

**Ethalfuralin이 귀리(*Avena sativa* L.)의 生長抑制에 미치는 영향**  
 鄭南龍·權晨煥·金裁詰\*

**The Mode of Action of Ethalfuralin on Growth Inhibition  
in Oat(*Avena sativa* L.)**

Chung, N.Y., S.W. Kwon and J.C. Kim\*

**ABSTRACT**

The effects of varying concentrations and durations of ethalfuralin (N-ethyl-N-(2-methyl-2-propenyl)-2, 6-dinitro-4-(trifluoromethyl) benzenamine) treated on oat (*Avena sativa* L.) cell division, cell enlargement, protein synthesis and histology were studied. After 6hr treatment, all concentrations ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}$ ) of ethalfuralin arrested completely metaphase in the cell division study. The oat coleoptile inhibition of straight-growth test were used to determine the influence of ethalfuralin on coleoptile growth. A range of all concentrations ( $1 \times 10^{-8}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ ) treatment did affect cell enlargement significantly. The  $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$  concentrations reduced approximately over 50% cell enlargement. Protein incorporation study showed that all concentrations ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ ) were not affected in protein synthesis. To investigate histological effects, the oats were treated for 24hr with  $1 \times 10^{-7}M$ . The longitudinal section cells, in the treated oat root tips were appeared to be enlarged and also showed lacking cytoplasm, multinucleate or abnormal cells compare with untreated roots.

Key words : Cell division, Cell enlargement, Protein synthesis, Multinucleate, *Avena sativa*

**緒 言**

除草劑 Ethalfuralin [N, ethyl-N-(2-methyl-2-propenyl)-2, 6-dinitro-4-(trifluoromethyl) benzenamine)은 미국 ELi Lilly가 開發한 dinitroaniline 계통으로 禾本科 잡초에 작용이 강하고, 廣葉잡초 일부에도 살초 효과가 좋은 제초제로 알려져 있다. 미국에서는 목화 및 콩밭에서 토양혼화 또는 표면처리 제초제로 쓰이고 있으며, 우리나라에서는 1988년 콩밭 제초제로 고시되어 판매되고 있다. 외국에서는 오이, 참외, 배추, 토마토등 주요 채소류의 제초제로 등록되어 사용되고 있으므로 그적용 대상 작물의 범위가 더욱 더 넓어질 것으로 사료된다.

植物이 生長을 하기 위해서는 細胞에서 DNA

複製, 細胞分裂 및 細胞伸長 등이 요구되는데 除草劑를 살포하면 1차적으로 生花學的, 甥物理學的의 저해로 인하여 植物의 生長을 抑制시키는 것으로 보고되어 있다.<sup>1)</sup> Ethalfuralin은 잡초의 根部와 일부 幼芽部에서 흡수되어 細胞分裂이 왕성한 生長點에 집적되어 細胞分裂을 저해하여 生長을 멈추게 하므로써 植物體를 枯死시키는 것으로 알려져 있으나<sup>1)</sup>作用機作은 아직 연구, 보고된 것이 많지 않다.

본 연구는 ethalfuralin의 作用機作을 구명하기 위하여 除草劑의 作用에 민감한 귀리 (*Avena sativa* L.)를 택하여 細胞分裂, 細胞伸長 및 蛋白質 合成 그리고 組織의 변화를 조사하여 效果的인 除草劑 사용의 기초 자료로 이용하고자 본 실험을 실시하였다.

\* 全北大學校 農科大學 College of Agriculture, Chonbuk National University, Jeonju 560-756, Korea.

## 材料 및 方法

### 1. 細胞分裂에 미치는 影響

Ethalfuralin을  $1 \times 10^{-4}M$  CaSO<sub>4</sub> 용액에 희석하여 ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ ) 각 petri dish에 5ml를 부은 다음 25개의 커피를 놓고,  $22 \pm 1^\circ C$  암상태를 유지하였다. 6, 12, 18 및 24시간 후에 각 처리구로부터 6개의 뿌리를 무작위로 채취하여, 채취된 시료는 Carnoy's 용액 (ethanol: glacial acetic-acid=3:1)에 1시간 정도 固定하여 모든 시료가 채취될 때 까지 냉상고 ( $4^\circ C$ )에 보관한 후, 뿌리에 묻은 固定液을 증류수로 水洗하여  $60^\circ C$  1N HCL에 11분간 加水分解시킨 다음, Sciff's reagent에 옮겼다. 각 뿌리는 암상태에서 25분 정도 染色液에 담근 후, 5% pectinase (PH 4.0) 용액에 옮겨, <sup>12)</sup>  $30^\circ C$  生長箱에서 적어도 8시간 이상 지난 다음 slide glass 위에 놓고 2mm 길이로 근단을 잘라서 45% glacial acetic acid (V/V)를 1-2 방울 떨어뜨린 다음, cover glass를 덮고 분산되도록 으개었다. 永久 slide를 만들기 위하여 ethanol: tertiary butyl alcohol (1:9, V/V) 용액으로 脫水한 후 canada-balsam으로 mounting하여  $200 \times$  배율로 하여 관찰한 1000개의 細胞중 分裂하고 있는 細胞를 前期, 中期, 後期 및 末期로 구분하여 각 자료를 D.M. R.T를 통계처리 하였으며, 모든 처리구는 3반복하였다.

### 2. 細胞伸長에 미치는 影響

커피는 암상태  $22 \pm 1^\circ C$ 를 유지하며 4일 동안 습윤한 蛭石에서 發芽시켰다. 이때 모든 작업은 phytochrome의 合成을 방지하기 위하여 暗室에서 준비하였다. 커피의 莖葉이 3-4cm 정도 자랐을 때, 莖葉의 끝으로 부터 3mm 부위를 제외하고 5mm 길이로 切斷하여 농도별 ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ ) 제조제가 처리된 10mM phosassium phosphatemedium (PH 5.2) 10ml를 6cm petri dish에 넣은 후 빛을 차단하기 위하여 aluminum foil로 싸서  $25^\circ C$ 의 水浴槽에 24시간 동안 shaking (lucycle/sec) 하여 24시간 처리후 莖葉의 길이를 colny counter로 측정하였으며 처리구당 30개씩 3반복 하였다.

### 3. 蛋白質 合成에 미치는 影響

9cm disposal petri dish에  $2 \times 10^{-4}M$  CaSO<sub>4</sub> 용액에 除草劑를 일정 농도 ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ )로 희석하여 蛋白質 前驅物質인 <sup>16</sup>C-leucine (50uci/ml, sp. Act, 54mci/mM, Amersham)을 첨가하여 20ml를 부은 다음 철망을 깔고 그 위에 48시간 동안 發芽시킨 길이가 균일한 커피를 옮긴 후 8시간 동안 液狀에서 暗培養시켰다. 각 처리구당 45개의 뿌리를 채취하여 15개씩 반복하여 2mm 길이로 근단을 잘라서 이것을 5ml의 cold 80% ethanol이 들어있는 homogenizer에 넣고 완전히 磨碎하여 Kim<sup>5)</sup>등이 사용한 방법으로 측정하였다.

### 4. 組織의 變化에 미치는 影響

48시간 동안 균일하게 發芽시킨 커피를 ethalfuralin  $1 \times 10^{-7}M$ ,  $1 \times 10^{-5}M$  및  $1 \times 10^{-3}M$  농도로 처리한 petri dish에 옮겨 暗培養하였다. 24시간 후 각 처리구당 10개의 시료를 채취하여 Nawaschin's 용액에 24시간 固定한 후, 시료를 butyl-alcohol series로 脫水시켰으며, paraffin을 浸透시켜 embedding 한 후 10um로 切斷하여 hematoxylin으로 30분간 染色하여 鏡檢하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 細胞分裂에 미치는 影響

식물의 성장과 발달은 세포분열, 세포신장 및 분화가 진행되면서 이루어진다.<sup>15)</sup> Ethalfuralin의 각종 농도와 시간에 따라 細胞分裂에 미치는 影響은 Table 1과 같다. 처리 6시간 후 모든 농도 ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}M$ )에서 分裂하는 總細胞數는 거의 비슷하게 나타났으나 고농도 일수록 前期의 細胞數는 감소되는 반면, 비정상적으로 나타나는 中期의 細胞數는 증가되었고 後期와 末期는 전혀 나타나지 않았다. 이와같이 中期의 분열 세포수가 증가하고 後期와 末期의 細胞가 전혀 나타나지 않은 것은 ethalfuralin이 細胞分裂 중 中期에서 어느 한 부분을 阻害시켜 다음 단계로의 진행을 抑制시키는 것으로 생각된다. 처리 6시간 후 부터 染色體가 정상적인 상태로 赤道板에 정렬되어 있지 않고 染色體들이 세포에 흩어져 있었으며 (Photo. 1) 또한, 染色體가 정상 염색체 (Photo. 2) 보다 매우 두껍고 짧은 것으로

**Table 1.** Effect of exposure times and concentrations of ethalfluralin on mitotic index and distribution of mitotic stages in oat root tips.

Incubation times (h)	Concentrations (M)	Dividing cells (No./1000cells)		Distribution of mitotic stages (No./1000cells)			
		mitotic index	% of control	Prophase	Metaphase	Anaphase	Telophase
6	control	124a	100	63a	30e	18a	13a
	10 <sup>-6</sup>	99b	80	57b	42d	0b	0b
	10 <sup>-5</sup>	102b	82	55b	47c	0b	0b
	10 <sup>-4</sup>	103b	83	50c	53b	0b	0b
	10 <sup>-3</sup>	102b	82	41d	61a	0b	0b
12	control	125a	100	65a	31e	18a	11a
	10 <sup>-6</sup>	98b	78	45d	53d	0b	0b
	10 <sup>-5</sup>	100b	80	43bc	57c	0b	0b
	10 <sup>-4</sup>	103b	82	40c	63b	0b	0b
	10 <sup>-3</sup>	103b	82	33d	70a	0b	0b
18	control	121a	100	64a	31d	15a	11a
	10 <sup>-6</sup>	98b	81	38b	60c	0b	0b
	10 <sup>-5</sup>	98b	81	35b	63c	0b	0b
	10 <sup>-4</sup>	100b	83	30c	70b	0b	0b
	10 <sup>-3</sup>	103b	85	26d	77a	0b	0b
24	control	114a	100	61a	29e	13a	11a
	10 <sup>-6</sup>	100d	88	33b	67e	0b	0b
	10 <sup>-5</sup>	103cd	90	30c	73c	0b	0b
	10 <sup>-4</sup>	105bd	92	27d	78b	0b	0b
	10 <sup>-3</sup>	108b	95	25d	83a	0b	0b

In a column each exposure time, means followed by a same letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

나타났다 (Photo. 3). 양파와 밀의 근단에 trifluralin을 처리하여 3시간 후 細胞分裂의 작용은 中期抑制率이 증가하고 後期和 末期의 수치가 감소되었다고 보고 하였으며, trifluralin을 옥수수 와 밀의 근단에 처리하였을 때 末期의 수치가 아주 적었다고 발표되어 있다.<sup>6,7)</sup> 본 실험에서도 分裂期 중 metaphase arrest로 인하여 정상적인 細胞分裂을 抑制시킴으로써 식물의 生長이 抑制되는 것으로 思料된다.

## 2. 細胞伸長에 미치는 影響

細胞伸長을 조사하기 위해서는 細胞分裂이 없고 細胞伸長만 이루어지는 韜葉을 이용하는 것이 가장 적절하다고 한다.<sup>2)</sup> 細胞의 伸長은 농도차, 세포벽의 신장성 및 수분의 전도율에 의해서 이루어진다고 하였는데<sup>15)</sup> 본 실험에서 얻은 ethalfluralin의 伸長抑制에 대한 影響은 Table 2에 조사되어 있다. 모든 처리농도(1×10<sup>-8</sup>M to 1×10<sup>-3</sup>M)에서 무처리구와 처리구간에는 유의성이

**Table 2.** The effect of ethalfluralin on coleoptile growth length of oats 1 day after treatment.

Concentration	Coleoptile growth length <sup>1)</sup> (mm)	% of control
control	1.04a	
1×10 <sup>-8</sup> M	0.72b	69%
1×10 <sup>-7</sup> M	0.68b	65%
1×10 <sup>-6</sup> M	0.55c	53%
1×10 <sup>-5</sup> M	0.49cd	47%
1×10 <sup>-4</sup> M	0.41d	39%
1×10 <sup>-3</sup> M	0.13e	13%

<sup>1)</sup>Mean values within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level of the Duncan's multiple range test.

있으며, 처리 24시간 후 무처리구는 鞘葉의 길이가 1.04mm이고, 저농도인  $1 \times 10^{-6}M$ 은 72mm, 고농도인  $1 \times 10^{-3}M$ 은 0.13mm이었다. 또한 처리구는  $1 \times 10^{-6}M$  이상에서 50%정도 伸長이 抑制되었고,  $1 \times 10^{-3}M$ 은 87% 抑制를 보임으로써 ethalfluralin은 농도가 증가함에 따라 伸長抑制率이 증가하는 것으로 나타났다.

### 3. 蛋白質 合成에 미치는 影響

蛋白質 合成에 대한 ethalfluralin의 影響은 Table 3.와 같다. 처리 8시간 후 모든 농도 ( $1 \times 10^{-6}M - 1 \times 10^{-3}M$ )에서 蛋白質 合成에 影響이 없었다. 처리기간 동안 무처리구와 비교하여 저농도인  $1 \times 10^{-6}M$ 은 80% 증가하였고, 고농도인  $1 \times 10^{-3}M$ 도 7%가 증가하였다. Trifluralin을 옥수수에 처리하였을 때 蛋白質은 뿌리가 27% 감소하였고 줄기는 16% 증가하였다고 보고되어 있으며, <sup>13,14)</sup> trifluralin을 2ppm과 5ppm을 처리하였을 때 보리는 8%와 3%가 抑制되고 대마는 13%와 27%가 抑制되었다고 발표되어 있다. <sup>9)</sup> 또한 trifluralin은 蛋白質 合成에 影響을 미치지 않는다는 보고도 있다. <sup>3,11)</sup> 본 실험에서 조사한 細胞分裂 및 細胞伸長은 ethalfluralin의 모든 농도가 影響을 미쳤음에도 불구하고 蛋白質 合成이 증가한 이러한 결과는 Moreland<sup>10)</sup>가 제시한 除草劑의 機作중 ethalfluralin이 蛋白質 合成에 2차 機作으로 작용하는 것으로 보이며 除草劑로 인한 stress에 적응하기 위하여 蛋白質 合成이 증가한 것으로 생각된다. <sup>5)</sup>

### 4. 組織의 變化에 미치는 影響

무처리구와 처리구간의 근단 조직을 longitudinal section 하여 조사한 결과는 photo 4,5와 같

**Table 3.** Effect of ethalfluralin on protein synthesis as measured by <sup>14</sup>C-leucine incorporation after 8hr.

Concentration (M)	<sup>14</sup> C-leucine incorporation	
	cpm A/K	% of control
control	32440	
$1 \times 10^{-6}$	58546	180.5
$1 \times 10^{-5}$	54070	166.7
$1 \times 10^{-4}$	57612	177.6
$1 \times 10^{-3}$	34740	107.1

Values are mean of three replicates with 15 root tips per replicate.

다. 처리구는 무처리구에 비하여 表皮, 內皮細胞가 伸長되어 있으며 세포질이 없는 細胞, 多核細胞 및 균일하지 않은 核, 그리고 分裂組織의 變위가 감소되어 있음이 관찰되었다. 미분화된 내초와 內皮의 細胞는 分裂組織의 細胞보다 除草劑에 더 민감하다고 제시되어 있으며, <sup>1,8)</sup> trifluralin을 옥수수에 처리하였을 때 細胞分裂이 抑制되고 分裂核 및 균일하지 않은 核이 많이 관찰되었으며, 細胞의 伸長은 계속되지만 分化는 일어나지 않았다고 보고하고 있다. <sup>4)</sup> 組織의 變化를 관찰한 결과 ethalfluralin의 作用機作은 근단세포의 액포증가와 세포벽의 異常인 伸長등으로 인하여 細胞의 老化를 촉진시켜 植物體를 枯死시키는 것으로 생각된다.

### 摘 要

식물생장 억제제인 ethalfluralin의 작용기구를 구명하기 위하여 제초제의 작용에 민감한 귀리 (*Avena sativa* L.)를 택하여 조사한 細胞分裂, 細胞伸長 및 蛋白質 合成 그리고 組織의 變化에 미치는 영향을 要約하면 다음과 같다.

1. Ethalfluralin를 처리한 모든 처리구의 細胞分裂 抑制효과는 metaphase arrest로 인하여 後期와 末期의 細胞分裂이 나타나지 않았다.
2. 細胞伸長 抑制효과는  $1 \times 10^{-6}M$  이상의 농도에서 50%가 抑制되었으며  $1 \times 10^{-3}M$ 에서 87%의 抑制를 보여 ethalfluralin의 농도가 증가함에 따라 억제율이 증가했다.
3. 蛋白質合成 抑制는 8시간 처리후 모든 농도 ( $1 \times 10^{-6}M$  to  $1 \times 10^{-3}$ )에서 蛋白質 合成효과 영향을 미치지 않았다.
4. 組織의 變化는 24시간 처리후  $1 \times 10^{-7}M$ 에서 근단 세포가 크게 보였으며 細胞質이 없는 세포, 多核 細胞 및 均一하지 않은 核이 관찰되었다.

### 引 用 文 獻

1. Bayer, D.E., C.L. Foy., T.E. Nallroy. and E.G. Cutter. 1967. Morphological and histological effects of trifluralin on root development. Am. J. Bot. 51: 915-952.
2. Deal, L.M. and F.D. Hess. 1980. An analysis of growth inhibitory characteristics of alachlor

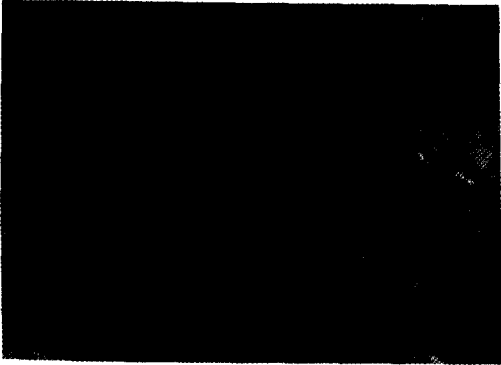


Photo. 1.



Photo. 2.

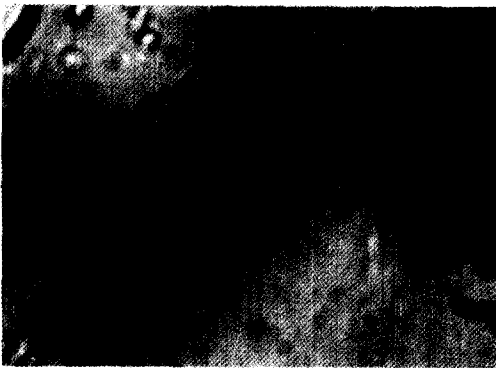


Photo. 3.

1. Scattered chromosomes of an arrest metaphase (1,000x)
2. Chromosomes of normal metaphase(1,000x)
3. Shortened and thickened chromosomes of an arrest metaphase(1,000x)
4. Medium-longitudinal section of untreated oat root(100x)
5. Medium-longitudinal section of treated oat root (100x). Ap : The apex, C : Cortex, Ed : The endodermis, Ep : The epidermis, Rc : Rootcap, Mc : Multinucleate cell

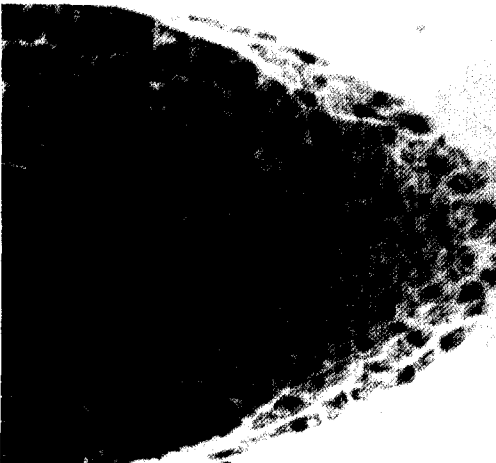


Photo. 4.



Photo. 5.

- and metolachlor. *Weed Sci.* 28 : 168-175.
3. Gruenhagen, R.E. and D.E. Moreland. 1971. Effects of herbicides on ATP levels in excised soybean hypocotyls. *Weed Sci.* 19 : 319-324.
  4. Hacskaylo, J. and V.A. Amato. 1968. Effects of trifluralin on roots of corn and cotton. *Weed Sci.* 16 : 513-515.
  5. Kim, J.C., S.J. Lee, S.W. Kwon and S.H. Guak. 1990. Effect of temperature on mitotic cycle of rice root meristem cells. *K.J. Corp Sci.* 35(1) 65-72.
  6. Lignowski, E.M. and E.G. Scott. 1971. Trifluralin and root growth. *Plant Cell Physiol.* 12 : 701-708.
  7. Lignowski, E.N. and E.G. Scott. 1972. Effect of trifluralin on mitosis. *Weed Sci.* 20 : 267-270.
  8. Nallroy, T.E. and D.E. Bayer. 1972. The effect of trifluralin on the growth and development of cotton and safflower roots. *Bot. Gaz.* 133 : 96-103.
  9. Mann, J.D., L.S. Jordan. and B.E. Day. A survey of herbicides for their effect on protein synthesis. *Plant Physiol.* 40 : 840-843.
  10. Moreland, D.E. 1980. Mechanisms of action of herbicides. *Ann Rev. Plant. Physiol.* 31 : 597-638.
  11. Moreland, D.E., S.S. Malkotra., R.D. Gruenhagen. and E.H. Shokraii. 1969. Effect of herbicides on RNA and protein synthesis. *Weed Sci.* 17 : 556-563.
  12. Parka, S.J. and O.F. Soper. 1977. The physiology and mode of action of the dinitroaniline herbicides. *Weed. Sci.* 25 : 79-87.
  13. Schultz, D.P., H.H. Funderberk. and N.S. Negi. 1968. Effect of trifluralin on growth, morphology and nucleic acid synthesis. *Plant Physiol.* 43 : 265-273.
  14. Shahied, S.I. 1971. Cytological and biochemical effects of the herbicide trifluralin on plant roots. *Diss. Abstr. B.* 31 : 44-57.
  15. Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. 1981. *Growth and differentiation in Plants.* Third edition. 1-20pp, 86pp.
  16. 梁桓承 외 18명. 1990. 三訂 新農藥 郷文社. 489pp.