety which exhibited resistance in callus and seedling states showed low succinate dehydrogenase inhibition index. Succinate dehydrogenase inhibition index can be used as an important marker characters to differentiate varietal response of plant to herbicide. Rice plant was differentiated from butachlor and simetryne tolerant callus treated at  $2.5 \times 10^{-5}$  M is growing under the growth chamber and can be used for resistant source.

Key words : Succinate dehydrogenase inhibition index, resistant plant, butachlor, simetryne

### 緒 論

除草劑에 대한 雜草의 耐性 및 生態型의 發見에 관한 研究가 最近 外國에서 triazine系 除草劑를 對象으로 많이 報告되어졌다. 쇠비름, 여뀌, 명아주, 피, 바랭이, 강아지풀<sup>1,2,4,5,6,7)</sup> 등의 雜草 가운데 triazine系에 抵抗性을 지닌 生態型이 存在한다고 한다. Triazine系 除草劑外에도 2,4-D, dalapon 및 pa-

raquat에 耐性雜草가 存在함이 報告되었다.<sup>8,13,15)</sup> 最近 坂齊<sup>20)</sup> 등은 paraquat에 대한 담배 proto-plast 培養을 통해 耐性植物體 選拔 및 分化에 대해 研究 報告한 바 있고, 古澤巖<sup>18,19)</sup>은 細胞培養法을 통하여 paraquat에 대한 담배 耐性植物體 選拔을 試圖하였고 耐性은 paraquat을 分離하는 superoxide dismutase (SOD)의 活性 및 電解物質의 漏出·差異에 起因한다고 報告한 바 있다. 또 Furusawa<sup>4)</sup> 등은 paraquat에 耐性인 담배의 카루스를 몇 차례 繼代培

\* 慶北大學校 農科大學 農學科

\* Dept. of Agronomy, Coll. of Agriculture, Kyungpook National Univ. Taegu 702-701, Korea

養으로 얻었으며 이 카루스의 SOD의 활성이 증가된 것이 **耐性의** 原因이 된다고 報告하였다. 그 밖에도 Meredith<sup>14)</sup> 등은 植物細胞培養으로 除草劑에 抵抗性 또는 耐性을 나타내는 變異種을 選拔할 수 있음을 報告하였고 Thomas<sup>16)</sup> 등은 토마토 細胞培養을 통해 paraquat에 耐性을 지닌 變異種을 選拔하였다. 金<sup>17)</sup> 등의 피 種類間 및 벼와 피의 카루스間에 除草劑 butachlor에 相異한 反應을 보인다는 事實과 벼의 品種型間 (Japonica, Indica, Japonica × Indica)의 triazine系 除草劑에 대한 相異한 反應을 보인다는 것을 基礎로 하여 카루스 培養을 통한 耐性植物 育成 方法의 基礎資料를 얻고자 本 試驗을 遂行하였다. 本 研究는 科學財團의 後援으로 이루어졌음을 밝혀둔다.

## 材料 및 方法

### 實驗 1. 카루스群의 活力檢定

카루스의 生死를 判別키 위하여 MS 培地에 監類 만을 넣고 除草劑 butachlor를  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M 濃度로 맞추어 添加하여 殺菌시킨 後 이 溶液 20 ml을 50 ml 삼각후라스크에 넣고 寒天培地에서 繼代培養된 카루스의 小片을 取하여 藥劑中에 添加한 後 振湯培養器 (100 回 往復, 30°C)에서 20 時間 培養했다. 카루스群의 活力檢定은 培養된 카루스를 homogenizer로 磨碎시킨 後 遠心分離하여 그 上勝液 3 ml을 Thunberg tube 主室에 넣고 副室에는 phosphate buffer와 基質인 succinate 및 TTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride) 溶液을 包含한 TTC 試藥을 4.5 ml 넣고 眞空 펌프로 減壓시킨 後 37°C 恒溫水槽에서 succinate dehydrogenase의 反應으로 生死를 判別하였다.

### 實驗 2. Butachlor에 대한 耐性反應

Succinate dehydrogenase의 活性檢定 : Succinate dehydrogenase의 活性檢定은 S. D. I (succinate dehydrogenase inhibition) 檢定法으로 하였다.

實驗上의 카루스 生死判別과 같이 Thunberg tube를 使用하여 粗酸素源인 0.1 M phosphate buffer (pH 7.6) 15 ml을 加하여 硝子 호모게나이저로 카루스를 磨碎한 後 遠心分離한 溶液 2 ml를 主室에 넣고 副室에는 1% TTC 液 (W/V) 1 ml 과 基質인 0.2 M succinate - Na<sub>2</sub> 1 ml 에 除草劑 濃度를 調整한 液을 넣어 主室과 副室을 附着시켜 眞空펌프로 2 分間減壓後 37°C에서 前處理시킨 後 副室의 液을

混合하여 버는 12 時間, 피는 1 時間 反應시킨 後 다음 還元된 TTC-H<sub>2</sub> fomazan 赤色色素를 測定하였다. 除草劑를 處理하지 않은 無處理區와 處理區間의 吸光度比로 그 活性의 程度로 S. D. I. 指數로 算出하였다.

Butachlor에 대한 幼植物體 및 카루스의 耐性反應 : 벼 및 피를 대상으로 幼植物이 butachlor에 어떠한 反應을 보이는가를 檢定키 위하여 butachlor 濃度를  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M로 調製하여 50 ml 프라스틱 用器에 넣고 整製된 土壤을 30 cm<sup>3</sup> 넣은 後 三葉期된 벼 및 피를 移植하여 10 日째 耐性을 檢定하였다. Butachlor  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M을 MS 培地에 添加하여 供試植物의 카루스 誘導에 미치는 影響을 究明코져 種子로부터 카루스를 誘導한 後 30 日째 카루스 增殖量을 調査하였다.

카루스群이 蛋白質 含量檢定 蛋白質 含量은 Bradford<sup>31)</sup> 方法으로 調査하였다. Butachlor  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M을 處理하여 增殖된 벼, 피 및 담배의 카루스 100 mg을 호모게나이저에 넣고 冷却된 0.1 M phosphate buffer 溶液 (pH 7.6) 2 ml을 넣은 後 호모게나이저시킨 後 遠心分離 (10,000g, 2°C, 30 分間) 하여 그 上勝液을 蛋白質源으로 하였다. 蛋白質 溶液 200 μl과 Coomassie Brilliant Blue G-250 蛋白質 發色試藥 5 ml을 넣어 反應시켜 2 分 後 spectrophotometer 595 nm에서 吸光度를 測定하였다. 이 때 bovine serum albumin을 對照로 定量하였다.

### 實驗 3. Simetryne에 대한 耐性反應

除草劑 simetryne 濃度를  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M로 調製된 土壤을 30 cm<sup>3</sup> 넣은 後 20 ml의 除草劑를 濃度別로 添加한 後 三葉期의 벼 三類型 (Japonica, Indica, Japonica × Indica)을 移植하고 10 日 後에 耐性의 程度를 檢定했다.

MS 培地에 2.4-D 2.4 mg/l을 添加하고 simetryne  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  M을 밀리포어필터를 通하여 殺菌하여 混合시킨 後 20 ml씩 12 × 150 mm 試驗官에 넣은 後 斜面培地를 만들어 三類型 (Japonica, Indica, Japonica × Indica)의 種子를 置床後 25 ± 1°C 恒溫機의 暗狀態에서 30 日間 培養 後 카루스의 生體重量 增加程度를 調査했다. 實驗 1 과 같은 方法으로 simetryne에 대한 succinate dehydrogenase의 活性檢定을 했다.

### 實驗 4. 耐性 카루스群의 分化

Butachlor 및 simetryne에 耐性을 지닌 植物을 選

拔育成코져  $10^{-6}$  M에 살아남은 카루스를  $2.5 \times 10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M,  $10 \times 10^{-5}$  M로 除草劑 濃度를 上昇시키면서 繼代培養을 通해 耐性 카루스群을 育成하였다. 이들을 分化培地(MS)에 넣어 植物로 分化를 試圖했다.

## 結果 및 考察

### 1. 耐性 카루스群의 特性檢定

誘導된 카루스의 生死를 檢定키 위하여 TTC 反應에 의한 succinate dehydrogenase의 生死를 調査한 成績은 表 1과 같다.

全 供試品種인 벼, 雜草 및 담배에서 誘導된 카루스間에는 카루스 增殖量에 많은 차이가 있으나 TTC에는 正(+)反應을 보여 酵素의 活性이 認定되었다. 處理濃度에 關係없이 카루스가 生存해 있음이 確認되었다. 金<sup>17)</sup> 등의 피에 대한 研究 結果에서도 除草劑 濃度에 關係없이 全 카루스가 全部 生存해 있음을 報告한 것과 類似한 것으로 思料된다.

### 2. Butachlor에 대한 反應

除草劑 butachlor에 대한 succinate dehydrogenase의 活性檢定으로 TTC 反應에 대한 succinate dehydrogenase inhibition(SDI) 指數는 表 2와 같다. SDI 指數가 butachlor 處理에서 낮은데 반하여 simetryne 處理에서는 높게 나타나서 simetryne 處理가 succinate dehydrogenase의 活性에 抑制現象을 나타냈다고 볼 수 있다. 品種間에는 Indica 나 Japonica보다 Indica x Japonica 交雜種에서 SDI가 낮았으며 오히려 Japonica에서 높았다. 피와 벼間에는 두 除草劑 共히 벼 가운데 SDI의 最高抑制를

Table 1. Reaction of succinate dehydrogenase in callus treated with butachlor against TTC.

Plant species		Conc. of butachlor (M)			
		$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$
Rice	Sangpung (J)	+ <sup>2)</sup>	+	+	+
	SR 10775-5-6 (IxJ) <sup>1)</sup>	+	+	+	++
	Taeback (IxJ)	+	+	+	+
	IR 2	+	+	+	+
Weed	<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	+	+	+	+
	<i>Echinochloa oryzicola</i>	+	+	+	+
Tobacco	By 4	+	+	+	+
	Burley 21	+	+	+	+

1) I: Indica type, J: Japonica type, IxJ: Indica x Japonica type

2) +: Positive reaction to TTC

나타낸 一般系인 상풍과 類似한 抑制反應을 보였다. 더욱 研究 檢討되어야겠지만 同一 除草劑에 대하여 벼 品種間에 SDI 指數에 差異가 있음을 알 수 있다. 이 結果는 Furusawa<sup>4)</sup> 등이 paraquat에 耐性인 담배 카루스에서 superoxide dismutase의 活性이 14~159 배 增加되어 SOD 活性差를 paraquat에 대한 담배의 抵抗性機構로 報告한 것과 類似한 맥락에서 檢討가 될 수 있는지 與否는 더욱더 研究되어야 할 것이다.

Butachlor에 대한 幼植物體의 耐性反應의 結果는 表 3과 같으며 butachlor의 無處理區에 대한 處理區 幼苗의 生長抑制率을 보면  $10^{-3}$  M에서는 全 供試 植物이 一般 벼인 상풍을 除外한 全 處理區에서는

Table 2. Effect of butachlor on succinate dehydrogenase activity in crude enzyme solution of callus.

Plant species	Conc.(M)	Butachlor		Inhibition index
		Treated one	Untreated one	
		$10^{-5}$ M	0	
OD (-logT)				
Rice <sup>1)</sup>	SR 10775-5-6 (I x J)	.481	.436	+ <sup>3)</sup>
	Taeback (I x J)	.136	.126	+
	Sangpung (J)	.042	.097	43.3
	IR 29 (I)	.304	.391	22.3
Weed <sup>2)</sup>	<i>Echinochloa oryzicola</i>	.114	.196	40.8

1) Reaction time with herbicide: 12 hr

2) Reaction time with herbicide: 1 hr

3) + indicates no inhibition

全部 枯死되는 現象을 보였다. 벼와 피 등의 全 供試植物 가운데서 上 품만 相對的 耐性이 있는 品種으로 나타났다. 上 품은  $10^{-4}$  M에서도 37%의 抑制率을 보여 가장 낮은 抑制率을 보였고  $10^{-5}$  M에서는 1백과 더불어 전혀 抑制現象을 보이지 않았다. 벼 品種群으로 보면 Japonica 型인 上 품이 Indica 型인 IR 29 보다 耐性의 程度가 큰 것 같으며 Indica x Japonica 交雜種은 Indica 型과 Japonica 型的 中間反應을 나타냈다(表 3).

벼와 피를 比較하면 피가 根本的으로 butachlor 에 感受性을 나타내며 벼보다 抑制 程度가 顯著히 컸다. 上 품이나 1백 間에는  $10^{-5}$  M 處理에서 전혀 抑制가 없었으나 돌피 77%, 강피 37%의 抑制를 나타내서 根本的으로 피가 벼보다 感受性을 나타낼 을 立證할 수 있었고 피 種類間에도 多小의 差異가 있었다(表 3).

表 4는 上記의 벼 및 피 種子로부터 카루스를 誘導시키면서 butachlor 處理가 카루스 增殖에 어떤 影響을 미치는가를 究明한 結果로서 벼의 경우에는 1백이나 SR 1077-5-6 등이  $10^{-6}$  M에서 아무런 影響을 보이지 않았으나 濃도가 높아짐에 따라 顯著한 抑制現象을 나타냈다.  $10^{-5}$  M 以上에서는 全 供試品種에서 카루스의 增殖이 抑制되어서 品種間 差異를 說明하기는 매우 어렵다. 그러나 上 품은  $10^{-3}$  M에서도 極小量의 카루스가 形成되어 카루스 狀態에서도 供試品種 가운데 가장 耐性을 나타내는 것으로 믿어지며 이와같은 結果는 幼植物의 反應과 一致

Table 3. % inhibition of plant species at 3 leaf stage treated by butachlor<sup>1)</sup>.

Plant species	Butachlor (M)	% inhibition			
		$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$
Rice	Sangpung (J) <sup>2)</sup>	0 <sup>3)</sup>	0	37	85
	SR 10775-5-6 (IxJ)	0	30	50	98
	Taeback (IxJ)	0	0	40	100
	IR 29 (I)	0	13	53	100
Weed	<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	53	77	95	100
	<i>Echinochloa oryzicola</i>	10	37	95	100

1) % inhibition based on visual rating

2) J: Japonica type, I: Indica type, IxJ: Indica x Japonica type

3) 0 indicates no inhibition

하는 것으로 思料된다. 그러나 butachlor에 대한 벼의 幼苗反應과 카루스 增殖 反應이나 succinate dehydrogenase의 活性抑制 反應 등 3 種類의 反應 結果가 同一한 耐性을 보이지는 않았으나 1백만이 3 類型的 反應에 一貫性을 보였다. 誘導된 카루스에 12 時間만 除草劑와 反應을 시킨 後 succinate dehydrogenase의 活性을 檢定했기 때문에 相異한 反應差가 생겨났을지도 모르기 때문에 12 時間보다 長時間 處理後의 反應을 檢定中에 있다. 蛋白質代謝를 抑制하는 作用機作을 가진 butachlor 은 카루스 狀態에서 品種間에 差異를 나타내지 않았다. 根本的으로

Table 4. Percentage inhibition of callus fresh weight derived from seeds of rice and barnyardgrass, and pith from tobacco plant treated with butachlor.

Plant species	Butachlor (M)	% inhibition			
		$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$
Rice <sup>1)</sup>	Sangpung (J) <sup>3)</sup>	9.1	52.5	76.0	99.0
	SR 10775-5-6 (IxJ)	0.4	52.3	78.8	100.0
	Taeback (I x J)	0.0 <sup>4)</sup>	62.1	100.0	100.0
	IR 29 (I)	12.0	87.8	94.0	100.0
Weed <sup>1)</sup>	<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	42.0	67.5	89.2	100.0
	<i>Echinochloa oryzicola</i>	24.6	61.2	88.7	100.0
Tobacco <sup>2)</sup>	By 4	82.1	84.9	88.7	100.0
	Burley 21	93.3	90.6	89.9	100.0

1) Fresh weight of rice and weed determined at 30 days after treatment

2) Fresh weight of tobacco determined at 15 days after treatment

3) J: Japonica type, I: Indica type, IxJ: Indica x Japonica type

4) 0 indicates no inhibition

Table 5. Protein content of callus derived from seeds of rice and barnyardgrass as affected by butachlor treatment.

Plant species	Untreated control (μg/ml)	% of Untreated control				
		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Rice	Sangpung	960	- <sup>1)</sup>	-	+ <sup>2)</sup>	0 <sup>3)</sup>
	Taeback	1060	+	++	-	0
Weed	<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	720	+	+	0	0
	<i>Echinochloa oryzicola</i>	770	+	+	0	0

- 1) Negative (-) sign indicates a little lower than the untreated control  
 2) Positive (+) sign indicates a little higher than the untreated control  
 3) 0 indicates no callus in that concentration

피보다는 벼의 抑制率이 낮은 것으로 보아 種間에는 感受性에 差異가 있는 것으로 思料된다. 담배의 경우는 butachlor 處理가 카루스의 增殖量을 顯著히 減小시켰으며 品種間에 By 4 에서 가장 抑制率이었다. 담배는 品種間 反應差가 벼에 比하여 작아서 벼를 對象으로 耐性에 대한 研究를 계속했다. 金<sup>10)</sup> 등은 벼, 피, 바랭이間에 酸 아미이드系 除草劑인 butachlor 나 metolachlor 의 處理濃도에 따라 種間에 顯著한 差異를 보였으며 특히 벼가 두 除草劑濃도에 關係없이 가장 抑制率이었다는 報告와 本試驗의 結果와 類似하다고 思料된다. Hirono<sup>9)</sup>는 禾本科에 특히 有效한 除草劑인 alloxidim 을 處理했을 때 大豆에 比하여 바랭이 및 강아지풀 등의 카루스 增殖이 顯著히 抑制되어 植物體間의 alloxidim 에 대한 選擇의 差異를 題示한 바 있고 이들의 差異가 細胞水準의 本質의 差異에 起因되는 것으로 報告한 바 있다.

카루스群의 蛋白質 含量을 Bradford<sup>3)</sup> 方法으로 檢定해 본 結果 soluble 蛋白質 含量은 種間에는 多小의 含量 差異가 있었으나 同一品種間의 butachlor 處理 濃度間에는 一定한 傾向이 認定되지 않았다(表 5). 增殖된 카루스의 總量으로 蛋白質을 檢定하였으면 差異가 있을지 모르지만 同一한 단위 무게를 使用하면서는 差異가 認定되지 않은 것 같기도 하다. 따라서 蛋白質 含量檢定이 處理 濃度間의 카루스의 增殖差異나 幼植物體 檢定에서 얻어진 品種間 差異를 立證해 줄 수 있는 特性이 될 수 없는 것 같다. 다른 品種에 대한 蛋白質含量的 結果도 있었으나 傾向値가 一定하지 못하여 挿入하지 않았다.

### 3. Simetryne 에 대한 耐性 카루스群과 幼植物의 特性比較

三類型의 벼 幼植物이 simetryne 10<sup>-5</sup>~10<sup>-3</sup> M 濃度 處理時 얻어진 反應은 表 6 과 같다. Simetryne 은 butachlor 와는 달리 光合成을 抑制시키는 triazine 除草劑로서 벼 品種間에 反應을 달리한다는 金<sup>12)</sup> 등의 報告에 의해 幼苗期에 있는 三類型間의 品種間 反應을 檢定했다.

Simetryne 에 대한 幼苗期의 反應은 植物體種間에 顯著한 差異를 보였고 벼는 根源의으로 피보다 耐性이 強하며 벼 가운데서는 Japonica 型이 Indica 型보다 耐性이 強하였고, Indica × Japonica 交雜型도 Indica 型보다는 훨씬 耐性을 나타내는 것으로 檢定되었다(表 6). Indica 型인 IR29 에서는 10<sup>-6</sup> M 및 10<sup>-5</sup> M의 simetryne 에서 40 및 63%의 抑制率을 보였으나 Japonica 型인 상풍벼나 Indica × Japonica 인 태백벼나 SR-10775-5-6은 전혀 抑制를 보이지 않았다. Butachlor 보다 simetryne 處理區에서 현저한 品種間의 反應差를 보였고 感受性的 程度를 달리하여서 simetryne 과 벼 品種間에 耐性研究가 가능하리라 사료되었다.

Simetryne 에 대한 벼 類型別 카루스 增殖反應은 그림 1 과 같다. 高濃度인 10<sup>-3</sup> M에서는 상풍벼를 除外한 모든 品種에서 카루스가 誘導되지 않았으나 10<sup>-4</sup> M에서는 50% 以上, 10<sup>-5</sup> M 및 10<sup>-6</sup> M 處理區에서는 無處理와 거의 같은 100% 增殖率을 나타내 抵濃度에서는 뚜렷한 差가 認定되지 않았고 벼 類型間에도 뚜렷한 差異가 認定되지 않았다. 이와같은 反應은 幼苗의 反應과는 달리 光合成을 抑

Table 6. Percentage inhibition of plant species at 3 leaf stage treated by simetryne .

Plant species	Butachlor (M)	% inhibition <sup>1)</sup>			
		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>
Rice	Sangpung (J) <sup>2)</sup>	0 <sup>3)</sup>	0	37	100
	SR 10775-5-6 (I x J)	0	0	87	100
	Taeback (I x J)	0	0	100	100
	IR 29 (I)	40	63	100	100
Weed	<i>Echinochloa crus-galli</i> <i>var. crus-galli</i>	30	88	100	100
	<i>Echinochloa oryzicola</i>	96	93	100	100

- 1) % inhibition based on visual rating  
 2) J: Japonica type, I: Indica type, IxJ: Indica x Japonica type  
 3) 0 indicates no inhibition

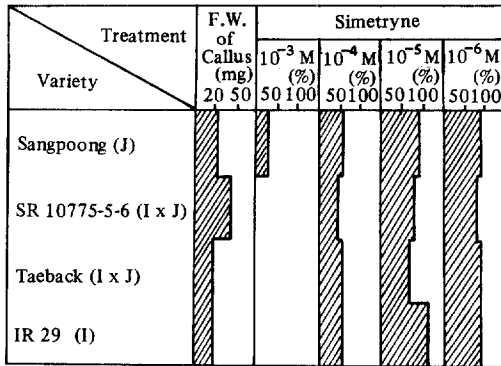


Fig. 1. Varietal resistance in callus test.  
 Duration of simetryne treatments: 30 days.

$$\text{Resistance} = \frac{\text{callus fresh weight per seed (treated)}}{\text{callus fresh weight per seed (untreated)}} \times 100$$

Table 7. Effect of simetryne on succinate dehydrogenase activity in crude enzyme solution of callus.

Plant species	Conc. (M)	Butachlor		Inhibition index
		Treated one 10 <sup>-5</sup> M	Untreated one 0	
OD (-log T)				
Rice <sup>1)</sup>	SR 10775-5-6 (I X J)	.359	.436	17.7
	Taeback (I x J)	.105	.126	16.7
	Sangpung (J)	.021	.097	87.2
	IR 29 (I)	.163	.391	58.3
Weed <sup>2)</sup>	<i>Echinochloa oryzicola</i>	.042	.2000	79.0

- 1) Reaction time with herbicide: 12 hr  
 2) Reaction time with herbicide: 1 hr  
 3) + indicates no inhibition

制함으로 카루스 상태에서는 차가 없지 않나 思料된다. 그러나 상풍벼는 butachlor 에서도 相對的 耐性을 보였고 simetryne 10<sup>-3</sup>M 處理區에서 多小 增殖이 되는 것을 미루어 보아 根本的으로 除草劑에 대한 耐性이 있는지는 더욱 檢定해야 할 것이다. 그러나 succinate dehydrogenase inhibition index (S. D. I)의 指數를 보면 表 7 과 같고 오히려 simetryne 10<sup>-5</sup>M 處理區에서 상풍벼가 87.2%의 抑制現象을 나타내서 幼苗反應 및 카루스 增殖培養과 一致하는 傾向을 보이지 않는 것으로 思料된다.

#### 4. 耐性 카루스群의 分化

Butachlor 와 simetryne 에 相對的 耐性을 나타내

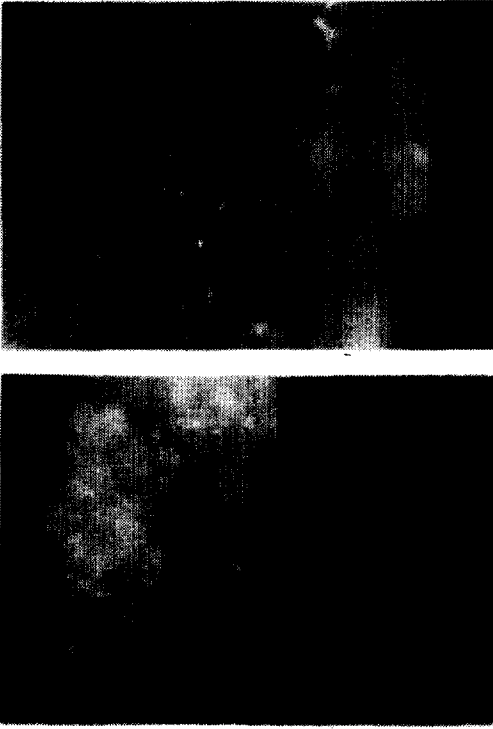


Fig. 2. Shooting and rooting of herbicide tolerant callus  
 Herbicide: Butachlor (A), Simetryne (B)  
 Concentration:  $2 \times 10^{-5} M$   
 Rice variety: Taebak

는 상풍과 태백벼의 카루스를  $10^{-5} M$  ( $10 \mu M$ ) 處理區에서  $2.5 \times 10^{-5}$  ( $25 \mu M$ ),  $5 \times 10^{-5} M$  ( $50 \mu M$ ) 으로 濃度를 서서히 增加시키면서 繼代培養했다.  $10^{-5} M$ 에서 30日間 培養된 카루스는 2.5 배 增加시킨 濃度에서는 카루스가 增殖되지 않았다. 數次的 反復에도 불구하고 더 이상의 濃度增加에서는 succinate dehydrogenase 에 대하여 카루스가 反應을 보이거나 카루스 그 자체는 生理生化學的으로 크게 抑制影響을 받은 것으로 나타났다. 이리하여  $2.5 \times 10^{-5} M$ 에서 살아남은 카루스를 分化시켰다. 카루스 自體가 生理生化學的으로 크게 抑制影響을 받은 關係로 分化시키는 것은 매우 어려웠으나 數次的 試圖下에 分化植物이 誘導되었고 그림 2와 같으며 shooting 및 rooting 되었다.

이상의 結果를 綜合해 보면 첫째로 벼 品種 가운데 특히 상풍은 butachlor 除草劑에 대해 幼苗期나 카루스 增殖反應에서 相對的 耐性을 나타내어 根源의 인 耐性이 存在함을 암시해 주고 있다. 둘째로 simetryn 을 상풍벼의 幼植物에 處理했을때도 상풍벼는 다소 耐性을 나타내어 相異한 除草劑에 同一한 耐性을 나타내는지 계속 檢討가 要하는 結果를 얻었다. 세째로 除草劑가 處理된 培地에서 살아남은 카루스

로부터 植物體를 分化시킬 수 있었다.

금후 分化植物體의 耐性을 再檢定하고 耐性카루스로부터 耐性 cell line 을 얻게 되면 耐性植物을 育成할 수 있을 것으로 期待된다.

### 摘 要

雜草發生前에 處理하며 蛋白質代謝를 抑制하는 作用機作을 가진 butachlor 와 雜草發生後에 處理하여 光合成을 抑制하는 simetryne 에 耐性을 지닌 植物體를 育成키 위하여 本實驗을 遂行하여 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 카루스의 生死與否는 TTC의 反應으로 간단히 檢定可能하며 濃度에 關係없이 全共試品種이 生存하였다.

2. Succinate dehydrogenase inhibition index (S. D. I.)로 본 butachlor 에 대한 벼 品種間 差는 카루스 增殖反應과 幼植物體反應과는 多少 一致하는 傾向을 보였다.

3. Simetryne 을 幼苗期의 벼에 處理하면 品種間에 뚜렷한 反應이 있었고 Japonica 型이 耐性을 나타내었다. 그러나 카루스增殖面에서 본 simetryne

의 影響은 幼苗期와 一致하지 않으며 抑制程度가 butachlor 보다 낮았다.

4. Butachlor 에 耐性을 보이는 상풍벼는 simetryne 에도 耐性을 多少 나타냈다.

5. Simetryne 과 butachlor 處理區에서 살아남은 카루스로부터 分化植物體를 誘導하였다.

### 引用 文 獻

1. Ammon, H. U., Kombination chemisch-, mechanisch- und biologischer Methoden zur Unkrautigen Maisbau und erste Resultate über die Beeinflussung bodenphysikalischer Kenwerte, Proc. EWRS Symp. Method of Weed Control and Their Integration. 243(1977).
2. Blein, J. P. 1980. Mise en culture de cellulose de jeunes plantes de *Chenopodium album* sensibles ou résistantes à l'atrazine. *Physiol. Vege.*, 18: 703.
3. Bradford M.M.: 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.
4. Furusawa, I., K. Tanaka, P. Thanutong, A. Mizuguchi, M. Yazaki and K. Asada. 1984. Paraquat resistant tobacco calluses with enhanced superoxide dismutase activity. *Plant and Cell Physiol.* 25:1247-1254.
5. Gasquez, J. and J. P. Compoint. 1980. Trois nouvelles mauvaises herbes résistantes aux triazines en France; *Amaranthus retroflexus* s. l., *Chenopodium polyspermum* L., *Polygonum persicaria* L.. *Chemosphere.* 9:39.
6. Gasquez, J. and G. Barralis. 1978. Observation et selection chez *Chenopodium album* L. d'individus résistants aux triazines. *Chemosphere.* 7:911.
7. Grignac, P., The evolution of resistance to herbicide in weedy species. *Agro-ecosystems.* 4: 377(1978).
8. Hanioka, Y. 1983. Paraquat-resistant biotype of *Erigeron philadelphicus* L. in mulberry fields in Saitama. *Weed Research (Japan).* 28(3):213.
9. Hirono, Y. and H. Ishikawa. 1981. Selective activity of a herbicide, alloxidum-sodium. *Chemical Regulation of Plants (Japan).* 16(2): 137-141.
10. K. U. Kim, S. H. Kim and D. H. Shin. 1985. Development of a Herbicide Screening Method through Tissue Culture. The proceeding of 10th Asians Pacific weed Science Society. Vol. 2:70-76.
11. Kim, Kil Ung. 1983. Resistance of Plants to Herbicide. Paper presented at "Seminar on Weed Control" cosponsored by FFEC/ASPAC/ORD at Suweon, Korea, from September 13 to 14, 1983.
12. Kim, Kil Ung, et al., 1975. Rice Varietal Response to Various Preemergence Herbicide. Proc. of the Fifth Asian-Pacific Weed Sci. Soc. Conference. 288-302.
13. McCall, B., 1954. Are our weeds becoming more resistant to herbicides? *Hawaiian Sugar Technol. Rep.*, 146.
14. 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.
15. Roche, B. F. and T. J. Muzik. 1964. Ecological and physiological study of *Echinochloa crus-galli* (L) Beauv. and response of its biotypes to sodium 2,2-dichloropropionate, *Agron. J.*, 56: 155.
16. Thomas, B. R. and D. Pratt. 1982. Isolation of paraquat-tolerant mutants from tomato cell cultures. *Theor. Appl. Genet.* 63:169-176.
17. 김길웅. 1984. 식물체 조직배양과 재초체 저항성. *한국잡초학회지* 5권 1호: 9~14.
18. 古澤巖. 1984. Protoplast의 재초체 내성 카루스와 재생식물에 대해서. *雜草研究(일본)* 29(월): 157~158.
19. 古澤巖·水口敦雄. 1985. Paraquat에 耐性 Tobacco Plant. *雜草研究(일본)* 30(월): 125~126.
20. 坂齊·千坂莫雄. 1984. Paraquat에 내성인 *Erigeron Philadelphicus*의 耐性기구에 대하여. *雜草研究(일본)* 29(월): 159~160.