

Paraquat 抵抗性 및 耐性 發現 機構

馬祥堉 · 全載哲

Mode of Resistance and/or Tolerance Action of Paraquat

Sang-Yong Ma and Jae-Chul Chun

Abstract

Resistance to paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridilium ion) has developed in 12 species of 8 genera to which paraquat has been applied 6 to 10 times per year for 5 or more years. In recent years, tolerance to paraquat has been found in *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Liboch. ex Fisch. & Mey. which has never been applied with any herbicides involving paraquat. In this review, we differentiate the terms, resistance and tolerance, on the basis of the paraquat-exposure history. Five hypotheses have been evaluated in several species as potential mechanisms of paraquat resistance and/or tolerance. In a species, the mode of action may be due to 1) reduced quantities of paraquat absorbed through the leaf surface, 2) detoxification of paraquat caused by the enhanced paraquat-metabolic activity, 3) rapid sequestration reducing level of paraquat at the site of action in chloroplast, 4) alteration of site of action in photosystem I resulting in interruption of electron transport to paraquat, and 5) rapid enzymatic detoxification of superoxide and other toxic forms of oxygen.

緒 言

除草劑 抵抗性 草種의 出現 可能性이 1954年 Abel에 의하여 豫見된 이래, 現在에 이르러서 全 世界的으로 심각한 問題點으로 浮刻되어 이를 解決

하고자 하는 努力들이 활발하게 進行되고 있다²²⁾. 植物體에 대한 抵抗性이 triazine 系, bipyridilium 系, phenoxy 系, imidazolinone 系 및 sulfonylurea 系 除草劑 等에 걸쳐 廣範圍하게 나타나 있고^{2,3,39,63)}, 抵抗性을 보이는 草種의 大部分이 特定 除草劑의

反復 處理 條件에서 發生하거나²³⁾ 酸化力이 강한 特定 煤煙物質^{38,56)} 등에 反復 露出되어 나타나고 있는 점에서 問題의 深刻性은 더욱 高潮되고 있다.

Paraquat에 대한 抵抗性은 最近까지 英國, 美國, 濠洲, 헝가리 및 日本 等地에서 發見된 10여 種에 이르는 다양한 草種에 걸쳐 報告되어 왔는데, 이러한 抵抗性 草種들은 5年 以上の 期間 동안 年間 5-10回 정도 paraquat가 反復 處理된 地域에서 發生하였다는 共通點을 가지고 있다^{16,17)}. 그러나 最近에 우리나라에서 報告된 藥草 作物에 대한 有效 除草劑 選拔 結果에 의하면⁴²⁾, 除草劑 등의 化合物에 대한 露出 經歷이 전혀 없는 野生 또는 일반적인 栽培 條件의 地黃(*Rehmannia glutinosa*)에서 非選擇性 除草劑 paraquat에 대한 耐性이 確認되었다.

이러한 背景에서 paraquat에 대한 特定 草種의 抵抗性 機構의 精確한 理解는 전반적인 除草劑 抵抗性 研究에 필요한 生化學的인 根幹을 提供함으로써 抵抗性 植物의 出現을 효과적으로 防止할 수 있는 새로운 方法을 提示하거나¹⁷⁾, 除草劑 抵抗性을 갖는 作物의 開發 등을 위한 biotechnology 分野의 研究에 유용한 情報을 提供한다는 점에서 매우 強調되고 있다²⁶⁾. 이에 따라 지금까지 알려진 paraquat의 各 作用 經路 別 抵抗性 發現機作을 考察하고, 이에 입각한 植物體에 있어서의 抵抗性 또는 耐性 研究과 관련된 假說과 方向의 提示는 追後 研究의 根幹이 될 것으로 생각한다.

抵抗性 對 耐性

세계보건기구(WHO)는 일반적인 抵抗性의 概念을 特定 生體 集團에 있어서 遺傳的, 統計的으로 感知되는 化合物에 대한 感受性의 低下로 定義하고 있다. 현재까지 사용되고 있는 除草劑 抵抗性(resistance)은 感受性 草種에 대한 特定 除草劑의 反復 處理로부터 나타나는 反應性의 低下를 意味하여 可視的으로는 抵抗性으로 발전된 草種은 感受性 種의 生育 抑制를 유발하는 特定 除草劑의 致死濃度 水

準에서도 정상적인 生育을 보이게 된다⁵⁴⁾. Gressel²¹⁾은 이러한 抵抗性을 獲得型 또는 進化型 抵抗性(evolved resistance)으로 分類하여, 植物體에 본질적으로 內在하는 抵抗性(natural resistance) 또는 耐性(tolerance)과 區分하였다. 또한 특정 除草劑에 대하여 나타나는 抵抗性은 進化型 抵抗性和 耐性을 동시에 포함하는 넓은 意味의 用語로 定義하였으며, 感受性, 耐性 및 抵抗性의 範圍를 圖式化하여 提示하고 있다. Lebaron 等⁴⁶⁾도 植物體가 본질적으로 特定 化合物에 대하여 나타나는 낮은 反應性을 耐性으로 定義하였으며, 特定 毒性物質의 反復된 處理로 부터 나타나는 反應性의 低下를 抵抗性으로 區分하고 있다.

最近 우리나라에서 報告된 地黃의 경우에는 除草劑에 대한 露出 經歷이 전혀 없는 野生 條件 등에서 paraquat에 대한 耐性이 確認되어 이에 대한 研究가 進行中에 있다. Gressel 등²¹⁾의 定義에 根據하면, 地黃에 있어서 paraquat 耐性 發見은 本質的으로 植物體 內에 존재하는 代謝 機構에 의하여 나타나므로 地黃의 paraquat 耐性 機構는 일반적으로 알려진 抵抗性 草種과는 다른 樣相의 耐性 機構를 가질 것으로 特定된다. 이러한 背景에서 本 報告에서는 paraquat 抵抗性을 이미 제시된 獲得型 抵抗性和 耐性의 概念으로 細分하여 使用하였다.

Paraquat의 作用 特性

Paraquat는 1993年 경부터 一種의 酸化還元 提示藥¹⁾으로서 使用되어 오다가 1955年 英國 ICI社에 의하여 除草劑로서의 活性이 發見되었다³⁷⁾. Bipyridilium系 非選擇性 除草劑인 paraquat는 乾燥 狀態에서는 강한 收容性을 갖는 chlorine鹽의 形態인 반면에, 水溶液 狀態에서는 매우 안정된 2價 양이온의 形態로 變化한다¹⁾. 이러한 特性은 除草劑로서 실제 使用하는데 있어서 중요한 要因으로 paraquat가 莖葉部에 處理된 경우에만 殺草 活性이 나타나며, 土壤 중에 處理되는 경우에는 處理量 대부분이 mont-

morillonite와 같은 粘土 鑛物 및 기타 음이온을 띠는 土壤 質物에 쉽게 吸着되기 때문에 根部를 통한 paraquat의 吸收는 이루어지지 않는다²⁴⁾. 이와 함께 生體內에서 paraquat의 毒性 發現을 가능하게 하는 주된 特性은 paraquat의 酸化還元 電位($E_0' = -446$ mV)가 細胞內의 電子傳達 媒介體중 하나인 ferredoxin(-430 mV)과 매우 유사하여 쉽게 還元될 수 있으며, 酸素 存在下에서는 자발적으로 酸化 狀態로 轉換된다는 점이다^{37,67)}.

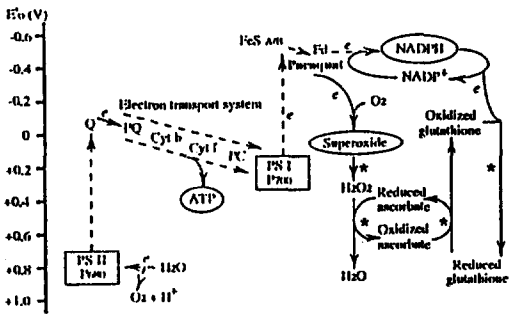


Fig. 1. Site of action of paraquat and Haliwell-Asada system present in chloroplast: PQ, plastoquinone; Cyt b, cytochrome b559; PC, plastocyanin; PS, photosystem I and II; Q, FeS_{A/B}, unidentified electron carriers; asterisks, protective enzymes³⁷⁾.

Zweig 등⁶⁷⁾은 精製한 chloroplast를 利用한 實驗에서 diquat(-349 mV)와 ferredoxin(-430 mV) 사이에 電子 傳達의 競合이 일어남을 報告하였으며, Harris 등²⁹⁾은 그 結果로 電子共與體인 F_A/F_B(-560 mV)로 부터 ferredoxin을 輕油하는 정상적인 電子의 傳達이 抑制되어 NADP⁺의 還元 및 炭素 同化의 低下가 나타난다고 結論지었다(그림 1). 이에 앞서 Mees 등⁴⁸⁾은 paraquat의 活性 發現을 위하여 왕성한 電子의 흐름을 가져오는 光 條件과 毒性 酸素의 生成에 필요한 酸素의 供給을 指摘하였다. 初期의 研究에서는 paraquat에 의하여 生成되는 毒性 物質

로서 hydrogen peroxide⁹⁾나 hydroxyl radical(OH[·])¹⁰⁾의 活性이 提示되었으며, 以後의 研究들로부터 還元된 paraquat의 再酸化 過程에서 일차적으로 superoxide(O₂⁻)가 生成됨이 立證되었다. Farrington 등¹³⁾은 충분한 酸素 條件의 葉綠體 grana에서 paraquat은 1 μM의 superoxide를 生成하는데 7.7×10^8 M⁻¹s⁻¹의 速度 常數로 反應한다고 推定하였으며, Harbour 등²⁵⁾은 5,5'-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide를 이용한 spin trapping 實驗을 통하여 bipyridilium계 除草劑들이 superoxide의 生成反應을 觸媒한다고 報告하였다(그림 1).

정상적인 細胞에서 superoxide는 一種의 酸化還元劑로 作用하여 superoxide dismutase 觸媒로 hydrogen peroxide로 轉換되며, 철 이온이 觸媒하는 Fenton-type 反應을 통하여 다시 hydrogen peroxide와 反應하여 hydroxyl radical을 形成한다⁴⁵⁾(그림 2). Harris 등²⁸⁾은 paraquat 處理에 의하여 生成된 hydroxyl radical이 細胞壁을 構成하는 不飽和 脂肪酸의 酸化, DNA의 deoxyribose와 thymine 또는 methionine, histidine과 같은 아미노酸을 分解함으로써 細胞의 破壞를 惹起한다고 報告하였다. 특히 葉綠體 thylakoid膜을 構成하는 脂肪酸은 대부분이 linolenic 및 linoleic 酸과 같은 不飽和 脂肪酸으로서

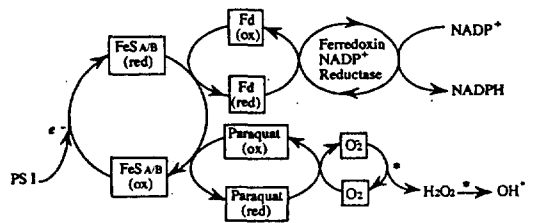


Fig. 2. Sequence of the electron flow from iron sulfur centers A/B to either ferredoxin or paraquat: FeS A/B, unidentified electron donor involving iron sulfur center; Fd, ferredoxin; O₂⁻, superoxide radical; OH[·], hydroxyl radical; ox, red, oxidized or reduced form of electron carriers¹¹⁾.

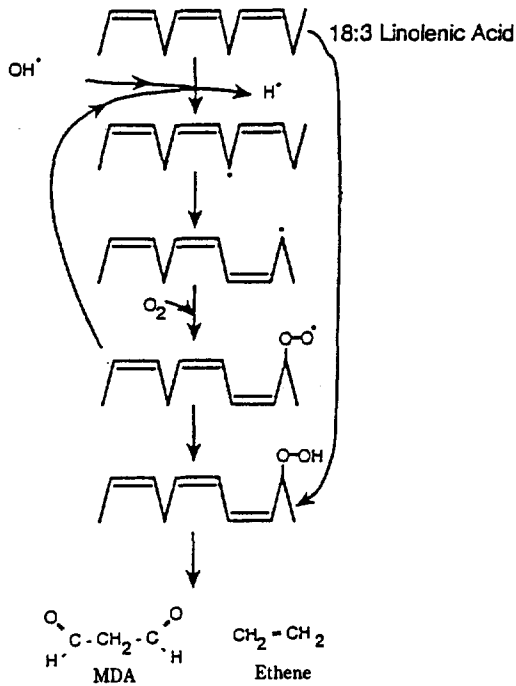


Fig. 3. Paraquat-induced lipid peroxidation of a thylakoid membrane polysaturated fatty acid molecule(18:3, linolenic acid)¹⁸⁾.

電子傳達 過程에서 生成되는 毒性 酸素에 의하여 신속히 酸化되어 ethane이나 malondialdehyde와 같은 작은 單位의 炭水化物 切片으로 分解된다¹⁸⁾(그림 3).

最近에는 光 條件에서 處理된 paraquat의 活性이 藥劑 處理 後, 부다가 수 時間이내에 處理 部位를 中心으로 나타나는 점을 勘案하여 일차적으로 毒性 酸素에 대하여 가장 빨리 露出되는 chloroplast膜의 破壞와 機能 喪失에 이어서 나타나는 細胞膜의 分裂과 水分枯渴이 植物體의 신속한 枯死現狀을 說明하는 주요 作用機構로서 報告되고 있다¹²⁾. 지금까지 paraquat의 作用 特性에 관한 研究의 대부분은 光 合成 體系에 포함된 電子 傳達 過程과 葉綠體 膜의 破壞사이의 相互 關聯性을 中心으로 이루어진 반면에, paraquat의 作用點인 photosystem I에 포함되어 있는 電子 傳達 媒介體들에 대한 特性 및 構造가 충분히 說明되지 않았기 때문에 電子 共與體로 부터 paraquat의 電子 傳達 機作 等에 관한 研究는 아직 報告되어 있지 않다.

Table 1. Plant species in which biotypes, cultivars, or mutants have resistance to paraquat¹⁶⁾.

Species	Origin	Approximate resistance factor	Inheritance
<i>Arctotheca calendula</i> (L.) Levyns	Australia
<i>Ceratopteris richardii</i> Brongn.	U. States	10-40	single gene, recessive
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronq.	Egypt	100	single gene, dominant
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.	Hungary	170-450	...
<i>Erigeron canadensis</i> L.	Japan	>100	...
<i>Erigeron philadelphicus</i> L.	Japan	250	single gene, dominant
<i>Erigeron sumatrensis</i> Retz.	Japan
<i>Hordeum glaucum</i> Steud.	Australia	250	single gene, semi-dominant
<i>Hordeum leporinum</i> Link	Australia
<i>Lolium perenne</i> L.	U. Kingdom	6-10	polygenic
<i>Poa annua</i> L.	U. Kingdom	4-8	...
<i>Youngia japonica</i> (L.) DC.	Japan

Paraquat 抵抗性 및 耐性 發現의 背景

Paraquat에 대한 抵抗性은 最近까지 全 世界的으로 8屬 12種에 이르는 多量한 草種에 걸쳐 나타나고 있으며, 그 중에 10種의 抵抗性 植物은 전형적으로 paraquat가 反復 處理된 地域에서 發生하는 雜草種이다^{17,22)}(표 1). 대부분의 研究 報告에서 抵抗性 發現의 評價는 感受性 種과 抵抗性 種간의 paraquat에 대한 相對的인 反應性의 差異를 50% 生育抑制 濃度(GI₅₀ 值)를 基準으로 比較하는 方法에 의하여 이루어졌다. *Erigeron philadelphicus*⁶⁶⁾와 *E. canadensis*⁴¹⁾의 抵抗性種들이 日本의 Saitama와 Osaka의 뽕나무 栽培 地域에서 각각 發見되었다. 두 경우 모두 雜草 防除를 위하여 10年 以上 paraquat를 連用한 地域에서 發生하였으며, GI₅₀ 值 基準으로 感受性 種에 비하여 100倍 이상의 높은 抵抗性을 보였다. 1970年 포도와 감귤류 栽培를 위하여 집중적인 paraquat 撒布 作業이 實施된 이집트의 Tahrir 灌溉 地域에서 *Conyza bonariensis*³⁶⁾에 대한 防除上의 어려움이 처음 發見되었다. *Conyza*는 美國에도 널리 分布되어 있는 雜草種으로서 paraquat 등의 非選擇性 除草劑에 의한 雜草 防除가 필수적인 美國의 대규모 無耕耘 栽培 地域에 있어서도 問題 雜草로 浮刻되었다⁶⁾. Powles 等⁹⁶⁾은 濠洲에서 問題視되고 있는 禾本科 雜草의 하나인 *Hardeum glaucum*에 있어서 感受性 種에 비하여 250배 높은 paraquat에 대한 抵抗性을 報告하였다.

栽培 作物에 있어서는 多年生 獨보리(*Lolium perenne*)의 paraquat 抵抗性 品種이 北 Ireland의 한 育種 圃場에서 選拔되었으며, GI₅₀ 值에 있어서 本來의 感受性 品種과 抵抗性 品種인 PRP II 사이에 約 6倍의 差異를 보였다^{14,35)}. PRP 種은 paraquat와 같은 bipyrilidium 系 除草劑인 diquat에 대해서도 抵抗性을 나타내었으나, 기타 다른 除草劑들에 대하여서는 感受性을 보였다. 콩에 있어서도 抵抗性 品種인 Kwangkyo에서 感受性 種인 Hood에 비하여 約 10倍 정도 강한 抵抗性이 報告되었다⁴⁴⁾.

以前까지 우리나라에서 發見된 paraquat 抵抗性 또는 耐性 植物은 報告된 바 없었으나, 藥草 栽培에 안전한 除草劑를 選拔하는 過程에서 地黃(*Rehmannia glutinosa*)의 paraquat에 대한 耐性이 發見되었다⁴²⁾. 대부분의 感受性 草種들은 0.8g a.i.ha⁻¹의 處理 濃度에서 處理 5日後까지 完全 枯死되었으나, 地黃의 경우에는 6.0g a.i.ha⁻¹에서 50%의 乾物重 減少가 나타났다. 이러한 地黃의 paraquat 耐性에 관한 報告는 paraquat 또는 기타 除草劑에 대한 露出 經歷이 전혀 없는 狀態에서 發見되었다는 점에서 지금까지 報告된 抵抗性의 경우와 區分된다⁴⁶⁾.

地黃은 玄蓼科의 多年生 植物로서 우리나라에서는 주로 2年 以上 生育시킨 地黃의 塊根을 몇 段階의 燻蒸 過程을 거쳐 調製하여 韓藥材로 利用되고 있다⁴²⁾. 이미 報告된 paraquat 抵抗性 草種들은 대부분이 paraquat에 反復 處理된 圃場에서 發生한 雜草種^{17,23)}인 반면에, 地黃에서의 paraquat 耐性 發現은 매우 특이한 경우로서 地黃의 耐性 機作에 관한 研究는 현실적으로 非選擇性 除草劑의 利用幅 擴大를 통한 보다 효율적인 雜草防除 體系를 提示할 수 있음과 동시에, 此後에 이루어질 除草劑 研究 開發 等に 寄與할 수 있는 生理, 生化學的 參考資料를 提供할 것으로 期待된다.

Paraquat 抵抗性 機構

1. Paraquat 吸收, 移行의 低下 및 代謝의 增大

일반적으로 除草劑의 活性 發現을 위하여서는 우선 충분량 의 除草劑가 細胞 內로 吸收 또는 移行되어야만 하므로 일차적으로 이와 關聯하여 paraquat 抵抗性 機作을 밝히고자 많은 研究들이 이루어져왔다⁸⁾. *L. perenne*³⁵⁾ 및 *H. glaucum*⁵⁾의 抵抗性 種에 있어서는 莖葉에 處理된 paraquat의 葉 表面 또는 細胞質에 分布하는 濃도가 感受性 種과 差異를 보이지 않았으며, 根部 또는 인접된 葉으로의 移行性에 있어서도 差異가 없음이 報告되었다. *C. bonarie-*

nsis¹⁶⁾의 경우에는 抵抗性 種에서 더 많은 paraquat의 吸收가 일어났으나, 切斷된 莖葉의 petiole을 통하여 吸收된 paraquat의 mesophyll 細胞로의 移動이 抵抗性 種에서 制限되었다. 이와 유사한 結果로서, *E. philadelphicus* 및 *E. canadensis*⁶²⁾와 콩의 抵抗性 種⁴³⁾에서도 感受性 品種과 같은 水準으로 paraquat의 吸收가 일어났으나, 유관속 細胞에서 mesophyll 細胞로의 paraquat 移行이 抑制됨으로써 이러한 paraquat의 制限된 移動이 抵抗性 發現에 寄與할 것으로 提示되었다.

Paraquat는 紫外線 條件에서 光酸化의으로 分解되어 토마토와 옥수수의 莖葉部에서 4-carboxy-1-methyl-pyridinium chloride와 methylamine hydrochloride가 paraquat의 光分解 産物로서 동정되었다⁵⁹⁾. 이러한 이유에서 植物體 중에서 일어나는 paraquat의 代謝를 調査하는데 있어서는 두꺼운 유리를 이용하여 紫外線을 遮斷하는 方法이 提示되었다⁷⁾. Funderburk와 Bozarth¹⁹⁾ 및 Summers⁶⁰⁾는 paraquat와 diquat가 土壤 微生物에 의하여 分解되는 반면에, 植物體내에서는 상대적으로 安定하다고 報告하였다. *L. perenne*³⁵⁾에 있어서 paraquat의 代謝는 認定되지 않았으며, 最近의 研究에서도 *C. bonariensis*⁵⁰⁾ 및 콩⁴³⁾에서의 抵抗性 發現이 paraquat의 代謝의 不活性化에 起因하지 않는다고 報告되었다.

2. 作用點으로 부터 paraquat의 隔離

抵抗性 草種에서 paraquat의 吸收, 作用點의 活性 및 害毒酵素의 活性이 感受性 草種과 비교하여 差異가 없었다는 研究 結果들로 부터 일차적으로 作用點까지의 paraquat의 接近이 阻害될 것이라는 假說이 提示되었다¹⁷⁾. *C. bonariensis*에서 photosystem I의 電子傳達 樣狀이 電子受容體의 種類에 따라 差異가 없는 반면에, 莖葉에 處理된 paraquat에 의하여 나타난 *in vivo* chlorophyll fluorescence 또는 chlorophyll 分解에 있어서 感受性 種과 抵抗性 種 사이에 差異가 認定되었다^{16,64,65)}. 이러한 結果는 作

用點에서의 paraquat 活性이 排除되고 있음을 示唆하는 것으로서 *C. canadensis*^{47,52,61)}에서도 이와 유사한 結果가 報告되어 있다. Shaaltiel과 Gressel⁵⁸⁾은 *Conyza* spp.의 paraquat 抵抗性 種과 感受性 種에서 抽出한 葉綠體에서 paraquat 處理에 관계없이 炭素 固定 能力에 差異가 없음을 發見하고, 作用點으로부터 毒性 酸素 또는 paraquat를 隔離시킬 수 있는 抵抗性 機作이 存在한다고 提案하였다. Powles와 Cornic⁵³⁾은 *H. glaucum*의 原形質體 水準에서 實驗을 遂行하여 炭素固定作用이 paraquat에 의하여 阻害받지 않음을 밝히고, 抵抗性 機作이 原形質體의 外部에 存在한다고 提案하였다.

H. glaucum 내에서는 paraquat가 apoplast에만 한정적으로 存在할 것으로 推定되었으며^{5,53)}, 두 種의 *Erigeron* spp.⁶²⁾와 콩⁴³⁾의 抵抗性 種에 있어서는 유관속 細胞에서 mesophyll 細胞로의 paraquat의 移動이 抑制되었다. 이러한 背景에서 paraquat가 細胞內에서 양이온의 形態로 存在하기 때문에 細胞內物質과의 강한 吸着이 이루어질 수 있다는 假說이 提示되었다¹⁶⁾. 最近의 報告에서는 paraquat 隔離 機構로서 細胞壁의 役割이 提示되었다⁵⁰⁾. 細胞壁 構成成分의 하나인 pectin의 脫 ester化된 galacturonan 構造에 의하여 細胞壁는 양이온 置換성을 갖게 되어 Ca^{+2} , polyamine과 같은 양이온과 非共有의으로 結合한다^{4,51)}. 그러나 *C. bonariensis*로 부터 精製한 細胞壁에 대한 paraquat 吸着量의 變化와 抵抗性 發現 사이에서 相關 關係는 認定되지 않았다¹⁶⁾. Norman等⁵⁰⁾은 지금까지의 研究들이 細胞壁의 不溶性 部分만을 대상으로 遂行되었기 때문에 구조적으로 本來狀態의 細胞壁의 paraquat 吸着에 관한 調査가 필요하다고 指摘 하였다.

細胞內에서 Ca^{+2} , Mn^{+2} , Na^{+} , polyamine 類 및 기타 有機酸 등을 代謝的 必要에 따라 貯藏 또는 放出할 수 있는 役割을 하는 액포(vacuole)의 機能에 근거하여, 作用點에 대한 paraquat의 露出을 抑制하는 paraquat 隔離 機構로서 액포의 役割이 提起되었다¹⁷⁾(그림 4). Fuerst와 Vaughn¹⁷⁾는 細胞內

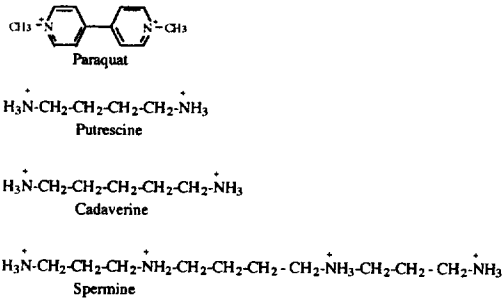


Fig. 4. Molecular structure of paraquat and three polyamines, putrescine, cadaverine, and spermine.

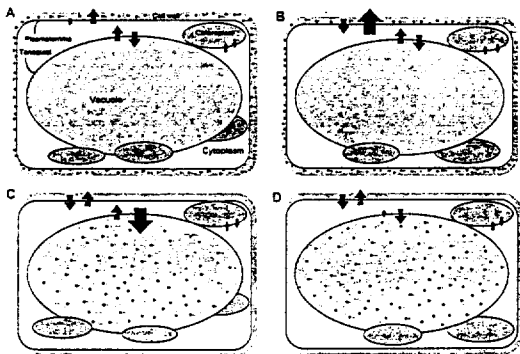


Fig. 5. Models showing alterations in paraquat transport which could result in sequestration from the chloroplast. A. Influx into the cytoplasm across the plasmalemma is reduced. B. Efflux across the plasmalemma is increased. C. Influx into the vacuole across the tonoplast is increased. D. Efflux out of the vacuole across the tonoplast is reduced³⁰⁾.

에서 paraquat가 양이온의 形態로 存在하기 때문에 Ca^{2+} 等の 양이온들의 膜 透過에 関여하는 傳達 蛋白質을 통하여 액포내로 吸收됨으로써 作用點까지의 接近이 妨害된다고 推定하였다. Hart 等³²⁾은 옥수수 根部에 있어서 paraquat의 symplasm으로의 吸收에 関여하는 傳達體系의 存在를 報告하였다. 이

어서 報告된 結果에서는 paraquat의 吸收가 2가 양이온인 putrescine과 cadaverine에 의하여 競合的으로 沮害되는 반면에, 4가 양이온인 spermine에 의하여 非競合的으로 沮害됨을 밝히고, 2價 양이온의 diamine에 의하여 機能을 발휘하는 特定 傳達 蛋白質에 의하여 paraquat의 吸收가 일어남을 강력히 示唆하였다³³⁾(그림 5). 또한 paraquat의 根部를 통한 吸收는 Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 La^{3+} 에 의하여 非競合的으로 沮害되었으며³⁴⁾, calcium channel 沮害劑인 verapamil과 일반 代謝沮害劑 cyanide를 이용한 實驗에서 paraquat의 吸收 體系가 calcium channel이 아니고 細胞質 ATP의 水準에도 影響을 받지 않음을 確認하였다³⁴⁾. 옥수수로 부터 抽出한 原形質體 水準의 實驗에서도 根部에서의 吸收 樣狀과 유사한 傾向을 나타내었다³¹⁾. 最近에는 抵抗性 草種에 있어서 葉綠體 膜의 變形에 의한 作用點까지 paraquat의 接近이 抑制될 可能性도 指摘 되었다³⁰⁾.

3. 作用點의 變形

抵抗性 草種에서 나타나는 paraquat의 活性 低下를 說明하기 위하여 作用點의 變形 여부를 究明하는데 있어서 지금까지의 報告들은 대부분 作用點이 存在하는 葉綠體를 대상으로 炭素固定 能力 및 chlorophyll 含量의 變化를 調査하거나 photosystem I의 電子共與體와 paraquat 사이의 親化도를 調査하는 方法들을 採擇하였다. 그러나 現在까지 作用點 水準에서 나타나는 paraquat 抵抗性 機作은 報告된 바 없으며, 研究 結果의 대부분이 다른 抵抗性 機作的 存在를 提示하는 역설적인 證據로서 提示되어 왔을 뿐이다.

C. *banariensis*에서 抽出한 葉綠體를 對象으로 paraquat (-446 mV), diquat (-349 mV) 및 triquat (-538 mV)를 電子受容體로 사용하여 photosystem I(F_A/F_B)으로 부터의 傳達速度를 調査한 結果¹⁶⁾, 電子受容體의 變化에 의한 抵抗性의 差異는 認定되지 않았다. Powles와 Cornic⁵³⁾은 *H. glaucum*의 葉綠體

와 原形質體 水準에서 炭素固定 能力 및 photosystem I 電子 共與體의 paraquat에 대한 親化도를 調査한 實驗에서 感受性 草種과 差異가 없음을 報告하였다. Paraquat 抵抗性인 Kwangkyo 種과 感受性 Hood 種에서 모두 1 μ M paraquat 處理시에 莖葉部의 mesophyll 細胞에서 炭素 固定이 阻害됨을 報告하고⁴⁴⁾, 이어서 행한 一連의 實驗들을 통하여 두 種간의 反應性的 差異가 paraquat의 mesophyll 細胞로의 移動性 差異에서 起因한다고 提案하였다⁴³⁾. Norman 等⁵⁰⁾은 *Conyza*에서 精製한 葉綠體 thylakoid를 이용하여 paraquat 處理에 따르는 thylakoid 膜 分解產物인 malondialdehyde의 水準을 調査함으로써 抵抗性 種에 있어서 photosystem I의 電子 傳達 體系에 變化가 없음을 報告하였다.

4. 防禦 酵素의 活性 增大

Paraquat는 葉綠體중의 photosystem I에서 電子 受容體로 作用하여 1價 이온으로 還元되고 酸素 存在하에서 自發적으로 酸化 狀態로 轉換하면서 superoxide radical을 生成하게 된다^{11,36,67)}. Superoxide는 강한 酸化力을 갖는 hydrogen peroxide 또는 hydroxyl radical로 轉換되어(그림 2) 植物體에 대하여 毒性을 나타낸다^{12,18)}. 이러한 毒性 酸素는

ferredoxin으로의 정상적인 電子 傳達에 의해서도 生成되므로 植物體에는 Halliwell-Asada 系^{15,49)}로 일컬어지는 一連의 防禦 體系가 存在한다. Superoxide는 superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, dehydroascorbate reductase 및 glutathione reductase 等の 防禦 酵素들에 의한 一連의 反應을 통하여 최종적으로 물로 酸化된다³⁷⁾(그림 1).

Paraquat 抵抗性 草種에 있어서 이 酵素들의 대부분이 paraquat의 作用點인 葉綠體에 存在하므로 活性增大를 통하여 毒性 酸素의 害毒이 가능하다는 점에서 많은 研究들로 부터 paraquat 抵抗性 機構로서 提示되었다(표 2). *C. banariensis*에서 superoxide dismutase, ascorbate peroxidase 및 glutathione reductase의 活性이 抵抗性 種의 경우에 각각 1.6, 2.5, 2.9배씩 增大되었으며^{56,58)}, *L. perenne*에 있어서는 防禦 酵素의 種類에 따라 感受性 種에 비하여 1.3-1.6배^{27,36)} 增加하였다. Furusawa 等²⁰⁾은 組織培養에 의하여 選拔된 paraquat 抵抗性的 담배 cellus에서 增大된 superoxide dismutase의 活性을 보여 毒性 酸素의 害毒 活性이 增大됨에 따라 抵抗性이 나타남을 示唆하였다. 반면에 *C. banariensis*^{57, 64)}, *Erigeron* spp.⁶²⁾, *H. glaucum*⁵³⁾ 및 *Ceratopteris richardii*⁶⁾에서 나타나는 paraquat에 대한 抵抗性은 防禦 酵素의 活性 增大에 起因하지 않는다고 報告

Table 2. Relative activity of oxygenradical detoxification enzymes in paraquat-resistant and-susceptible plant species³⁰⁾.

Species	% susceptible				
	Superoxide dismutase	Ascorbate peroxidase	Glutathione reductase	Catalase	Other
<i>Ceratopteris richardii</i>	60-92	113-138	109-127	100-109	-
<i>Chenopodium rubrum</i>	-	-	91-119	117-233	105-161
<i>Conyza bonariensis</i>	160	250	292	-	-
<i>C. canadensis</i>	84	91	-	52	94
<i>Hordeum glaucum</i>	98	-	-	102	63
<i>Lolium perenne</i>	127-146	-	-	122-143	105-132
<i>Nicotiana tobacum</i>	1400-15900	95-153	-	5-26	-

하였다.

最近의 報告에서는 抵抗性 草種에서 나타나는 防禦 酵素의 活性 變化만을 抵抗性 發現을 說明하는 데는 몇가지 疑問點이 있음이 指摘되고 있다¹⁷⁾. *C. banariensis*의 경우에 GI_{50} 値로 調査된 抵抗性 指數에서 약 100배의 差異¹⁶⁾가 나타났으며, paraquat 處理에 의하여 superoxide의 濃도가 10-20배까지 增加하였다. 그러나 抵抗性 種에서 superoxide dismutase의 活性은 1.6배 增加하는데 그쳐⁵⁶⁾, 이 草種에서 發現되는 paraquat 抵抗性에 있어서 防禦 酵素의 活性 變化 이외의 다른 抵抗性 機構가 관여할 可能性이 提起되었다. 또한 *C. banariensis*와 *E. philadelphicus*의 抵抗性이 paraquat와 유사한 作用 機作에 의하여 活性을 나타내는 bipyridilium 系 除草劑 diquat와 morfamquat에 대하여 各各 다른 樣狀으로 나타난 結果^{16,40,57,65)}에서도 다른 抵抗性 機構의 存在를 示唆하고 있다.

結 言

지금까지 보고된 paraquat 抵抗性 機構에 관한 研究는 抵抗性 草種들에 있어서 paraquat 吸收 및 移行性的 低下^{5,16,35)}, paraquat 代謝力の 增大^{19,35,43,50,59,60)} 作用點에서의 變化^{36,52,53)} 및 防禦 酵素의 活性 增大^{6,55,56,57,58,62,64)} 여부를 調査함으로써 이루어져 왔다. 最近에는 paraquat의 化學構造의 特性에 基礎하여 paraquat가 細胞내에서 무기 양이온의 膜 透過에 關여하는 傳達 蛋白質을 통하여 액포내로 吸收되거나³⁰⁾, 細胞壁과 같은 細胞內 物質과의 강한 吸着¹⁷⁾에 의하여 作用點까지의 接近이 抑制된다는 假說이 提示되었다. 그러나 대부분의 研究에서는 이러한 抵抗性 假說에 대하여 부분적인 檢討만을 행하였으며, 特定 草種에 있어서 paraquat 抵抗性 機構에 대한 종합적인 結論이 내려져 있지 않은 실정이다⁵⁰⁾. 특히 paraquat 抵抗性 機構로서 細胞壁과 액포의 役割에 관한 研究는 거의 이루어져 있지 않으며, 기타 研究 結果를 통하여 간접적으로 새로운 抵抗性 機

構로서의 可能性이 推定되고 있을 뿐이다^{17,30)}. 또한 Fuerst와 Vaughn¹⁷⁾은 防禦 酵素의 活性 檢定에 있어서 chloroplast와 全體 細胞 水準에서 調査한 結果에 差異가 있음을 밝히고 研究 對象이 되는 抵抗性 機構의 特性에 따라 합리적인 實驗 方法을 채택해야 할 것을 指摘 하였다. 따라서 特定 植物體에 있어서 paraquat에 대한 抵抗性 또는 耐性 機構를 究明하기 위해서는 上記 假說들의 檢討와 더불어 paraquat의 흡수 단계에서 細胞 및 細胞器官 單位의 작용점에 이르는 paraquat의 각 作用 經路에 대한 綜合的인 研究 및 考察이 必要할 것으로 생각된다.

引用文獻

1. Akhavein, A. A. and Linscott, D. L. (1966). The bipyridilium herbicides, paraquat and diquat. *Residue Rev.* **23**: 97-145.
2. Anderson, M. P. and Gronwald, J. W. (1991). Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. *Plant physiol.* **96**: 104-109.
3. Arntzen, C. J., Pfister, K. and Steinback, K. E. (1982). The mechanism of chloroplast triazine resistnace: alterations in the site of herbicide action. In: *Herbicide resistance in plants* (H. M. Lebaron and J. Gressel, ed.), pp. 185-214. John Wiley & Sons. New York.
4. Baydoun, E. A. H. and Brett, C. T. (1988). Properties and possible physiological significance of cell wall calcium binding in etiolated pea epicotyls. *J. Exp. Bot.* **39**: 199-208.
5. Bishop, T., Powels, S. B. and Cornic, G. (1987). Mechanism of paraquat resistance in *Horreum glaucum*. II. Paraquat uptake and translocation. *Aust. J. Plant Physiol.* **14**: 539-547.
6. Carroll, E. W., Schwarz, O. J. and Hickok, L.

- G. (1988). Biochemical studies of paraquat tolerant mutants of the fern *Creopteris richardii*. *Plant Physiol.* **87**: 651-654.
7. Damanakis, M., Dennam, D. S., Fryer, J. D. and Holly, K. (1970). Availability to plants of paraquat adsorbed on soil or sprayed on vegetation, *Weed Research.* **10**: 305-315.
 8. Dan Hee, F. (1985). Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerances and susceptibility. In: *Weed physiology Vol. II. Herbicide physiology.* (S. O. Duke, ed.), pp. 191-214. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
 9. Davenport, H. E. (1963). The mechanism of cyclic phosphorylation by illuminated chloroplasts. *Proc. Roy. Soc. B.* **157**: 332-345.
 10. Dodge, A. D. (1971). The mode of action of the bipyridilium herbicides, paraquat and diquat. *Endeavour.* **30**: 130-135.
 11. Dodge, A. D. (1989). Herbicides interacting with photosystem I. In: *Herbicides and plant metabolism*(A. D. Dodge, ed.), pp. 37-50. Cambridge University Press. Cambridge.
 12. Duke, S. O. (1990). Overview of herbicide mechanisms of action. *Environmental Health Perspectives.* **87**: 263-271.
 13. Farrington, J. A., Ebert, M., Land, E. J. and Fletcher, K. (1973). Bipyridinium quaternary salts and related compounds. V. Pulse radiolysis studies of the reaction of paraquat radical with oxygen. Implications for the mode of action of bipyridilium herbicides. *Biochem. Biophys. Acta.* **314**: 327-381.
 14. Faulkner, J. S. (1974). Heritability of paraquat tolerance in *Lolium perenne* L. *Euphytica.* **23**: 281-288.
 15. Foyer, H. C. and Halliwell, B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role ascorbic acid metabolism. *Planta.* **133**: 21-29.
 16. Fuerst, E. P., Nakatani, H. Y., Dodge, A. D., Penner, D. and Arntzen, C. J. (1985). Paraquat resistance in *Conyza*. *Plant Physiol.* **77**: 984-989.
 17. Fuerst, E. P. and Vaughn, K. C. (1990). Mechanisms of paraquat resistance. *Weed Technology.* **4**: 150-156.
 18. Fuerst, E. P. and Norman, M. A. (1991). Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Sci.* **39**: 458-464.
 19. Funderburk, H. H. and Bozarth, G. A. (1967). Review of the metabolism and decomposition of diquat and paraquat. *J. Agric. Food Chem.* **15**: 536-567.
 20. Furusawa, I., Tanaka, K., Thanutong, P., Mizuguchi, A., Yazaki, M. and Asada, K. (1984). Paraquat resistant tobacco callus with enhanced superoxide dismutase activity. *Plant Cell Physiol.* **25**: 1247-1254.
 21. Gressel, J. (1985). Herbicide tolerance and resistance: alteration of site of activity. In: *Weed physiology. Vol. II. Herbicide physiology.* (S. O. Duke, ed.), pp. 159-190. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
 22. Gressel, J. (1986). Modes and Genetics of herbicide resistance in plants. *Pesticide resistance: Strategies and tactics for management.* National Academy Press. Washington, D. C.
 23. Gressel, J. (1990). Need herbicide resistance have evolved? Generalizations from around the world. *Proc. of the 9th Australian Weeds Conf.* 173-184.
 24. Hance, R. J. (1988). Adsorption and bioavailability. In: *Environmental Chemistry of herbi-*

- cides (R. Grover, ed.). Vol. I. pp. 1–19. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
25. Harbour, J. R. and Bolton, J. R. (1975). Superoxide formation in spinach chloroplasts: electron spin resonance detection by spin trapping. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **64**: 803–807.
 26. Hardy, R. W. F. (1986). Biotechnology in pesticide resistance development. Pesticide resistance: Strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington, D. C.
 27. Harper, D. B. and Harvey, B. M. R. (1978). Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass. II. Role of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase. *Plant, Cell and Environment*. **1**: 211–215.
 28. Harris, N. and Dodge, A. D. (1972). The effect of paraquat on flax cotyledon leaves: changes in fine structure. *planta*. **104**: 201–209.
 29. Harris, N. and Didge, A. D. (1972). The effect of paraquat on flax cotyledon leaves: physiological and biochemical changes. *Planta*. **104**: 210–219.
 30. Hart, J. J. and DiTomaso, J. M. (1994). Sequestration and oxygen radical detoxification as mechanisms of paraquat resistance. *Weed Sci.* **42**: 277–284.
 31. Hart, J. J., DiTomaso, J. M. and Kochian, L. V. (1993). Characterization of paraquat in protoplasts from Maize (*Zea mays* L.) suspension cells. *Plant physiol.* **103**: 963–969.
 32. Hart, J. J., DiTomaso, J. M., Linscott, D. L. and Kochian, L. V. (1992). Characterization of the transport and cellular compartmentation of paraquat in roots of intact maize seedlings. *Pestic. Biochem. Physiol.* **42**: 212–222.
 33. Hart, J. J., DiTomaso, J. M., Linscott, D. L. and Kochian, L. V. (1992). Transport interactions between paraquat and polyamines in roots of intact maize seedlings. *Plant Physiol.* **99**: 1400–1405.
 34. Hart, J. J., DiTomaso, J. M., Dean, L. Linscott, and Kochian, L. V. (1993). Investigations into the cation specificity and metabolic requirements for paraquat transport in roots of intact maize seedlings. *Pestic. biochem. Physiol.* **45**: 62–71.
 35. Harvey, B. M. R., Muldoon, J. and Harper, D. B. (1978). Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass. I. Uptake, metabolism, and translocation of paraquat. *Plant, Cell and Environment*. **1**: 203–209.
 36. Harvey, B. M. R. and Harper, D. B. (1982). Tolerance to bipyridylum herbicides. p. 215–233. In: *Herbicide resistance in plants* (H. M. LeBaron and J. Gressel, ed.). John Wiley and Sons. New York.
 37. Hassall, K. A. (1990). Quaternary ammonium compounds. In: *The biochemistry and uses of pesticides*. pp. 384–389. Macmillan. London.
 38. Horsman, D. A., Roberts, T. M. and Bradshaw, A. D. (1978). Evolution of sulfur dioxide tolerance in perennial ryegrass. *Nature*. **276**: 493–494.
 39. Iler, S. E., Swanton, C. J. and Pauls, K. P. (1993). In vitro selection of imazethapyrtolerant tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Weed Sci.* **41**: 12–17.
 40. Itoh, K. (1988). Paraquat resistance in *Erigeron philadelphicus* L. *Japan Agric. Res. Quart.* **22**: 85–90.
 41. Kato, A. and Okuda, Y. (1983). Paraquat resistance in *Erigeron canadensis*. *Weed Research (Japan)*. **28**: 54–56.
 42. Kim, J. S. and Chun, J. C. (1992). Resistance

- of the medicinal plant Jihwang (*Rehmania glutinosa*) on paraquat. Korean J. Weed Sci. **12**(4): 374-379.
43. Kim, S. and Hatzios, K. K. (1993). Comparative uptake, translocation, and metabolism of paraquat in tolerant Kwangkyo and susceptible Hood soybean. Plant Biochem. Physiol. **47**: 149-158.
 44. Kim, S. and Hatzios, K. K. (1993). Differential response of two soybean cultivars to paraquat. Z. Naturforsch. **48c**: 379-384.
 45. Lawlor, D. W. (1987). Photosynthesis: metabolism, control, and physiology. John Wiley & Sons. New York.
 46. Lebaron, H. M. and Gressel, J. (1982). Herbicide resistance in plants. John Wiley & Sons. New York.
 47. Lehoczki, E. and Szigeti, Z. (1988). Characterization of paraquat-resistant *Conyza* leaves through delayed fluorescence. In: Applications of chlorophyll fluorescence (H. K. Lichtenthaler, ed.). pp. 115-120. Kluwer Academic Publ. Dordrecht.
 48. Mees, G. C. (1960). Experiments on the herbicidal action of 1,1'-ethylene-2,2'-bipyridilium dibromide. Ann. Appl. Biol. **48**: 601-612.
 49. Nakano Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. **22**: 867-880.
 50. Norman, M. A., Fuerst, E. P., Smeda, R. J. and Vaughn, K. C. (1993). Evaluation of paraquat resistance mechanisms in *Conyza*. Pestic. Biochem. Physiol. **46**: 236-249.
 51. Pistocci, R., Bagni, N. and Creus, J. A. (1987). Polyamine uptake in carrot cell culture.
 52. Polos, E., Mikulas, J., Szigeti, Z., Matkovics, B., Hai, D. Q., Parducz, A. and Lehoczki, E. (1988). Paraquat and atrazine cotolerance in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. Pestic. Biochem. Physiol. **30**: 142-154.
 53. Powles, S. B. and Cornic, G. (1987). Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glaucum*. I. Studies with isolate organelles and enzymes. Aust. J. Plant Physiol. **14**: 81-89.
 54. Putwain, P. D. (1990). The resistance of plants to herbicides. In: Weed control handbook: principles (R. J. Hance and K. Holly, ed.). pp. 217-242.
 55. Shaaltiel, Y., Chua, N. H., Gepstein, S. and Gressel, J. (1988). Dominant pleiotropy controls enzymes co-segregating with paraquat resistance in *Conyza bonariensis*. Theor. Appl. Genet. **75**: 850-856.
 56. Shaaltiel, Y., Glazer, A., Baicion, P. F. and Gressel, J. (1988). Cross tolerance to herbicidal and environmental oxidants of plant biotypes tolerant to paraquat, sulfur dioxide, and ozone. Pestic. Biochem. Physiol. **31**: 13-23.
 57. Shaaltiel, Y. and Gressel, J. (1986). Multienzyme oxygen radical detoxifying system correlated with paraquat resistance in *Conyza bonariensis*. Pestic. Biochem. Physiol. **26**: 22-28.
 58. Shaaltiel, Y. and Gressel, J. (1987). Kinetic analysis of resistance to paraquat in *Conyza*. Plant Physiol. **85**: 869-871.
 59. Slade, P. (1966). The fate of paraquat applied to plants. Weed Res. **6**: 158-167.
 60. Summers, L. A. (1980). The bipyridinium herbicides. Academic Press. London.
 61. Szigeti, Z., Polos, E. and Lehoczki, E. (1988). Fluorescence properties of paraquat resistant

- Conyza* leaves. In: Applications of chlorophyll fluorescence (H. K. Lichtenthaler, ed.). pp. 109–114. Kluwer Academic Publ. Dordrecht.
62. Tanaka, Y., Chisaka, H. and Saka, H. (1986). Movement of paraquat in resistant and susceptible biotypes of *Erigeron philadelphicus* and *E. canadensis*. *Physiol. Plant.* **66**: 605–608.
63. Thill, D. C., Mallory, C. A., Saari, L. L., Cotterman, J. C. and Primiani, M. M. (1989). Sulfonylurea resistance - Mechanism of resistance and cross resistance. *Abstr. Weed Sci. Soci. Am.* **29**: 132.
64. Vaughn, K. C. and Fuerst, E. P. (1985). Structural and physiological studies of paraquat-resistant *Conyza*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **24**: 86–94.
65. Vaughn, K. C., Vaughan, M. A. and Camilleri, P. (1989). Lack of cross resistance of paraquat-resistant *Conyza* to other toxic oxygen generation indicates enzymatic protection is not the resistance mechanism, *Weed Sci.* **37**: 5–11.
66. Watanabe, Y., Honma, T., Ito, K. and Miyahara, M. (1982). Paraquat resistance in *Erigeron philadelphicus* L. *Weed Research (Japan)*. **27**: 49–53.
67. Zweig, G., Shavit, N. and Avron, M. (1965). Diquat in photoreactions of isolated chloroplasts. *biochem. Biophys. Acta.* **109**: 332–346.