

벼와 피의 生理的 差異에 의한 白化型 除草劑의 選擇性

나지영* · 김진석* · 김태준* · 조광연* · 변종영**

Selectivity of Bleaching Herbicides Caused by Physiological Differences between Rice and Barnyardgrass

Na J.Y.* , J.S. Kim* , T.J. Kim* , K.Y. Cho* and J.Y. Pyon**

ABSTRACT

In this study, various physiological and biochemical experiments were conducted to know whether the selectivity between rice and barnyardgrass treated with bleaching herbicides containing diphenyl ether compounds was also partly based on their basic physiological properties such as peroxidation ability, membrane stability or antioxidant system.

It seemed to be partly based on the differences of their physiological characteristics that barnyardgrass was commonly more susceptible to most of the bleaching herbicides than rice. The senescence of intact leaf segment was more rapid in barnyardgrass than in rice, indicating that barnyardgrass is weak at early stage. Also pigment metabolic ability, antioxidant enzyme activities(peroxidase, catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase) and antioxidant content (tocopherol, ascorbic acid, glutathione, carotenoids) were lower in barnyardgrass on the basis of fresh weight. However, lipoxygenase activity and the content of unsaturated fatty acid which is vulnerable to oxygen radicals were higher in barnyardgrass, suggesting that barnyardgrass seedling have a properties easy to be peroxidized. The differences of PPIX (protoporphyrin IX) or carotenoid content, which are the primary substances inducing herbicide activity, were not related to the selectivity between rice and barnyardgrass.

Key words : Selectivity, bleaching herbicide, antioxidant system, membrane stability, rice, barnyardgrass.

摘 言

除草劑를 처리한 후 植物이 죽거나 살기까지에는 環境과의 작용, 植物體의 選擇的 吸收, 移行, 代謝, 作用點과의 反應, 作用發見 等の 段階를 거치게 될 것이다. 그러므로 選擇性을 가지는 원인에 있어서도 여러 要因 즉 吸收, 移行, 代謝 (無毒化) 程度의 差異^{14,32)}, 作用點에서의 感受性 差異³⁴⁾, 作用發見上에서의 植物間 差異 等を 가 정할 수 있다.

白化型 除草劑들 중 디페닐에테르系 化合物의 選擇性에 관한 研究를 살펴보면 Ishizuka 等¹⁸⁾은 chlomethoxynil 처리에 의해서 나타나는 벼, 피 간의 選擇性이 벼가 피보다 chlomethoxynil을 빨리 분해시키기 때문이라고 하였다. Higgins 等¹⁵⁾은 acifluorfen과 lactofen 처리에 의한 pitted morningglory (*Ipomoea hederacea*)와 ivyleaf morningglory (*Ipomoea lacunosa*) 간의 選擇性은 pitted morningglory에서 藥劑吸收量이 더욱 많았기 때문에 敏感하다고 해석하였고, Ritter 等³⁷⁾은 acifluorfen 처리에 의해서 콩보다 돼지풀

* 한국화학연구소 KRICT, P.O. Box 9, Daedeogdanji, Daejeon, 305-606, Korea

** 충남대학교 농과대학 농학과 Dept. of Agronomy, Chungnam Nat'l Univ., Daejeon, 305-764, Korea

과 도꼬마리가 感受性を 보인 것은 吸收, 移行能力이 콩보다 높고 반면에 吸收된 약제를 더욱 완만히 분해하였기 때문으로 해석하였다. 具 等²¹⁾은 벼 感受性 品種(weld pally)과 抵抗性 品種(chokoto)間에는 吸收量 差異가 選擇性的 原因이 되는 것으로 생각하였다.

디페닐에테르系 이외의 白化型 除草劑들 중에서도 植物材料 또는 研究者에 따라 다양한 結果가 제안되고 있다. Norflurazon의 경우 Strang과 Rogers⁴³⁾는 콩(感受性), 옥수수(매우 感受性), 목화(耐性)에서 選擇性的 原因으로서 移行性的 차이가 크게 작용하는 것 같다고 하였고, Delvin과 Deubert⁴⁹⁾은 사탕무우(*Beta vulgaris* L.)와 cranberry(*Vaccinium macrocarpon* Ait.)보다 感受性인 명아주가 藥劑를 많이 吸收한다고 하였다. 또한 Tamma와 Singh⁴⁵⁾은 guineagrass(*Panicum maximum*)의 두가지 生態型中에서 狹葉型이 廣葉型보다 norflurazon처리에 대해 耐性を 보이는데 이의 原因은 낮은 吸收, 낮은 移行, 活性本體의 신속한 분해 때문이라고 하였다. Fluridone의 경우 Berard 等⁵⁾은 耐性인 목화와 感受性인 벼, 콩을 가지고 吸收, 移行, 代謝 差異를 비교하여 본 結果, 選擇性的 主要因이 移行差異 때문인 것으로 보았다. 한편 clomazone의 경우 Noramn 等³⁰⁾은 培養된 콩(耐性)과 목화(感受性)細胞를 이용하여, 吸收, 代謝實驗을 하여본 結果, 吸收에는 차이가 없었고 無毒한 極性代謝物質로의 變換이 콩에서 더 빨라 clomazone의 選擇性은 代謝程度差異에 어느 정도 기인된다고 하였으나 이것만으로는 選擇性程度를 설명하기 어려우므로 選擇性的 一 要因으로서 作用點에서의 感受性 差異를 假定하였다.

以上の 報告들에서도 본 바와 같이 選擇性에 관한 대부분의 研究가 吸收, 移行, 代謝에 치중되고 있으나 除草劑에 따라서는 作用發現上에서의 植物間 差異도 選擇性에 關係됨을 간과할 수 없을 것이다. 특히 光要求型 디페닐에테르를 비롯한 白化型 除草劑의 경우 除草劑의 종류에 따라 作用點은 달라도 결국 活性酸素에 의한⁴⁷⁾ 膜 過酸化 過程³⁹⁾을 통해서 植物이 죽게되는데 植物體는 이 活性酸素에 공격받기 쉬운 生理的, 形態的 條件을 구비하고 있는 반면²⁰⁾, 한편으로는 이를 극복하기 위한 抗酸化系가 잘 構築되어 있기도 하다.^{2,20,24,48)} 그리고 이의 정도는 植物種에

따라 차이가 있을 것이다.

따라서 白化型 除草劑의 選擇性機構를 명확히 하기 위해서는 除草劑의 體內吸收, 移行, 代謝外에 作用點에서의 感受性, 過酸化 能力, 膜의 安定性 및 抗酸化 能力의 植物間 差異 等에 대해서도 검토되어야 할 것이다.

그러므로 본 實驗은 植物體 자체가 가지고 있는 化合物에 대한 吸收, 移行, 代謝, 이외의 生理的 差異가 選擇性和 관련이 있는지를 검토하고자 대부분의 白化型 除草劑 처리에 대해 공통적으로 選擇性差異를 가졌던 벼와 피를 대상으로 피가 더 感受性인 이유를 알아보려고 諸般 實驗을 수행하였다.

材料 및 方法

供試化合物로서 草種間 殺草反應 程度를 비교하기 위하여는 oxyfluorfen(a.i. 70.3%), oxadiazon(a.i. 93.8%), norflurazon(a.i. 80%), clomazone(a.i. 91%), KC6361⁷⁾을, 기타 選擇性 要因實驗에서는 oxyfluorfen과 norflurazon을 사용하였다.

植物材料로서 草種間 殺草反應 程度를 비교하기 위하여는 벼(*Oryza sativa* L.) 2 品種(동진벼, 삼강벼), 피 3 種類[강피(*E. crus-galli* var. *oryzicola* Ohwi.), 돌피(*E. crus-galli* P.), 식용피(*E. crus-galli* var. *frumentacea* Wight.)], 강아지풀(*Setaria viridis* L.), 수수(*Sorghum bicolor* L.), 보리(*Hordeum vulgare* L.)였고, 기타 選擇性 要因實驗에서는 동진벼와 식용피를 사용하였다. 기타 實驗內容 및 方法은 다음과 같다.

1. 白化型 除草劑에 대한 反應

草種間 選擇性程度를 비교하기 위하여 oxyfluorfen 外 4種의 除草劑를 土壤處理하였다. 사용된 草種은 벼 2 品種, 피 3 種類, 강아지풀, 수수, 보리였다. 滅菌된 砂質壤土(pH 6.1, O. M. 1.0%, clay 21% ; silt 17% ; sand 52%)에 園藝用 複肥(N : P : K=11 : 10 : 11)를 1포트당 2g 혼합시킨 다음 시험용 1포트(350 cm²)에 담고 播種溝를 만든 다음 實驗用 雜草 또는 作物種子를 播種하고 6개월 후 覆土한 후 온실에 두었다. 實驗化合物을 稱量하여 acetone에 녹인

다음 Tween-20이 첨가된 물에 각각 1:1이 되도록 희석하여 發芽前 土壤處理는 播種後 1일째, 發芽後 莖葉處理는 播種後 10일째에 쫓트당 14 ml 撒布하였다. 이때 acetone 및 Tween-20 最終濃度는 50%, 0.1%이었다. 藥劑를 처리한 후 온실내에서(晝間 30-35°C, 夜間 20-25°C) 2週 키운 다음 이들의 除草效果를 形態, 生理學的 관찰근거에 의해 達觀調查하고 無防除의 경우를 0, 完全防除의 경우를 100으로 하였다.

2. 葉身의 老化比較

벼와 피의 老化程度를 比較하기 위하여 1.5cm 길이로 절단된 第3本葉의 葉身 중앙부분을 증류수 만이 담긴 petri dish에 5개씩 置床한 후 이를 25°C 暗條件과 33 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR 明條件에 두면서 葉綠素含量의 감소정도와 증류수에 漏出된 電解質量(30 切片/30 ml)을 傳導度計로 측정하였다⁴⁸⁾.

3. 色素代謝

黃化된 벼와 피의 綠化速度를 比較하기 위하여 파종후 30°C 暗條件에서 7일(피의 경우 9일)자란 幼苗를 44 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR 明條件에 두면서 綠化되어 가는 정도를 調查하였다. 葉綠素 및 carotenoid는 methanol로 추출하여 Lichtenthaler 방법²⁶⁾으로 定量하였다.

한편 全植物體를 가지고 殺草 原因物質의 含量을 比較하기 위하여 벼와 피間의 PPIX 축적 또는 carotenoid 成分變化를 調查하였다. PPIX 축적정도의 比較를 위해서는 10일간 온실조건에서 키운 同一葉期(2-3葉期)의 벼와 피 地上部에 oxyfluorfen 20 ppm을 처리한 후 27°C 내외의 약 82.5 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR 明條件에 두면서 時間別로 시료를 취하였다. Protoporphyrin IX (PPIX) 抽出은 Duggan과 Gassman 방법⁹⁾을 약간 변형시켜 수행하였으며 螢光分光光度計(Kontron, SFM 25)를 이용한 定量은 PPIX-Na를 표준물질로 하여 25°C에서 Ex 400nm, Em 633 nm의 상대적 세기로 分析하였다. 벼, 피間 carotenoid 成分의 變化를 比較하기 위해서는 0.5, 1.0, 5.0 μM 농도의 norflurazon溶液에 種子를 播種한 후 35°C, 14시간 明/25°C, 10시간의 暗條件에 8일간 키운 다음 地上部의 carotenoid 成分을 分光分析하였다³⁶⁾. Phytoene은

287 nm에서, Phytofluene은 347 nm, β -Carotene은 453 nm에서의 吸光度를 가지고 相對的인 含量을 구하였다.

4. 脂肪酸組成 分析^{29,33)}

벼와 피의 第2本葉 葉身 2g을 取하여 액체질소로 동결시켜 마쇄시킨 후 chloroform+methanol(2:1 v/v) 20ml로 脂肪成分을 추출하였다. 여과지로 거른 다음 0.88% KCl 7 ml+water: methanol(1:1) 7 ml로 세척한 후 下層을 모아 減壓乾燥시키고 소량의 chloroform에 녹였다. 이를 TLC(0.5 mm, silicagel GF₂₅₄, Type 60) 上에 전개(acetone: benzene: water=91:30:8)시킨 다음, 0.01% Rhodamin 6G로 발색된 脂肪成分 부위를 긁어내어 chloroform 으로 추출하였다. 그 후 0.5N methanol-NaOH 1ml를 가하여 5분동안 끓이고, 이어 BF₃-methanol 1ml를 加한 다음 2분동안 더 끓인다. 식힌 다음 飽和 NaCl 10.5ml과 petroleum ether 4ml를 加하여 層分離하고 上層部를 취하여 완전히 건조시킨 다음 n-hexane에 녹여 GC(Shimadzu) 分析하였다. GC 分析은 15% DEGS로 충전된 유리관을 사용하였으며 2 μl 를 注入하였다. 기타 조건으로서 分析溫度는 175°C(isotherm), carrier gas (N₂): 0.65 kg/cm², H₂: 0.8 kg/cm², air: 0.6 kg/cm²이었다.

5. 酵素活性 測定

벼, 피의 경우 온실조건에서 키운 2-3 葉期 苗의 第2葉身을, 오이 peroxidase 活性 測定의 경우 25°C 暗條件에서 5일간 育成된 黃化子葉을 대상으로 nitrate reductase(NR)¹³⁾, peroxidase⁴⁹⁾, catalase¹⁾, superoxide dismutase(SOD)²⁸⁾, glutathione reductase(GR)⁴²⁾, lipoxxygenase⁴⁾ 등의 活性를 調查하였고, peroxidase, SOD, GR 등은 oxyfluorfen 20 ppm(20% acetone, 0.1% Tween-20)을 처리한 이후의 活性變化도 검토되었다.

6. 抗酸化劑 含量

벼와 피의 第2葉身에서의 ascorbic acid, glutathiones(GSH, GSSG), α -tocopherol, carotenoids 등의 含量을 調查하였다. Ascorbic acid는 dipyrityl 반응법²⁵⁾으로, glutathiones는 Hissin과 Hilf의 방법¹⁷⁾을 변형시켜, tocopherol

은 螢光分光光度計를 이용한 Ex 290 nm, Em 325 nm 조건에서¹²⁾, carotenoids는 Lichtenthaler 방법²⁶⁾으로 分析하였다.

7. 蛋白質 分析

各 抽出液의 蛋白質은 Bradford 방법¹⁶⁾으로 定量하였다.

結果 및 考察

1. 白化型 除草劑에 대한 반응

밭 및 논 灌水條件下에서 oxyfluorfen 外 4가지 白化型 除草劑를 가지고 作物 및 雜草를 포함한 廣葉植物 40種, 禾本科 植物 13種, 莎草科 植物 8種에 대한 除草스펙트럼을 비교한 豫備實驗

의 結果들 중에서 벼와 피가 대부분의 白化型 除草劑에 대해 公同적으로 選擇性差異가 보이는 것을 관찰하였다. 이후 벼 2品種과 피 3種類, 강아지풀, 수수, 보리를 가지고 土壤處理에서의 活性差異와 실험재료로서의 가능성을 검토하고자 온실조건에서 더욱 자세히 비교하여 보았다(表 1). 그 결과 삼강벼와 동진벼간의 選擇性差異는 거의 없었고 피 種類에 있어서도 clomazone 처리에서 강피가 돌피나 식용피보다 鈍感했던 것 外에는 種類間 차이는 적었다. 기타 草種중 강아지풀이 敏感한 반응을 보였으나 生育速度가 늦고 均一性이 不良하였으며 수수와 보리는 피보다 鈍感하였다. 따라서 生育速度도 어느정도 비슷하고 均一性이 양호한 동진벼와 식용피(以下 벼와 피)를 실험재료로서 選定하였다.

Table 1. Herbicidal activity^a of several bleaching herbicides in greenhouse.

Chemicals	Rate (g/ha)	ORYSA ^b		HORVW	SORBI	ECHOR	ECHCG	ECHCF	SETVI
		Samgang	Dongjin						
Oxyfluorfen	3.75	0	0	0	0	20.0	13.3	3.3	90.0
	7.5	3.3	3.3	0	16.7	86.7	61.7	38.3	100.0
	15.0	10.0	10.0	18.3	58.3	90.0	80.0	80.0	100.0
	30.0	13.3	6.7	46.7	93.3	100.0	93.3	100.0	100.0
	60.0	35.0	30.0	71.7	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0
	125.0	53.3	63.3	80.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Oxadiazon	3.75	0	0	0	0	3.3	0	0	6.7
	7.5	0	0	0	0	30.0	15.0	3.3	53.3
	15.0	0	0	0	23.3	60.0	73.3	16.7	100.0
	30.0	3.3	0	10.0	61.7	73.3	80.0	76.7	100.0
	60.0	6.7	3.3	25.0	71.7	100.0	100.0	90.0	100.0
	125.0	16.7	6.7	56.7	83.3	100.0	100.0	100.0	100.0
Norflurazon	3.75	0	0	0	0	6.7	25.0	0	23.3
	7.5	0	0	0	0	25.0	53.3	18.3	86.7
	15.0	28.3	26.7	26.7	38.3	63.3	96.7	60.0	100.0
	30.0	71.7	45.0	16.7	83.3	96.7	100.0	93.3	100.0
	60.0	100.0	83.3	83.3	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	125.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Clomazone	3.75	0	0	0	0	21.7	70.0	50.0	73.3
	7.5	0	0	0	0	30.0	93.3	48.3	96.7
	15.0	6.7	26.7	11.7	10.0	48.3	100.0	90.0	100.0
	30.0	56.7	61.7	20.0	26.7	76.7	100.0	100.0	100.0
	60.0	86.7	81.7	93.3	96.7	93.3	100.0	100.0	100.0
	125.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
KC6361	250	0	0	0	0	0	0	0	11.7
	500	0	0	0	0	0	0	0	63.3
	1000	0	0	0	10.0	43.3	36.7	18.3	100.0
	2000	0	0	0	20.0	80.0	45.0	23.3	96.7
	4000	0	0	0	33.3	100.0	76.7	60.0	100.0

^a Determined 2 weeks after soil surface-treatment. Visual rating (0 : no control, 100 : complete control). Means of 3 replications

^b ORYSA : *Oryza sativa* L., HORVW : *Hordeum vulgare* L. cv. Dongbori, SORBI : *Sorghum bicolor* Moench., ECHOR : *Echinochloa crus-galli* var. *oryzicola* Ohwi., ECHCG : *Echinochloa crus-galli* P. Beauv., ECHCF : *Echinochloa crus-galli* var. *frumentacea* Wight., SETVI : *Setaria viridis* P. Beauv.

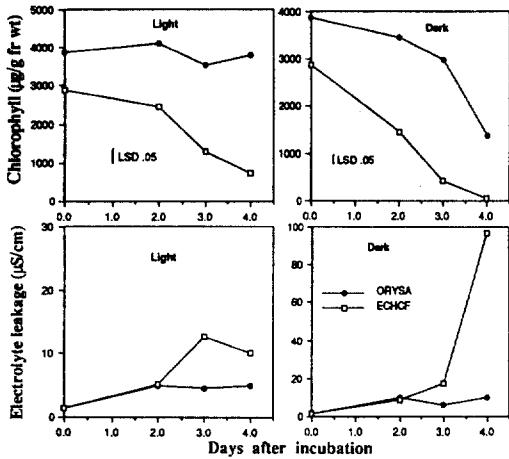


Fig. 1. Senscence of the leaf segments excised from the third leaf blade of rice(ORYSA) or barnyardgrass(ECHCF). The segments were placed on distilled water and incubated under light($33 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR) or dark condition at 25°C .

위 온실조건의 실험에서 보였던 선택성이除草劑處理에 의해서만 나타나는 것인지 아니면 피가 근본적으로 生理的, 形態의으로 더욱 약했기 때문인지는 檢討되어야 한다. 白化型 除草劑의 作用特性이 葉綠素 消失을 동반한 膜破壞에 있기 때문에 摘出된 葉切片의 老化는 이와 어느정도 관련이 있을 것으로 판단되어¹¹⁾ 無處理된 第3本葉 葉身을 暗條件 또는 明條件에 두면서 老化程度를 비교하였다(그림 1). 明條件의 경우 葉綠素 消失 정도가 벼에서는 置床後 4일까지 거의 차이가 없었으나 피는 급격히 감소되었고, 漏出된 電解質量은 피에서 높았다. 暗條件의 경우, 置床後 3일까지의 葉綠素 消失程度는 벼보다 피에서 높았고 電解質 漏出量의 경우 피에서 현저히 높았

다. 이러한 결과는 피가 근본적으로 약한 특성을 지니고 있음을 의미하는 것으로 이러한 원인으로 選擇性差異가 더욱 발현되는 것이 아닌가 생각된다.

2. 綠化程度

白化型 除草劑의 一次的 作用點이 葉綠素 및 carotenoid 生合成 過程의 阻害에 있기 때문에 이들 生合成過程의 速度 및 程度에 따라서도 除草力에 차이가 생길 수도 있을 것이다. 따라서 黃化된 벼와 피의 綠化되는 정도를 調査함으로써 色素生合成 程度를 비교하여 본 結果, 葉綠素의 경우 형성속도가 전반적으로 벼에서 빨랐으며 光露出後 12시간 以內에서는 더욱 현저하였다. carotenoids 生合成의 경우에서도 같은 경향이었다. 그리고 生體重當 형성된 色素의 絕對量에 있어서도 벼가 피보다 1.5-2.0배 정도 많았다(그림 2). 이는 벼의 色素生合成 過程을 억제하기 위해서는 더욱 많은 量의 化合物이 처리되어야 함을 의미하는 것으로서 이러한 차이가 選擇性에 어느

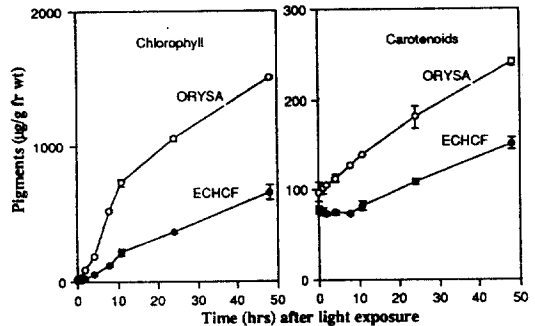


Fig. 2. Greening velocity of the etiolated rice or barnyardgrass seedlings at $44 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR and 30°C . Vertical bars are standard deviations.

Table 2. Nitrate reductase activity of rice(ORYSA) or barnyardgrass(ECHCF) leaf.

Illumination ^a time (hr)	Nitrate reductase activity ^b			
	/g fresh weight		/mg protein	
	ORYSA	ECHCF	ORYSA	ECHCF
0	24.43a ^c	4.05a	2.57a	1.53a
2	72.38a	4.93b	7.56b	2.08b
5.5	118.28b	5.57c	11.76c	2.25c
8.5	118.80b	5.42c	11.77c	2.28c

^a $143 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR.

^b Expressed as $\mu\text{moles of NO}_2^-$ produced per minute.

^c Means followed by the same letter within the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level

정도 기여할 것으로 생각된다.

한편 벼, 피간 nitrate reductase 活性을 비교하여 보았다. Nitrate reductase는 吸收된 nitrate(NO_3^-)를 nitrite(NO_2^-)로 변환시키는 酵素로서 변환된 NO_2^- 는 nitrite reductase에 의해 ammonia(NH_4^+)로 변하고 이는 glutamate와 결합하여 glutamine을 만들게 된다. glutamine은 다시 α -ketoglutaric acid와 결합하여 2개의 glutamate가 형성되는데 이 glutamate는 各種蛋白質 構成成分이 될 뿐만 아니라 가장 初期段階의 葉綠素形成 前驅物質이기도 하다. 따라서 nitrate reductase는 葉綠素 生合成過程을 포함한蛋白質 代謝程度의 指標가 될 수 있을 것이다^{38,44}. 이의 活性을 生體重 또는 specific activity를 기준으로 비교하여 보았을 때 벼가 피보다 현저히 높았고(약 6-23倍) 光이 照射될수록 증가되는 경향이였다(表 2). 이는 綠化反應이 벼에서 더욱 높았던 결과와도 관련이 있는 것으로 생각된다.

3. 殺草 原因物質의 含量

白化型 除草劑中 葉綠素 生合成에 관여되는 化合物은 PPIX을 축적시키고²⁷, carotenoid 生合成에 관여되는 化合物은 carotene 含量을 감소시켜 殺草活性을 나타내는 것으로 報告^{3,10,40,41})되고 있으므로 作用點에서의 化合物에 대한 感受性 程度에 따라 이들 물질의 形成程度가 달라지며 결국 除草活性도 차이가 있을 것이다. 따라서 벼에서 選擇性을 보였던 이유가 PPIX의 축적과 carotene의 감소정도가 낮기 때문인지도 모른다. 이들 차이를 알아보고자 代表化合物로 선정된 oxyfluorfen과 norflurazon 처리에 의해 惹起되는 生合成 中間物質의 變化를 調查하여 보았다.

Oxyfluorfen의 처리에 의한 벼, 피간의 PPIX 축적과 殺草程度를 비교한 結果는 그림 3과 같다. 피의 경우, 光照射 후 4시간째부터 萎凋症狀이 보이며 8시간째에는 葉身基部가 屈折되면서 萎凋되었다. PPIX含量은 光照射되기 直前に 이미 어느 정도 증가되어 있었으나 光에 노출된 후 더욱 증가되어 葉身이 屈折枯死된 8시간째에는 單位 生體重當 83 μg 으로서 최고치를 보였다. 벼의 경우, 피와 동일하게 光이 照射될수록 PPIX含量이 증가되어 8시간째에 피의 2배 정도인 175.4 μg 으로 최고치를 보였다가 이후 감소되는 경향이있

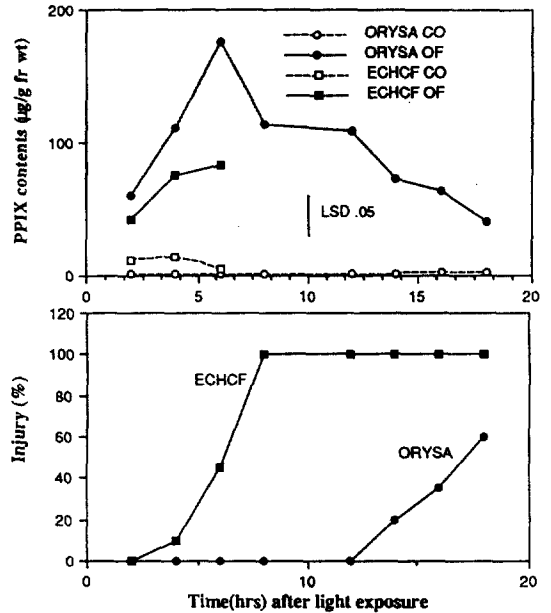


Fig. 3. Protoporphyrin IX accumulation and injury of the rice(ORYSA) and barnyardgrass (ECHCF) leaf treated with 20 ppm oxyfluorfen. CO and OF stands for control and oxyfluorfen, respectively. The treated seedlings were immediately exposed to light ($82.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR) at 27°C . Then, PPIX was extracted from the second and third leaves, and determined by comparison with a reference fluorescence curve constructed with standard PPIX.

다. 그런데 외관상의 증상은 光照射 후 12시간째부터 나타나기 시작하고 18시간째에는 60-70%의 防除價를 보여 作用發現에 이르기까지의 속도가 피보다 2배 이상으로 완만하게 나타나는 경향이였다. 이는 벼에서 PPIX 축적이 낮았기 때문에 選擇性을 보였던 것이 아니라 피가 낮은 PPIX 함량에서도 쉽게 膜破壞될 수 있는 素質을 갖고 있음을 의미한다. 왜냐하면 葉綠素生合成 能力이 벼가 피보다 약 2배 높았으므로(그림 2) 化合物處理에 의해 축적될 수 있는 PPIX 程度는 약 2배 차이가 있을 것으로 예상되지만 作用發現에 이르기까지에 속도는 벼가 피보다 2배 이상으로 완만하였기 때문이다.

한편 벼의 경우 除草症狀이 외관적으로 發現되기 전부터 PPIX 含量이 감소되었다(그림 3). 그 가능성으로서 1) 축적된 PPIX이 光酸化에 의해 自己分解되었는가, 2) 축적된 PPIX이 다른

Table 3. Changes of carotenoid-intermediates in rice(ORYSA) or barnyardgrass(ECHCF) leaf treated with norflurazon.

Norflurazon (μM)	Phytoene(A287)		Phytofluene(A347)		β -carotene(A453)	
	ORYSA	ECHCF	ORYSA	ECHCF	ORYSA	ECHCF
	% of control					
0.5	168	315	332	269	56	79
1.0	209	418	250	267	30	58
5.0	182	258	52	41	0	3.2

Seeds of rice and barnyardgrass were placed on the norflurazon solution and incubated for 8 days in growth chamber (35°C, 14hr/25°C, 10hr).

代謝過程에 流入되었는지, 3) 초기에 축적된 PPIX으로부터 발생된 活性酸素가 여러 代謝作用을 억제함으로써 PPIX 형성을 적게 하였는지, 4) 처리된 oxyfluorfen의 代謝가 신속히 이루어지고 있는지 등을 고려할 수 있겠다. 피보다 벼에서 chlormethoxynil의 분해속도가 빨랐다고 한 Ishizuka 等¹⁸⁾의 결과에서 처럼 4)번의 가능성이 크다면 이 역시 選擇性的인 중요한 원인이 될 수 있으므로 이에 대해서는 종합적인 연구가 더욱 진행되어야 할 것이다.

Norflurazon처리에 의한 벼, 피間 carotenoid 成分變化를 조사하여 보았다(表 3). Carotene의 감소정도는 피보다 벼에서 크고 phytoene의 축적은 벼보다 피가, phytofluene은 농도에 따라 차이는 있으나 피보다 벼가 높은 경향이었다. 만일 作用點에서의 感受性差異로 인하여 選擇성이 나타났다면 피에서 carotene의 감소정도가 크고 상대적으로 phytoene 및 phytofluene의 축적이 높게 나타나야 할 것이다. 그러나 本 實驗의 결과는 이와 같은 일정한 경향을 보이지 않았다. 물론 本 實驗에서는 正常葉을 사용하였기 때문에 처리된 化合物이 作用點에 이르기 전에 어떠한 변화(吸收, 移行, 代謝)가 있었을 가능성은 배제할 수 없으나 吸收, 移行, 代謝差異만으로 디페닐 에테르의 選擇성을 해석할 수 없었다는 他 研究者들의 實驗結果(未發表)를 미루어 볼 때 적어도 殺草活性 原因物質의 増減과 植物間 選擇性과는 相關이 적을 것으로 생각된다.

4. 膜 過酸化

植物體는 정도의 차이는 있으나 膜이 過酸化될 수 있는 잠재적 성질을 구비하고 있다. 그 중 lipoxygenase는 linolenic acid를 라디칼화시키면서 脂肪의 過酸化를 誘起시키는 酸素로서 이의

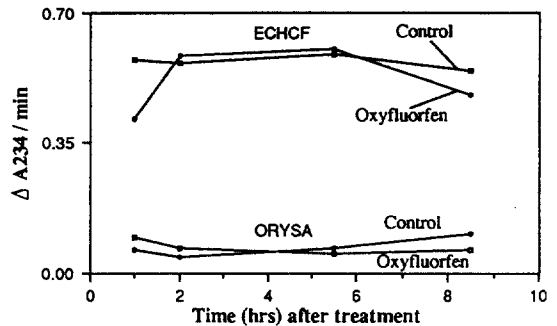


Fig. 4. Effect of oxyfluorfen on the lipoxygenase activity based on the fresh weight of rice (ORYSA) and barnyardgrass(ECHCF) leaf. The seedlings treated with 20ppm oxyfluorfen were incubated for 14 hr in darkness and then exposed to light(143 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PAR}$) at 25°C.

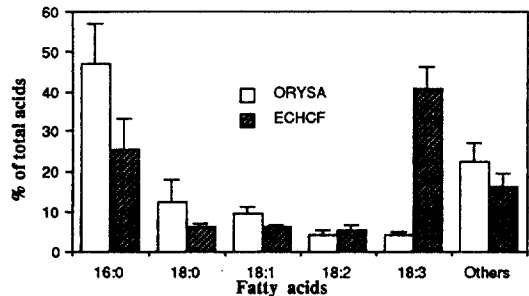


Fig. 5. Fatty acid composition in the second leaf of rice(ORYSA) and barnyardgrass (ECHCF). Vertical bars are standard deviations.

活性이 높을수록 過酸化가 용이하게 일어나고¹⁶⁾, 한편 膜의 주요성분인 脂質은 생육시기, 환경 또는 유전적 요인에 따라 그 組成이 다르지만 특히 不飽和脂肪酸의 비율이 높을수록 活性酸素에 공격받기 쉽다고 알려지고 있다¹¹⁾. 따라서 이들 두

要因의 벼, 피間 차이를 비교하여 보았다. Lipoxygenase의 경우 oxyfluorfen 처리에 의해서 他 報告²²⁾에서와 같이 活性의 변화가 없었으나 生體重當 活性에 있어서는 피가 벼보다 약 4-6배 높은 경향을 보여 피가 근본적으로 lipoxygenase 量이 많음을 알 수 있었다(그림 4). 脂肪酸 組成의 경우 그림 5에서 보는 바와 같이 피는 상대적으로 不飽和脂肪酸 특히 linolenic acid의 비율이 높고 벼는 飽和脂肪酸 비율이 높은 경향을 보였다. 따라서 이와 같은 성질들 때문에 상대적으로 피에서 膜破壞가 더욱 용이했던 것으로 생각된다.

5. 抗酸化 酵素의 活性

植物體內에서는 代謝過程중 필수불가결하게 活性酸素를 발생시키는데 그 주요한 발생원으로서 光合成 및 呼吸 電子傳達系, 脂質 過酸化 또는 代謝過程中的 photosensitizer 生成 등을 들 수 있다²⁰⁾. 反面에 이에 대한 대비책으로서 活性酸素를 消去시켜주는 機構도 구비되고 있는데, 葉

綠體의 경우 이에 관계되는 주요 酵素들은 peroxidase, catalase, SOD, GR, ascorbic peroxidase 등 인 것으로 알려져 있다^{20,24)}.

따라서 이들의 除去能力에 따라 選擇性이 나타날 수 있으므로 벼, 피간의 生體重當 酵素活性을 비교하여 본 결과, peroxidase, catalase, SOD, GR 모두 피보다 벼에서 각각 3.5, 11, 1.5, 2.5 배 높은 경향이였다(表 4).

한편 peroxidase, SOD, GR 등은 외부자극에 의해 活性이 誘導 또는 增加되는데 그 정도는 植物에 따라 차이가 생길 수 있을 것이다. 오이에 oxyfluorfen을 처리하면 자극에 의한 때문인지 아니면 基質(oxygen radical)이 제공되었기 때문 인지는 모르나 peroxidase 活性이 증가되었다(表 5). 이는 바랭이에 acifluorfen을 처리했을 때 peroxidase 活性이 증가 되었다고 한 결과¹⁹⁾와 같은 경향이였다. 따라서 벼, 피간에 있어서도 초기의 活性이 정도의 차이를 가지면서 증가될 것으로 생각되어 실험하여 본 결과 活性의 증가는 없었고 오히려 농도가 증가될수록 감소되는

Table 4. Antioxidant enzymes activity in the second leaf of rice(ORYSA) or barnyardgrass(ECHCF) seedling^a.

Plants	Enzyme activity per g fresh weight				
	Peroxidase (mmoles H ₂ O ₂ degraded/min)	Catalase (mmoles H ₂ O ₂ degraded/min)	SOD (Unit) ^b	GR (Unit) ^c	Ascorbic acid oxidase (Δ A265/min)
ORYSA	36.8±2.5 ^d	8.1±0.45	165 ±8.1	9.4	0.25
ECHCF	10.4±0.3	0.7±0.1	112.0±0.8	3.8	0.10

^a Ten days old in greenhouse.

^b When the control rate was adjusted to 0.025 absorbance(at 580 nm) per min at 25°C by adding sufficient xanthine oxidase to the reaction mixture, the amount of SOD required to inhibit the reduction rate by 50% was defined as 1 unit of activity.

^c Reducing 1.0 mmole of GSSG per min at pH7.6 at 25°C was defined as 1 unit.

^d Mean±standard deviation

Table 5. Effect of oxyfluorfen on the peroxidase activity^a of etiolated cucumber cotyledon.

Oxyfluorfen (μ M)	Peroxidase activity			
	mmoles of H ₂ O ₂ degraded /min/g fresh weight		mmoles of H ₂ O ₂ degraded /min/mg protein	
	0	2 hr ^b	0	2 hr
0	22.93	20.05	176.90	160.44
0.1	21.90	26.15	163.55	211.31
1	21.44	29.77	160.71	241.70
10	18.80	35.48	150.01	284.25
100	26.85	21.09	190.99	191.49

^a Samples treated with oxyfluorfen were incubated for 16 hr in darkness at 25°C and their enzyme activity was checked immediately or after light exposure for 2 hr.

^b Hours after light exposure at 34 μ mol m⁻²s⁻¹PAR.

Table 6. Effect of oxyfluorfen on the peroxidase activity in the second leaf of rice(ORYSA) or barnyardgrass leaf(ECHCF).

Plants	Time (hrs) after treatment ^a	Concentration of oxyfluorfen(ppm)				
		0.0	0.2	2.0	20.0	200.0
- mmoles of H ₂ O ₂ degraded/min/g fresh weight -						
ORYSA	2	100.1a ^b	92.8ab	89.3ab	84.1b	86.3ab
	4	102.6a	90.1b	85.0b	95.7ab	90.8b
	6	109.1a	105.7ab	94.5bc	83.0c	87.7c
ECHCF	2	46.9a	37.5b	37.7b	39.5ab	40.1ab
	4	52.1a	42.6bc	43.1b	41.5bc	38.3c
	6	51.3a	49.8a	46.7a	47.7a	41.4b

^a 77-88 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR, 27 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$.

^b Means followed by the same letter within a row were not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7. Effect of oxyfluorfen(20ppm) on the glutathione reductase activity in the second leaf of rice (ORYSA) or barnyardgrass(ECHCF) leaf.

Time (hrs) after treatment ^a	Glutathione reductase activity(unit/g/fresh weight) ^b			
	ORYSA		ECHCF	
	Control	Treated	Control	Treated
2	9.0	9.0	2.6	2.8
4	9.3	9.0	2.8	3.1
6	9.4	9.3	3.8	3.7
8	9.5	9.4	3.8	3.3

^a 61 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR.

^b One unit was defined as reduction activity of 1.0 $\mu\text{mole GSSG per min at pH 7.6 at 25}^{\circ}\text{C}$.

특징을 보였다(表 6). 이와같이 調査植物에 따라 다른 반응을 보이는 원인은 不明確하지만 적어도 除草劑處理에 의한 이들 酵素活性의 增減은 選擇性에 關여되지 않는 것으로 추정된다. GR活性 역시 처리에 의한 차이는 관찰되지 않았다(表 7).

6. 抗酸化劑 含量

植物體에는 活性酸素와 직접 반응하여 이들을 除去하는 抗酸化劑들이 多量 존재한다²⁴⁾. 대표적인 것은 α -tocopherol, ascorbic acid, glutathione, carotenoids 등으로서 이들 중 α -tocopherol이 가장 뛰어난 능력을 가지는 것으로 알려져 있다.

이들 含量의 차이를 보기 위하여 調査한 結果는 表 8에서와 같다. 單位 生體重當 含量의 경우 피보다 벼에서 α -tocopherol 2.3배, ascorbic acid 4.1배, GSH 1.4배, GSSG 1.7배, carotenoids는 1.8배 높았다. 乾物重(피는 벼 乾物重의 55% 內外)에 기준하여 비교하여 보아도 除去能力이 우수한 tocopherol 및 ascorbic acid 含量은 벼에서 높은 경향이였다. 이와 같이 抗酸化劑의 含量이 벼에서 높은 것이 벼에서 選擇性을 보였던 이유중의 하나가 될 것으로 생각된다. Finckh와 Kunert¹²⁾는 oxyfluorfen의 過酸化가 비타민 C와 E의 비율이 적당할 때(10~15:1) 피해가 감소되는 것 같다고 하였다.

한편 glutathione은 스트레스³⁵⁾ 또는 acifluor-

Table 8. Antioxidant contents in the second leaf of rice(ORYSA) and barnyardgrass(ECHCF).

Plants	α -Tocopherol	Ascorbic acid	Glutathione		Carotenoids
			GSH	GSSG	
$\mu\text{g/g fresh weight}$					
ORYSA	48.7 \pm 2.3 ^a	297.3 \pm 56.8	81.3 \pm 6.6	287.9 \pm 6.0	363.7 \pm 50.8
ECHCF	20.8 \pm 1.8	73.0 \pm 7.0	58.2 \pm 10.5	165.2 \pm 11.7	201.3 \pm 8.5

^a Mean \pm standard deviation

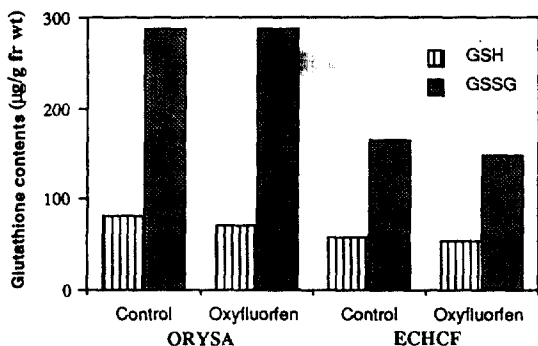


Fig. 6. Changes in the glutathiones of rice (ORYSA) and barnyardgrass (ECHCF) leaf treated with oxyfluorfen (20ppm). The treated seedlings were incubated for 14 hr in darkness and exposed to light ($88 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR) for 1.5 hr at 27°C .

fen 처리³⁴⁾에 의해서 그 함량이 증가된다는 보고가 있다. 이에 근거를 둔다면 벼에서 抵抗性を 보인 이유중의 하나가 oxyfluorfen 처리에 의한 glutathione 증가폭이 피보다 높았기 때문일지도 모른다. 따라서 oxyfluorfen을 처리하였을 때 glutathione 함량에 어떠한 변화가 있는지를 검토한 결과, glutathione 全體含量(GSH+GSSG)은 아주 미약하지만 처리에 의해서 오히려 감소되었으며 그 정도는 벼보다 피에서 높은 경향이었고, GSH와 GSSG間에는 벼는 GSH가, 피는 GSSG의 함량이 상대적으로 낮아지는 경향이였다(그림 6). 따라서 위와 같은 假定은 選擇性的 要因으로서 작용하지는 않는 것 같다. 그러나 glutathione은 抗酸化劑로서의 역할 以外에 외부로부터 어떤 異物質이 투여되었을 때 이를 除去(無毒化)시키는 역할을 가지며 EPTC, oxyfluorfen 등도 이와같은 과정을 거치는 것으로 報告되고 있다^{23,35)}. 따라서 本 實驗의 결과만으로는 glutathione의 모든 역할을 해석할 수 없으므로 代謝에 관해서는 方射性同位元素를 이용한 별도의 實驗이 要求된다.

以上の 諸般 實驗의 결과를 종합하여 볼 때 幼苗期(3-4 葉期 未滿)의 벼, 피에 白化型除草劑를 처리할 때 피가 공통적으로 感受性を 보였던 이유는 피가 기본적으로 가지고 있는 性質 즉 낮은 色素代謝力, 抗酸化 酵素의 낮은 活性, 抗酸化劑의 低含量, 높은 不飽和 脂肪酸 比率, lipoxigenase의 高活性 등을 보유하고 있는데도 그

원인이 있는 것으로 생각된다. 그러나 이러한 素質이 選擇성에 얼마나 직접적으로 관련이 있으며 어느 정도 기여하는지에 대해서는 더욱 많은 草種들을 대상으로 하여 종합적인 면밀한 檢射가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

摘 要

直, 間接적으로 活性酸素를 발생시켜 葉綠素 및 膜破壞를 일으키는 除草劑들의 選擇性機構를 명확히 하기 위해서는 除草劑의 體內吸收, 移行, 代謝 外에 作用點에서의 感受性, 過酸化 能力, 膜의 安定性 및 抗酸化 能力의 差異 등에 대해서도 檢射되어야 할 것이다. 本 實驗에서는 대부분의 白化型 除草劑처리에서 관찰되는 벼, 피 反應 差異의 一部를 이러한 관점에 기준을 두어 해석해 보고자 實驗을 수행하였다.

1. 피가 벼보다 여러 白化型 除草劑에 대해 敏感하였으며, 無處理의 葉身을 切取하여 두었을 때 老化, 壞死되는 정도가 피에서 더욱 빨라 生理적으로 약한 특성을 보였다.
2. Oxyfluorfen 처리후의 PPIX 축적과 norflurazon 처리후의 carotene 減少率은 벼, 피간의 選擇性과는 상관이 없었다.
3. Lipoxigenase 活性은 피가 약 5-6배 높고, 不飽和脂肪酸의 비율도 피가 벼보다 높아 過酸化가 쉽게 일어날 수 있는 素質을 갖고 있었다.
4. Peroxidase, catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase, ascorbic acid oxidase 등의 生體重當 活性은 벼가 피보다 각각 3.6, 11.4, 1.5, 2.5배 더 높았다. 한편 약제처리 후 抗酸化 酵素 誘起能力에 있어서는 오이 peroxidase에서와는 달리 벼, 피에서는 변화가 없거나 오히려 비슷한 정도로 活性이 떨어지는 경향이였다.
5. 抗酸化劑 含量의 경우 벼가 피보다 α -tocopherol은 2.3배, ascorbic acid는 4.1배, GSH는 1.7배, carotenoid는 1.8배 높았다. 따라서 幼苗期(3-4 葉期 未滿)의 벼, 피에 白化型 除草劑를 처리할 때 피가 공통적으로 感受性を 보였던 이유는 피가 기본적으로 가지고 있는 性質 즉 낮은 色素代謝力, 抗酸化 酵素의 낮

은 활성, 항산화劑의 低含量, 높은 不飽和 脂肪酸 比率, lipoxygenase의 高活性 등을 보유하고 있는데도 그 원인이 있는 것으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. Aebi H. 1985. Catalase in vitro. *Methods in Enzymol.* 105 : 121-126.
2. 淺田浩二. 1985. 植物의 光酸素障害 - 抑制と増幅 - 日本農藥學會誌. 10 : 729-743.
3. Bartels P.G. and C.W. Watson. 1978. Inhibition of carotenoid synthesis by fluridone and norflurazon. *Weed Sci.* 26 : 198-203.
4. Ben-Aziz A., G. Grossman, I. Ascarelli and P. Budowski. 1970. Linoleate oxidation induced by lipoxygenase and heme proteins. *Anal. Biochem.* 34 : 88-100.
5. Berard D.F., D.P. Rainey and C.C. Lin. 1987. Absorption, translocation and metabolism of fluridone in selected crop species. *Weed Sci.* 26 : 252-254.
6. 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.
7. 조광연·김영섭·김범태·민용기·전근숙·김진석·구석진·홍경식·황인택. 1991. 디페닐 에테르 유도체 및 그의 제조방법. 한국물질 특허 91-1435(출원번호 88-6135). 대한민국 특허청.
8. Delvin R.M. and V.H. Deubert. 1973. Tolerance of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) to SAN 9789 : An experimental herbicide. *Weed Res.* 13 : 393-398.
9. Duggan J. and M.L. Gassman. 1974. Induction of porphyrin synthesis in etiolated bean leaves by chelators of iron. *Plant Physiol.* 53 : 206-215.
10. Duke S.O. and W.H. Kenyon. 1986. Effect of dimethazone (FMC 57020) on chloroplast development. II. Pigment synthesis and photosynthetic function in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. *Pestic. Biochem. Physiol.* 25 : 11-18.
11. Dupont J. and P.A. Siegenthaler. 1986. A parallel study of pigment bleaching and cytochrome breakdown during aging of thylakoid membranes. *Plant Cell Physiol.* 27(3) : 473-484.
12. Finckh B.F. and K.J. Kunert. 1985. Vitamine C and E : An antioxidative system against herbicide induced lipid peroxidation in higher plants. *J. Agric. Food Chem.* 33 : 574-577.
13. Hageman R.H. and A.J. Reed. 1980 Nitrate reductase from higher plants. *Methods in Enzymol.* 69 : 270.
14. Hathway D.E. 1986. Herbicide selectivity. *Biol. Rev.* 61 : 435-486.
15. Higgins J.M., T. Whitwell, F.T. Corbin, G. E. Carter, Jr., and H.S. Hill, Jr. 1988. Absorption, translocation and metabolism of acifluorfen and lactofen in pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) and ivyleaf morningglory (*Ipomoea hederacea*). *Weed Sci.* 36 : 141-145.
16. Hildebrand D.F. 1989. Lipoxygenases. *Physiol. Plant.* 76 : 249-253.
17. Hissin P.J. and R. Hilf. 1976. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 74 : 214-226.
18. Ishizuka K., H. Matsumoto and H. Hyakutake. 1988. Selective inhibitory action of chlomethoxynil on rice and barnyardgrass and its molecular fate in the light and dark. *Weed Research(Japan)*. 33 : 41-48.
19. 金泰完·姜炳華. 1988. Acifluorfen의 莖葉處理가 大豆 및 바랭이의 莖組織에서 peroxidase 活性에 미치는 影響. 韓國環境農學會誌. 7 : 52-57.
20. Knox J.P. and A.D. Dodge. 1985. Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry.* 24 : 889-896.
21. 具滋玉·石塚皓造·下種英. 1988. Oxyfluorfen 處理에 따른 耐性選拔 水稻品種의 吸收 및 移行差異. 韓雜草誌. 8(1) : 37-44.
22. Kouji H., T. Masuda and S. Matsunaka. 1988. Action mechanism of diphenyl ether herbicides : Light-dependent O₂ consumption in diphenyl ether-treated tobacco cell homogenate. *J. Pestic. Sci.* 13 : 495-499.
23. Lamoureux G.L., D.G. Rusness, P. Schroder and H. Rennenberg. 1991. Diphenyl ether herbicide metabolism in a spruce cell suspension culture : The identification of two novel metabolites derived from a glutathione conju-

- gate. Pestic. Biochem. Physiol. 39 : 291-301.
24. Larson R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27 : 969-978.
 25. Law M.Y., S.A. Charles and B. Halliwell. 1983. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacea oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and of paraquat. *Biochem. J.* 210 : 899-903.
 26. Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids : pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymol.* 148 : 350-382.
 27. Matringe M., J-M. Cabadro, P. Labbe and R. Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase inhibition by three peroxidizing herbicides : Oxadiazon, LS 82556 and M & B 39279. *FEBS Lett.* 254 : 35.
 28. McCord J.M. and I. Fridorich. 1969. Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 244 : 6049-6055.
 29. Metcalfe L.D. and A.A. Schmitz. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical chemistry* 33 : 363-364.
 30. Norman M.A., R.A. Liebel and J.M. Widholm. 1990. Uptake and metabolism of clomazone in tolerant -- soybean and susceptible -- cotton photomixotrophic cell suspension cultures. *Plant Physiol.* 92 : 777-784.
 31. Orr G.L. and F. D. Hess. 1982. Proposed site (s) of action of new diphenyl ether herbicides. in Moreland D. E. et al ed. *Biochemical Responses Induced by Herbicides*. pp.131-152. American Chemical Society.
 32. Owen W.J. 1987. Herbicide detoxification and selectivity. *British Crop Protection Conference -Weeds*. pp.309-318.
 33. Pohl P., H. Glasl and H. Wagner. 1970. Zur analytik pflanzlicher glyko- und phospholipoide und ihrer fettsauren. *J. Chromatography* 49 : 488-492.
 34. Rendina A.R. and J.M. Felts. 1988. Cyclohexanedione herbicides are selective and potent inhibitors of acetyl Co-A carboxylase from grasses. *Plant Physiol.* 86 : 983-986.
 35. Rennenger H. 1982. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants. *Phytochemistry*. 21 : 2771-2781.
 36. Ridley S.M. and J. Ridlet. 1979. Interaction of chloroplasts with inhibitors-Location of carotenoid synthesis and inhibition during chloroplast development. *Plant Physiol.* 63 : 392-398.
 37. Ritter R.L. and H.D. Coble. 1981. Penetration, translocation and metabolism of acifluorfen in soybean (*Glycine max*), common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*). *Weed Sci.* 29 : 474-480.
 38. Salisbury F.B. and C.W. Ross. 1985. *The plant physiology* (3rd ed.). Wadsworth Publishing Company.
 39. Sandmann G. and P. Boger. 1982. Mode of action of herbicidal bleaching. In Moreland D. E. et al ed. *Biochemical Responses Induced by Herbicides*. pp.111-130. American Chemical Society.
 40. Sandmann G. and P. Boger. 1987. Interconversion of prenyl pyrophosphates and subsequent reactions in the presence of FMC 57020. *Z. Naturforsch.* 42c : 803-807.
 41. Sandmann G., H. Linden and P. boger. 1989. Enzyme-kinetic studies on the interaction of norflurazon with phytoene desaturase. *Z. Naturforsch.* 44c : 787-790.
 42. Smith I.K., L. Vierheller and C.A. Thorne. 1988. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Anal. Biochem.* 175 : 408-413.
 43. Strang R.H. and R.C. Rogers. 1974. Behaviour and fate of two phenyl pyridazinone herbicides in cotton, corn and soybean. *J. Agric. Food Chem.* 22 : 1119-1125.
 44. Strivistava H.S. 1980. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phytochemistry*. 19 : 725-733.
 45. Tamma R.V. and M. Singh. 1987. Norflurazon selectivity in two biotypes of guineagrass (*Panicum maxicum*). *Weed Sci.* 35 : 749-752.
 46. 辻英夫. 1987. 黄化組織の グリ-ニング. *日本農薬学会誌*. 12 : 517-538.
 47. Upham B.L. and K.K. Hatzios. 1987. Potential involvement of alkoxy and hydroxyl radicals in

- the peroxidative action of oxyfluorfen. Pestic. Biochem. Physiol. 28 : 248-256.
48. Vanstone D.E. and E.H. Stobbe. 1977. Electrolyte conductivity—a rapid measure of herbicidal injury. Weed Sci. 25 : 352-354.
49. Yamasue Y., K. Ueki and H. Chisaka. 1987. Seed dormancy and germination of *Echinochloa oryzicola* Vasing : An observation through respiration and several enzyme activities. Weeds Research (Japan) 32(3) : 188-197.