

새로운 백화형 디페닐에테르계 화합물 KC-6361의 제초작용기작

김진석 · 김태준 · 김영섭 · 조광연*

Mode of Action of the New Diphenyl Ether Herbicide KC6361

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

ABSTRACT

This study was conducted to characterize herbicidal activity of the new type diphenylether compounds inducing bleaching (whitening) in relation to their chemical structures and to find out the herbicidal action mechanism. Bleaching was highly appeared in the compounds which have short chain alkyl or allyl group of cabamoyl type in *meta* position of A ring and nitro group in *para* position of B ring, and KC6361 showed the highest efficacy among these derivatives. Rice was tolerant to KC6361 at 2.0kg/ha. The applications of this compound at 0.25~1.0kg/ha provided acceptable control of the various weeds including large crabgrass, barnyardgrass, pigweed and so on.

In the dark condition, KC6361 decreased carotenoid contents but increased chlorophyll in etiolated cucumber cotyledon. By the increase of light intensity, the carotenoid biosynthesis was more inhibited than the chlorophyll biosynthesis. The incorporation of C¹⁴-acetate into lipid was slightly inhibited. Both KC6361 and norflurazon stimulated growth of dwarf rice (cv. Daneunbanju). These results suggest that both KC6361 and norflurazon may have the same action sites. To confirm this hypothesis, the changes of carotenoid intermediates in cucumber cotyledon and barnyardgrass leaf treated with KC6361 were investigated. Phytoene and phytofluene were increased but β -carotene was decreased, indicating that KC6361 inhibited phytoene and/or phytofluene dehydrogenase like norflurazon.

Key words : Bleaching herbicide, Diphenylether compound, Action mechanism. Carotenoids, Chlorophyll, Norflurazon.

서 언

디페닐에테르계 제초제들은 치환체가 어디에 결합되어 있는냐에 따라 상당한 작용상의 변화가 온다. B환의 para 위치에 NO₂기가 있고 A환의 ortho나 para 위치에 Cl 또는 CF₃ 등의 치환체

를 갖는 화합물 (nitrofen, oxyfluorfen 등)은 porphyrin의 축적을 야기시키고^{12,13,14,18,28} 작용발현에 광을 요구하지만, B환의 para 위치에 NO₂기가 있으면서 A환의 meta 위치에 methyl기가 치환된 TOPE는 작용발현에 광을 요구하지 않고 핵산대사에 이상을 초래시킨다⁹). 한편 다른 제초유형으로 분류되지만 구조상 디페닐에테르계

* 한국화학연구소 (Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 9, Daedeogdanji, Daejeon 305-606, Korea) <1994. 4. 12 접수>

와 비슷한 dichlofop-methyl과 chloroxuron은 para 위치의 NO₂ 대신에 oxypropionoc acid 또는 dimethylurea가 치환되어 각각 acetyl-CoA carboxylase (ACCase)¹⁰⁾와 광합성을 저해하는²⁴⁾ 것으로 알려져 있다.

이와같이 모해에 여러 작용기가 치환됨으로써 서로 다른 제초작용을 발현하는 특성을 보이므로 조 등⁴⁾은 새로운 디페닐에테르계로서 약 200여종의 화합물을 합성하게 되었는데 이들의 제초활성을 검정하던 중 기존 디페닐에테르계에서 보였던 증상(회백색 고사)과는 달리 식물체의 백화를 유도시키는 화합물들이 발견되었다. 제초제 처리에 의해 식물의 백화가 일어나는 원인은 이들 제초제가 식물체내 carotenoid 함량을 저하시키기 때문으로 알려지고 있다. carotenoid는 식물체 내에서 광합성의 보조역할을 하며 자연적으로 발생하는 활성산소를 소거시켜 엽록소의 광산화를 방지하는 역할을 하기 때문에²²⁾ carotenoid 함량이 낮아지면 엽록소의 광산화로 인해 식물이 하얗게 되고 결국 죽음에 이르게 된다.

그런데 백화를 일으키는 이들 다양한 구조의 제초제들은 모두 동일한 작용점을 가지고 있지는 않다. 지금까지 보고되고 있는 작용점으로 가장 보편적인 것은 phytoene dehydrogenase이며 그 외에 prenyl transferase, ζ -carotene desaturase, lycopene cyclase 등이 알려지고 있다²⁰⁾. 한편

carotenoid 생합성에는 직접적으로 작용하지는 않지만 Ubiquinone 생합성 과정의 Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase를 억제함으로써 간접적으로 carotenoid 함량을 저하시키는 화합물이 최근에 소개되었다²¹⁾.

본 연구에서는 조 등이 합성한 백화유기 화합물이⁴⁾ 동일 증상의 기존 제초제들과는 다른 구조를 가짐으로 이들 구조와 활성간의 특징을 파악하고 식물체에서의 작용점이 어디인지를 규명하고자 제반실험을 수행하였다.

재료 및 방법

공시화합물인 KC6361 유도체들은 본 연구실에서 합성하였으며 대조약제로서 norflurazon(a.i. 80.3%), sethoxydim(a.i. 97%)을 이용하였다. 식물재료로서는 KC6361 유도체들의 제초활성을 평가하기 위하여 표 1과 같은 초종을 사용하였고, 엽록소 생합성과정 실험에서는 오이 (*Cucumis sativus* L.) 자엽을, carotenoid 생합성과정 실험에서는 오이 자엽과 KC6361에 더욱 민감했던 식용피 (*Echinochloa crus-galli* var. *frumentacea* Wight)를, 지방산 생합성 실험에서는 옥수수 (*Zea mays* L.) 엽절편을, 생장에 미치는 효과를 조사하기 위해서는 왜성벼 (*Oryza sativa* L. cv. Daneunbangju)를 이용하

Table 1. Crop and weed species used for herbicidal activity of KC6361.

Abbreviation	Scientific name	Korean name	English name
ZEAMX	<i>Zea mays</i> L.	옥수수	Corn
DACGL	<i>Dactylis glomerata</i> L.	오리새	Orchard grass
AMAVI	<i>Amaranthus viridis</i> L.	비름	Pigweed
DIGSA	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	바랭이	Large crabgrass
AESIN	<i>Aeschynomene indica</i> L.	자귀풀	Indian jointvetch
ORYSA	<i>Oryza sativa</i> L.	벼	Rice
ECHCR	<i>Echinochloa crus-galli</i> P. Beauv.	돌피	Barnyardgrass
CYPDI	<i>Cyperus difformis</i> L.	알방동사니	Umbrellaplant
ANEKE	<i>Aneilema keisak</i> Hassk.	사마귀풀	Dayflower
ELUIN	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn	왕바랭이	Goosegrass
CYPIR	<i>Cyperus iria</i> L.	참방동사니	Rice flatsedge
POLHY	<i>Polygonum hydropiper</i> L.	여뀌	Smartweed
TRFRE	<i>Trifolium repens</i> L.	토끼풀	Clover
LYPES	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	토마토	Tomato
GLXMA	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	콩	Soybean

었다. 기타 실험내용 및 방법은 다음과 같다.

1. 제조활성

살균된 사질양토 (pH 6.1, O.M. 1.0%, clay 21% : silt 17% : sand 52%)에 원예용 복비 (N : P : K=11 : 10 : 11)를 푼트당 2g 혼합시킨 다음 시험용 푼트(350cm²)에 담고 파종구를 만든 다음 시험용 잡초 또는 작물종자를 파종하고(표 1) 곱게 친 흙으로 복토한 후 온실에 두었다. 시험 화합물을 칭량하여 acetone에 녹인 다음 Tween-20이 첨가된 물에 각각 1 : 1이 되도록 희석하여 푼트당 14ml 살포하였다(acetone 및 Tween-20 최종농도는 각각 50%, 0.1%). 이때 발아전 토양 처리는 파종후 1일째, 발아후 경엽처리는 파종후 10일째에 살포하였다. 약제를 처리한 후 온실내에서(주간 30-35°C, 야간 20-25°C) 2주 키운 다음 이들의 제조효과를 형태, 생리학적 관찰근거에 의해 달관조사하고 무방제의 경우를 0, 완전 방제의 경우를 100으로 하였다.

2. 색소함량 변화 조사

1) 엽록소 및 carotenoid의 함량 : 암조건(25°C)에서 5일간 생육된 오이 자엽을 약한 녹색광하에서 취하여 0.01, 0.1, 1.0mM의 KC6361 용액에 치상한 다음 14시간 암조건에 두었다. 이어 5.5와 96.8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR 광도하에 녹화시키면서 시간별로 시료를 취하여 methanol로 색소를 추출하여 Lichtenthaler 방법¹⁵⁾으로 정량하였다.

2) Carotenoids의 성분 : Potassium phosphate buffer (pH 6.0)로 조제된 시험용액을(norflurazon 50 μM , oxyfluorfen 100 μM , KC6361 1mM, TOPE 1mM) 직경 9cm Petri dish에 5ml씩 분주하고 25°C 암조건에서 5일간 키운 오이 자엽을 40쌍씩 치상하여 25°C 암조건에 1.5일 두었다. 그 후 시료 1.4g을 methanol 15ml로 균질화시킨 다음 13000rpm 속도로 15분 원심분리하였다. 상정액 5ml에 n-hexane 5ml를 넣어 층분리한 후 carotenoid 성분을 함유한 n-hexane층에 대해 분광분석하였다¹⁶⁾. Phytoene는 287nm에서, phytofluene는 347nm, β -carotene은

453nm에서의 흡광도를 가지고 상대적인 함량을 구하였다.

한편 감수성 초종인 식용피를 가지고 carotenoid 성분변화를 조사하기 위하여 아래와 같이 실험하였다. 숨이 깔린 직경 5.5cm Petri dish에 norflurazon 및 KC6361용액을 10ml 넣고 식용피를 파종한 다음 30°C, 14시간(주간)/25°C, 10시간(야간)조건의 생육상에서 1주일 키운다. 이때 낮동안의 광도는 7.7 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR이었다. 지상부를 일정량씩 취하여 액체질소를 이용, 유발로 같고 9ml 순수 methanol로 색소를 추출한 다음 60% KOH 1ml를 넣어 하루 동안 비누화(saponication)시켰다. n-hexane으로 층분리시킨 후 carotenoid성분을 함유한 n-hexane층에 대해서 흡광스펙트럼 변화를 조사하였다.

3. 지질로의 ¹⁴C-acetate혼입

직경 5.5cm Petri dish에 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)로 희석한 ¹⁴C-acetate (0.1 $\mu\text{Ci/ml}$) 용액을 10ml씩 가하고 여기에 KC6361의 농도가 0~200 μM 이 되도록 조제한 후, 각 Petri dish마다 옥수수 엽절편을 20개씩 3반복을 치상하여 24시간동안 25°C 생육상에 보관하였다. 엽절편은 8일간 온실에서 생육시킨 옥수수의 엽을 직경 4mm cork borer로 절취하여 만들었다. ¹⁴C-acetate 용액에 침착한 엽절편을 증류수로 세척하여 50ml 원심분리관에 넣고 물로 포화시킨 butanol(butylated hydroxy toluene 0.005% 함유)을 4ml씩 첨가하여 5분간 끓여서 lipase를 불활성화시킨 후 마쇄하였다. 이를 10분간 15,000g로 원심분리하여 상등액 1ml를 시험관에 옮긴 다음 40°C 수욕조에서 질소가스로 butanol을 모두 제거하였다. 그 후 chloroform-methanol-water(86 : 14 : 1)를 0.5ml 가하여 추출된 지방성분을 녹이고 그 중 0.2ml만 취하여 scintillation vial에 옮긴 다음 scintillation cocktail 4ml를 첨가하여 liquid scintillation counter (Packard-Tricarb 1500)로 방사선 활성을 측정하였다⁵⁾.

4. 벼 생장에 미치는 효과

단은방주 종자를 30°C에서 3일간 최아시킨 다음 seed-pack growth poach (12.5X 15cm, Northrup King Co.)에 10립씩 치상하고 norflurazon 및 KC6361 용액 (1% acetone, 0.01% Tween-20)을 20ml씩 분주하였다. 이를 KC6361의 경우 30°C 항온 암조건에 7일간, norflurazon의 경우 암조건 (16시간, 30°C/8시간, 25°C)의 생육상에서 8일간 생육시켰다. 그 후 calipers를 이용하여 지상부와 지하부 길이를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. KC6361 유도체의 구조와 제조활성

기존 디페닐에테르계의 제조증상을 살펴보면 작용발현에 광을 요구하는 형의 경우는 처리후 2-3시간째부터 마치 잎이 타는듯이 회갈색을 띠면서 위조 고사하게 되는 반면에 작용발현에 광을 요구하지 않는 형의 경우는 이보다 속도는 늦지만 일부 잎이 고사되면서 생장중지, 분얼부에서의 이상분열, 지체부의 줄기 또는 근부가 팽대되는 특징을 보인다⁹⁾. 이에 반하여 조 등⁴⁾이 디페닐에테르 모핵에 여러 작용기를 치환하여 합성한 약 200여종의 화합물중에는 위에 기술된 증상 이외에 경엽을 백화시키는 화합물이 존재하였다. 따라서 이는 새로운 증상을 유기시키는 디페닐에테르계로 생각되어 이들 증상을 가진 화합물의 구조와 그 활성을 비교하여 본 결과는 표 2와 같다.

B환의 para 위치에 nitro기가 있으면서 A환의 meta 위치에 carbamoyl기로 치환되었을 때 강한 백화증상을 유기시키는 경향이었으며 carbamoyl기가 phenyl 환에 직접 치환되지 않고 사이에 acetyl group이 있어도 거의 비슷한 활성을 가졌다 (KC6334, KC6333). 그러나 A환의 meta 위치에 acetate가 치환되든지 (KC6215), acetylamino기가 치환되거나 (KC6379), 또는 meta 대신에 para 위치에 carbamoyl기가 결합하면 거의 활성이 없는 경향이였다 (KC6397, KC6398).

A환의 meta 위치에 carbamoyl기로 치환되어 있는 경우에도 R1, R2의 치환기에 따라 활성이 변하였다. R1에 수소가 있을 경우, R2가 propenyl로 치환되었을 때 가장 활성이 있었고 (KC6422), 이보다 사슬이 길거나 (KC6421) KC6427처럼 방향족이 치환될 경우 거의 활성이 없었다. R1, R2가 각각 methyl로 치환되어 있을 때는 어느 정도 활성이 있었다 (KC6439). 한편 R1이 ethyl group으로 치환되어 있을 경우, 보다 높은 활성을 가지는 화합물들이 많았으며 이들 중 R2가 ethyl (KC6361), propyl (KC6420), 2-hydroxyethyl (KC6414), chloroacetyloxyethyl (K6445) 또는 ethylthiocarbonyloxyethyl이 치환되었을 때 (KC6444) 양호한 활성을 보이는 경향이였다. 그러나 R1, R2가 이보다 긴 사슬을 가지거나 R1, R2사이가 고리화 되었을 때는 활성이 거의 없었다.

이상의 결과로 볼 때 백화를 유기시키기에 비교적 적당한 구조는 B환의 para 위치에 nitro기가 있고 A환의 meta 위치에 탄소수가 3개 이하의 alkyl 또는 allyl기를 가지는 carbamoyl이 치환되는 것이였다.

이러한 특성을 가지는 화합물중 가장 효력이 좋았던 KC6361과 KC6422의 제조활성을 옥수수 의 11종을 대상으로 온실조건에서 검토하여 보았다 (표 3). 그 결과 옥수수, 콩, 벼 등은 2kg/ha 수준에서 미약한 약해를 보여 비교적 좋은 선택성을 가졌고 바랭이, 피, 참방동사니, 비름 등은 0.25~0.5kg/ha에서 기타는 0.5~1.0kg/ha에서 거의 방제되는 경향이였다.

2. 작용기작

자연상태에서는 유묘의 백화, 잎의 백색반점, 꽃잎의 백화 등 주로 유전적 요인에 의해서 발현되는 백화증상 (albinism)이 관찰된다. 이와같은 백화증상은 제조제처리에 의해서도 유기될 수 있는 바 그 가능한 원인을 보면 다음과 같이 나눌 수 있을 것이다.

첫째, Pyrazolate 유도체 처리에 의해서 나타나는 바와 같이 엽록소 생합성과정을 억제하여⁸⁾ 엽록소를 형성치 못하게 하는 경우이다.

Table 2. Structure and activity of newly synthesized diphenylether compounds inducing whitening symptom.

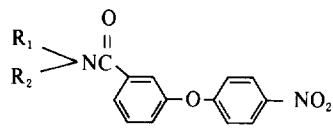
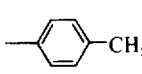
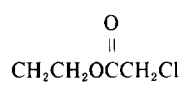
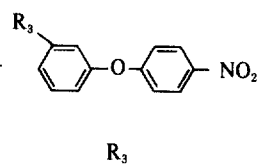
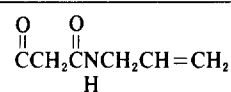
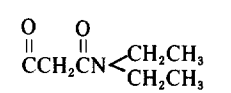
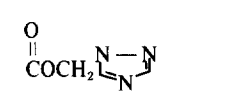
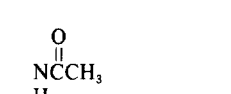
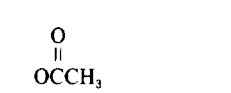
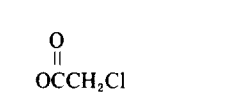
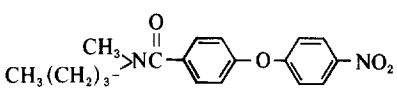
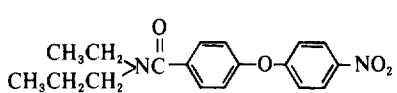
 R1 R2			Herbicidal activity (4kg/ha) ^{a1}										KC-code
			Z	D	A	D	A	O	E	C	A		
H	CH ₂ CH=CH ₂	PE ^{b1} PO	30	15	100	100	10	10	100	95	80	6422	
			10	0	100	30	30	0	0	0	10		
H	CH ₂ CH ₂ C≡N	PE PO	0	0	100	40	20	0	0	0	0	6461	
			30	10	90	10	10	0	10	20	10		
H	-(CH ₂) ₃ -CH ₃	PE PO	0	0	0	50	10	10	60	40	10	6421	
			20	0	95	30	20	10	0	0	10		
H	CHCH ₂ CH ₃ CH ₃	PE PO	0	0	30	70	10	0	40	45	15	6424	
			20	0	90	20	30	0	0	0	10		
H		PE PO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6427	
			10	0	0	0	0	0	0	0	0		
CH ₃	CH ₃	PE PO	0	30	100	70	0	0	90	80	20	6439	
			10	20	90	15	10	0	10	10	10		
CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	PE PO	40	35	100	95	60	0	80	80	80	6361	
			20	10	100	90	60	0	0	50	80		
CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	PE PO	0	5	100	100	0	10	90	95	100	6414	
			0	0	100	25	20	0	0	60	0		
CH ₂ CH ₃		PE PO	0	30	100	100	0	90	100	100	85	6445	
			15	10	30	20	10	20	5	40	0		

Table 2. Continued.

 R_3	Herbicidal activity (4kg/ha) ^{a)}									KC-code	
	Z	D	A	D	A	O	E	C	A		
	E	A	M	I	E	R	C	Y	N		
	A	C	A	G	S	Y	H	P	E		
	M	G	V	S	I	S	O	D	K		
	X	L	I	A	N	A	R	I	E		
 H	PE	10	10	100	85	10	10	80	100	30	6334
	PO	40	10	100	10	60	5	10	20	70	
	PE	30	90	95	95	30	0	80	80	80	6333
	PO	30	30	100	60	60	5	10	10	30	
	PE	10	0	0	10	0	0	10	0	0	6440
	PO	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
 H	PE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6379
	PO	10	0	0	0	0	0	0	0	0	
	PE	0	10	0	10	0	5	0	0	0	6215
	PO	10	10	100	10	10	0	0	0	0	
	PE	10	0	0	0	0	0	0	0	0	6214
	PO	0	0	100	15	5	0	0	0	0	
	PE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6397
	PO	10	0	35	10	20	0	0	0	0	
	PE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6398
	PO	10	10	30	0	0	0	0	0	0	

^{a)} Determined at 2 weeks after soil surface-treatment (0=no control, 100=complete control).

^{b)} PE : Pre-emergence, soil surface-treatment 1 day after sowing. PO : Post-emergence, foliar-treatment 10 days after sowing.

Table 3. Herbicidal efficacy^{a)} of KC6361 and KC6422 in greenhouse.

Chemical	Rate (kg/ha)	Z	D	E	O	E	C	A	P	A	T	L	G
		E	I	L	R	C	Y	M	O	N	R	Y	L
		A	G	U	Y	H	P	A	L	E	F	P	X
		M	S	I	S	O	I	V	H	K	R	E	M
		X	A	N	A	R	R	I	Y	E	E	S	X
<chem>CC(C)C(=O)Nc1ccc(Oc2ccc([N+](=O)[O-])cc2)cc1</chem> KC 6361	0.25	0	60	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0
	0.50	0	100	0	0	0	100	70	50	0	0	0	0
	1.0	0	100	60	0	30	100	70	60	15	60	70	0
	2.0	10	100	70	0	80	100	100	100	70	90	70	20
	4.0	20	100	80	10	100	100	100	100	90	100	100	20
<chem>C=CC(=O)Nc1ccc(Oc2ccc([N+](=O)[O-])cc2)cc1</chem> KC 6422	0.25	0	45	0	0	15	-	40	0	0	0	0	0
	0.50	0	90	0	10	50	70	50	0	10	0	10	0
	1.0	0	100	0	10	60	80	100	20	25	20	15	10
	2.0	0	100	0	15	90	100	100	60	90	60	80	10
	4.0	10	100	40	30	100	100	100	100	90	70	100	10

^{a)} Determined at 2 weeks after soil surface-treatment (0=no control, 100=complete control).

둘째, 엽록체에서 생합성되는 carotenoid성분은 엽록체에서 자연적으로 발생하는 활성산소를 제거시킴으로써 엽록체가 정상적인 기능을 할 수 있도록 하는 역할을 갖고 있는 것으로 알려져 있다²²⁾. 이의 형성을 억제함으로써 제거되지 못한 활성산소가 엽록소를 파괴시키는 경우인데 백화를 유지시키는 대부분의 제초제 예를 들면 norflurazon, clomazone, fluridone 등이 이에 속한다^{2,6,17,19)}.

셋째, 엽록체막의 구성성분인 지방산의 생합성을 저해함으로써 정상적인 막형성이 이루어지지 않아 백화되는 경우로서 실제로 지방산 생합성 저해제로 알려진 cyclohexandione계, penyloxypropionic acid 유도체들을 처리하면 저농도에서 발견된다.

넷째, 기존 제초제 중에서는 보고된 바 없지만 색소형성에 직, 간접적으로 관여되는 유전자 수준에 영향을 미침으로써 백화를 유지시키는 경우이다.

KC6361 처리에 의해 유지되는 백화도 위의 원인들중의 하나에 속할 것으로 예상되므로 이의 작용기작을 설명하기 위해서는 이들과의 관련여부를 검토하는 것이 바람직한 접근방법일 것이다.

1) 색소대사: 먼저 색소대사에 미치는 KC6361의 영향을 조사하였다. Thylakoid 막에 혼입되

어 있는 carotenoid는 여기된 엽록소(³chl*) 및 singlet oxygen을 제거시켜 막파괴를 방지하는 역할을 가진다²²⁾. 이의 형성이 억제되었을 때에는 명조조건에서 엽록소 파괴가 쉽게 일어나며 그 정도는 광도가 높을수록 현저하므로 높은 광도하에서는 엽록소와 carotenoid 생합성 과정중 어느 과정이 저해받았는지 구별하기 어렵게 된다. 따라서 이의 구별을 위해서는 광산화가 일어나지 않을 정도의 낮은 광도하에서 녹화실험이 수행되어야 한다. 이와같은 근거하에 KC6361이 엽록소와 carotenoid생합성 과정중에서 어느 과정과 더욱 관련이 있는지를 알아보기 위하여 저광도(5.5 μmol m⁻²s⁻¹PAR)와 고광도(96.8 μmol m⁻²s⁻¹PAR)하에서 오이 자엽의 녹화에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 KC6361 용액에 치상하여 14시간 암조건에 두었을 경우 carotenoid 함량은 무처리에 비해 0.01, 0.1, 1mM에서 각각 2, 14, 12% 억제되었으나 엽록소함량은 오히려 51, 87, 109% 증가된 경향이였다. 이후 광조사됨에 따라 두 색소 모두 감소되었으며 그 정도는 고광도에서 현저하였다. 광조사 24시간째에 있어서는 엽록소와 carotenoid함량의 감소정도가 고광도의 경우 0.01, 0.1, 1mM에서 각각 20, 75, 85% 내외로서 서로 비슷하였으나 저광도에서는 엽록소보다 carotenoid의 감소정도가 더욱 높았다(그림 1). 이는 KC6361이 엽록소보다는

carotenoids 대사와 더욱 관련이 있음을 의미한다.

한편 예비실험에서 carotenoid생합성 저해제의 생리현상을 검토하던중 norflurazon을 처리하면 암조건에서 벼의 생장이 촉진됨을 발견하였다. 따라서 KC6361처리에서도 이와같은 현상이 관찰되는지를 알아보고자 단은방주 생장에 미치는 효과를 조사하였다. Norflurazon처리의 경우 0.1

~1.6 μ M까지 지하부생장이 촉진되었고 지상부는 1.6 μ M 이상부터 현저히 증가되었다(그림 2). 이는 norflurazon처리시 GGPP가 축적되어 GA합성이 증가되었거나^{25,26,27}, 또는 carotenoid형성이 억제되어 xanthophyll를 통한 ABA합성이 감소되었기 때문으로 추정된다²³. KC6361도 norflurazon보다는 신장정도가 높지는 않았으나 지하부의 경우 0.125 μ M~0.5 μ M에서, 지상부는

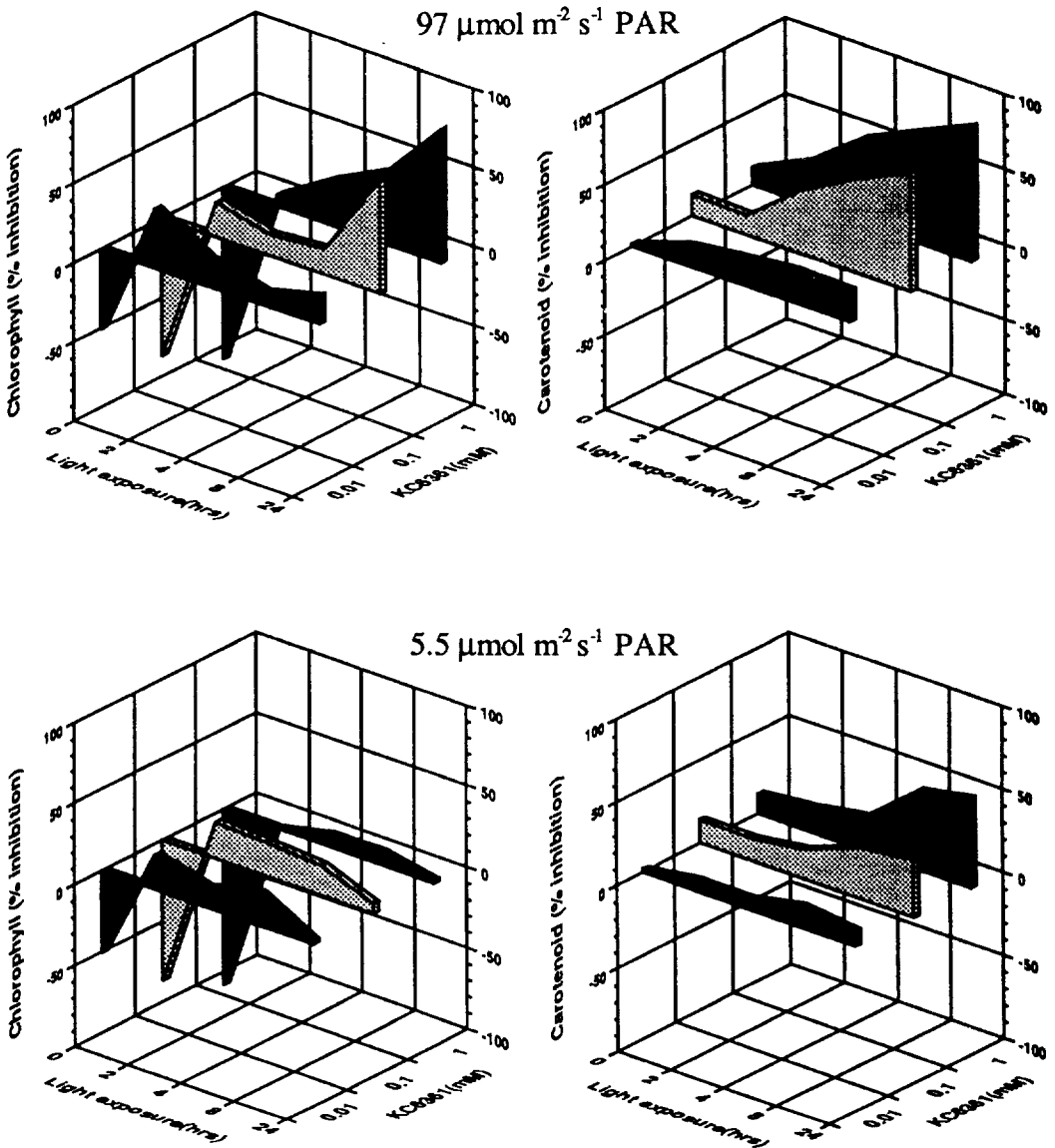


Fig. 1. Effect of KC6361 on the chlorophyll and carotenoid biosynthesis of etiolated cucumber cotyledon in low or high light intensity.

0.125 μ M 이상부터 무처리보다 증가되는 경향이 있었다(그림 2). 이는 KC6361이 norflurazon처럼 carotenoid 생합성과정에 작용함을 시사해 주는 좋은 증거라고 생각된다.

2) 지질로의 C¹⁴-acetate 혼입 : 한편 다른 한 가정으로서 지방산 생합성 저해여부를 검토하고자 옥수수 엽절편을 이용하여 C¹⁴-acetate의 지질 성분으로의 혼입 저해여부를 지방산 생합성 저해제인 sethoxydim을 대조약제로 하여 실험한 결과, sethoxydim은 0.1, 1, 10, 100 μ M에서 11, 39, 41, 55% 저해되었고 KC6361은 2, 20, 200 μ M에서 각각 3, 13, 45% 저해되었다(표 4). Burton 등³⁾에 의하면 옥수수로부터 추출한 정상 엽록체에 sethoxydim을 처리하였을 때 C¹⁴-acetate 혼입저해율이 1, 10, 100 μ M에서 각각 5, 30, 85%로서 처리농도에 따라서 급격한 반응을 보인다. 그러나 본 결과에서는 처리농도에 따른 반응차이가 완만하였는데 이러한 차이는 Burton의 경우 정상 엽록체로부터 전체 지방성분을 추출한 후 비극성 지방산만 분리하여 측정하였고 본 실험의 경우에는 엽절편으로부터 전체 지방성분을 추출하여 그 중에 존재하는 C¹⁴-acetate를 측정하였기 때문으로 생각된다. 엽절편을 이용하였을 때 지방산 생합성에 일차작용점이 있는 sethoxydim은 본 결과에서처럼 처리농도에 따라 혼입저해율의 변화가 완만하다는 특징을 가졌다. 그러나 KC6361은 높은 농도에서는 동일한 저해정도를 가지나 농도가 낮아짐에 따라 저해정도가 현저히 감소하여 다른 양상을 보였다. 또한 KC6361은 전식물체에 처리하였을 때 백화증상 이외에 지방산 생합성 저해제에서 나타나는 생육정지, 변색, 세포괴사 등의 모습이 보이지 않는다. 한편 기존 제초제로서 KC6361과 동일한 증상을 가지는 norflurazon은 carotenoid 생합성 외에 지방산 생합성도 일부 저해하는 것으로 보고되고 있다. 이러한 결과들로 미루어 볼 때 KC6361은 지방산 생합성을 저해하기는 하나 이 과정이 제초작용의 일차적인 유일한 작용점은 아닌 것으로 판단된다.

3) Carotenoid 성분함량 변화 : 이상의 실험결과들을 검토하여 볼 때 KC6361의 제초활성은 carotenoid 생합성 저해를 통해서 발현되는 것으

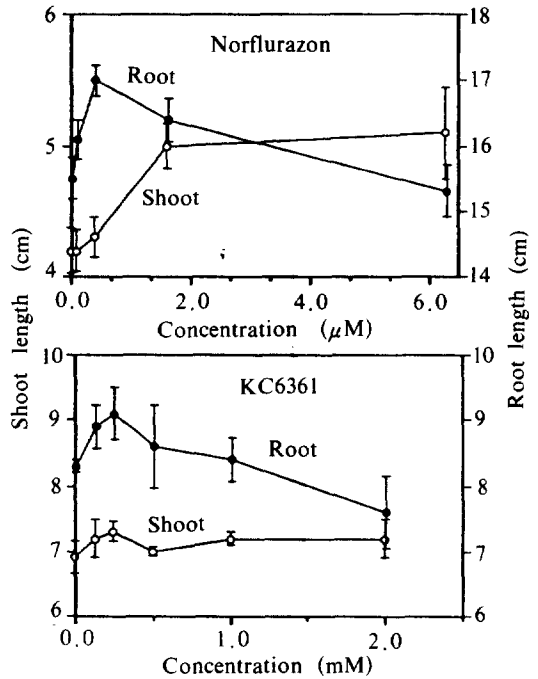


Fig. 2. Effect of norflurazon and KC6361 on the growth of dwarf rice(cv. Daneunbangju) at dim light condition. Vertical bars are standard deviations.

로 생각되었기 때문에 carotenoid 생합성 과정에서 어느 단계가 저해되는지 알아보려고 오이 자엽에 KC6361을 처리한 후 생합성 과정의 중간물질 변화를 분석하여 보았다. 표 5에서처럼 β -carotene 함량은 감소되는 대신에 phytoene, phytofluene 함량은 각각 29.5, 85.2% 증가하여 norflurazon처리와 유사한 경향을 보였다. Norflurazon은 실험조건, 처리농도에 따라 phytoene 또는 phytofluene이 축적되어

Table 4. Effect of KC6361 on the ¹⁴C-acetate incorporation into total lipid of corn leaf disc.

Chemicals	Conc. (μ M)	Incorporated ¹⁴ C-acetate (dpm/leaf disc)	% of control
Control	0	1210.98	100
Sethoxydim	0.1	1083.12	89
	1	737.15	61
	10	716.01	59
	100	549.55	45
KC6361	2	1175.96	97
	20	1050.22	87
	200	668.8	55

phytoene or/and phytofluene dehydrogenase를 억제하는 것으로 보고되고 있다^{1,2,7,15,25}).

이를 더욱 확인하기 위하여 KC6361처리에 민감했던 식용피를 대상으로 carotenoid 성분의 흡수과장을 norflurazon처리와 비교하여 본 결과, 그림 3에서와 같이 두 화합물 모두 carotenoid 성분은(A450) 감소되고 phytoene(A287) 및 phytofluene(A350과 A380)은 축적되어 오이에 처리하였을 때와 같은 결과를 보여 주었다.

따라서 이상의 결과를 종합하여 볼 때 KC6361의 작용점은 norflurazon과 같이 phytoene or/and phytofluene dehydrogenase를 저해하는 것으로 판단된다.

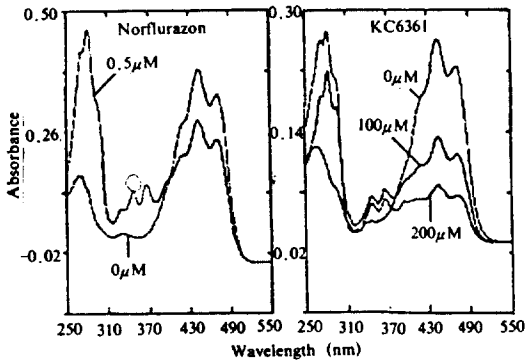


Fig. 3. Absorption spectra of carotenoids extracted from baryardgrass leaf treated with norflurazon and KC6361.

적 요

새로 합성된 KC6361 유도체는 기존 디페닐에테르계 화합물에서 보였던 증상(회백색)과는 달리 식물체의 백화를 유기시킨다. 따라서 이들 화합물의 구조상 특징이 무엇이며 식물체에서 어떠한 작용기작을 갖는지를 알기 위하여 본 실험을 수행하였다.

1) 백화를 유기시키기에 비교적 적당한 구조는 B환의 para 위치에 nitro기가 있고 A환의 meta 위치에 탄소수가 3개 이하의 alkyl 또는 allyl기를 가지는 carbamoyl이 치환되는 것이었다. 벼 등은 2kg/ha 수준에서 미미한 약해를 보여 비교적 좋은 선택성을 가졌고 바랭이, 피, 참방동산이, 비름 등은 0.25~0.5kg/ha에서 기타는 0.5~1.0kg/ha에서 거의 방제되었다.

2) 암조건에서 KC6361은 carotenoid 생성을 억제시켰으나 엽록소는 오히려 촉진시켰다. 명조건의 경우 높은 광도에서는 낮은 광도에서 보다, 엽록소보다는 carotenoid가 더욱 저해되었고 ¹⁴C-acetate의 지방성분으로의 혼입 저해정도는 미약하였다.

3) 단은방주의 생장에 미치는 영향이 norflurazon과 동일한 양상을 보였고, KC6361이 처리된 오이, 식용피에 있어서 carotenoid 성분변화를 볼 때 phytoene 및 phytofluene 함량은 증가된 반면 그 이후의 β-carotene은 감소되어 norflurazon과 같은 경향이었다.

따라서 이상의 결과를 종합하여 볼 때 KC6361의 작용점은 norflurazon과 같이 phytoene or/and phytofluene dehydrogenase를 저해하는 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Bartels, P.G. and C. McCullough. 1972. A new inhibitor of carotenoid synthesis in higher plants: 4-chloro-5-(dimethylamine)-2-(α, α, α-trifluoro-m-tolyl)-3(2H)-pyridazinone(Sandoz 6706). Biochem. Biophys. Res. Commun. 48: 16-22.
- Bartels, P.G. and C.W. Watson. 1978. Inhibition of carotenoid synthesis by fluridone and norflurazon. Weed Sci. 26: 198

Table 5. Changes of phytoene, phytofluene and β-carotene content in cucumber cotyledons treated with KC6361.

Herbicides		Phytoene	Phytofluene		β-Carotene
			% of control		
Norflurazon	0.05mM	127.0	100.0		64.5
KC6361	1.0mM	129.5	185.2		90.3

Carotenoids were extracted with absolute methanol and then separated with n-hexane after saponification.

3. Burton, J.D., J.W. Gronwald, D.A. Somers, B.G. Gengenbach and D.L. Wyse. 1989. Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexandione and aryloxyphenoxy-propionate herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 34 : 76-85.
4. 조광연 · 김영섭 · 김범태 · 민용기 · 전근숙 · 김진석 · 구석진 · 홍경식 · 황인택. 1991. 디페닐에테르 유도체 및 그의 제조방법. 한국물질특허 91-1435(출원번호 88-6135). 대한민국 특허청.
5. Cho, H.Y., J.M. Widholm and F.W. Slife. 1986. Effects of haloxyfop on corn and soybean cell suspension culture. *Weed Sci.* 34 : 496-501.
6. 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.
7. Feierabend, T. and B. Schubert. 1978. Comparative investigation of the action of several chlorosis inducing herbicides on the biosynthesis of chloroplasts and leaf microbodies. *Plant Physiol.* 61 : 1017-1022.
8. Kawakuro, K., M. Shindo and T. Konotsune. 1979. A mechanism of chlorosis caused by 1,3-dimethyl-4-(2,4-dichlorobenzoyl)-5-hydroxypyrazole, a herbicidal compound. *Plant Physiol.* 64 : 1774-1779.
9. Kim, J.S., K.Y. Cho, and J.Y. Pyon. 1991. Action mechanism of TOPE(3-methyl, 4'-nitro-diphenylether), a photo-independent diphenylether herbicide. *Proc. II 13th APWSS Conf.* : 367-377.
10. Kobek, K., M. Focke and H.K. Lichtenthaler. 1988. Fatty acid biosynthesis and acetyl-CoA carboxylase as a target of diclofop, fenoxaprop and other aryloxyphenoxypropionic acid herbicides. *Z. Naturforsch.* 43c : 47-54.
11. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymol.* 148 : 350-382.
12. Lydon, J. and S.O. Duke. 1988. Porphyrin synthesis is required for photobleaching activity of the p-nitrosubstituted diphenyl ether herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 31 : 74-83.
13. Matringe, M. and R. Scalla. 1988. Effects of acifluorfen-methyl on cucumber cotyledons: Protoporphyrin accumulation. *Pestic. Biochem. Physiol.* 32 : 164-172.
14. Matringe, M. and R. Scalla. 1988. Studies on the mode of action of acifluorfenmethyl in nonchlorophyllous soybean cells: accumulation of tetraphyrroles. *Plant Physiol.* 86 : 619-622.
15. Mayer, M.P., D.L. Bartlett, P. Beyer and H. Kleinig. 1989. The in vitro mode of action of bleaching herbicides on the desaturation of 15-cis-phytoene and cis- ζ -carotene in isolated daffodil chromoplasts. *Pestic. Biochem. Physiol.* 34 : 111-117.
16. 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.
17. Sandmann, G. and P. Boger. 1987. Interconversion of prenyl pyrophosphates and subsequent reactions in the presence of FMC 57020. *Z. Naturforsch.* 42c : 803-807.
18. Sandmann, G. and P. Boger. 1988. Accumulation of protoporphyrin IX in the presence of peroxidizing herbicides. *Z. Naturforsch.* 43c : 699-704.
19. Sandmann, G., H. Linden and P. Boger. 1989. Enzyme-kinetic studies on the interaction of norflurazon with phytoene desaturase. *Z. Naturforsch.* 44c : 787-790.

20. Sandmann, G., A. Schmidt, H. Linden and P. Boger. 1991. Phytoene desaturase, the essential target for bleaching herbicides. *Weed Sci.* 39 : 474-479.
21. Schultz, A., O. Ort, P. Beyer and H. Kleinig. 1993. SL-0051, a 2-benzoyl-cyclohexane-1, 3-dione bleaching herbicide is a potent inhibitor of the enzyme p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Letters.* 318 : 162-166.
22. Siefermann-Harms, D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plantarum* 69 : 561-568.
23. Stegink, S.J. and K.C. Vaughn. 1988. Norflurazon (SAN 9789) reduces abscisic acid levels in cotton seedlings : A glandless isolate is more sensitive than its glanded counterpart. *Pestic. Biochem. Physiol.* 31 : 269-275.
24. 竹松哲夫. 1982. 除草劑研究總覽. pp.429-454. 博又社.
25. Wilkinson, R.E.. 1985. Carotenogenic inhibition by norflurazon in wheat. *Pestic. Biochem. Physiol.* 23 : 370-377.
26. Wilkinson, R.E. 1987. 2-Chloro-N, N-di-2-propyleneacetamide reversal of carotenogenic inhibition by low concentrations of norflurazon. *Pestic. Biochem. Physiol.* 29 : 146-151.
27. Wilkinson, R.E. 1989. EPTC-reversed carotenogenic inhibition by norflurazon. *Pestic. Biochem. Physiol.* 33 : 257-263.
28. Witkowski, D.A. and B.P. Halling. 1988. Accumulation of photodynamic tetrapyrroles induced by acifluorfen-methyl. *Plant Physiol.* 87 : 632-637.