

Protoporphyrinogen Oxidase 저해형 제초제에 대한 밀과 보리의 Protoporphyrin IX 축적 및 항산화 방어계 차이*

鞠龍仁** · 具滋玉** · 千相旭**

Difference of Protoporphyrin IX Accumulation and Antioxidative Activity of Wheat and Barley by Protoporphyrinogen Oxidase-Inhibiting Herbicides*

Yong In Kuk**, Ja Ock Guh** and Sang Uk Chon**

ABSTRACT : This experiment was conducted to investigate the protoporphyrin IX (PPIX) accumulation, activity of antioxidative enzymes and contents of antioxidant in tolerant-wheat and susceptible-barley to protoporphyrinogen oxidase(Protox) inhibiting-herbicides [oxyfluorfen (2-chloro-1-(3-ethoxy-nitrophenoxy-4-(trifluoromethyl) benzene, acifluorfen(5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl) phenoxy]-2-nitrobenzoic acid), bifenox(methyl-5-(2,4-dichlorophenoxy) 2-nitrobenzoate), and oxadiazon(5-tert-butyl-3-(2,4-dichloro-5-isopropoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-one)].

The tolerant-wheat and susceptible-barley were soaked in these compounds at 10^{-6} M for 2hrs and exposed to light for 2,4,6 or 8hrs to investigate change of the activity of antioxidative enzymes.

The activities of monodehydroascorbate reductase(MDAR), catalase(CAL) and superoxide dismutase(SOD) were lower in the barley than in the wheat after the treatment of these compounds. The activity of peroxidase(POX) was lower in the barley than in the wheat at 8hrs after the treatment of oxyfluorfen but other compounds showed no difference in activity in wheat and barley. The activity of glutathione reductase(GR) was increased in wheat and barley according as hours of treatment of these compounds became increased but its activity was no difference between wheat and barley.

In the case of the content of vitamin C due to the treatment of these compounds, the wheat decreased less than the barley. After the treatment of oxyfluorfen the content of vitamin E in the wheat was higher than in the barley but other compounds didn't have any difference between wheat and barley. And after the treatment of acifluorfen the content of carotenoid was greater in the wheat than in the barley but other compounds didn't have any difference between wheat and barley. The content of glutathione(GSH, GSSG) was greater in the barley than in the wheat.

The content of protoporphyrin IX (PPIX) accumulation by the treatments of these compounds

* 본 논문은 교수연제 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과임

** 전남대학교 농과대학(College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

<'96. 9. 18 接受>

was more in the barley than in the wheat. Especially, the treatment of oxyfluorfen and acifluorfen were more accumulated 2.3 and 1.3 fold in the barley than in the wheat, respectively.

Key words : Protoporphyrinogen oxidase, Antioxidative enzyme, Antioxidant, Herbicide.

Protoporphyrinogen oxidase(Protox) 저해형 제초제에 대한 작용기작은 Protox의 저해→protoporphyrin IX(PPIX)축적→singlet oxygen의 생성→막의 과산화라고 보고되었다⁴⁾. 이러한 작용기작을 가진 제초제에는 diphenyl ether(DPE)계, oxadiazon, pyrazole phenyl ether계 등이 있다^{1,4,16,25)}. Protox는 엽록소 생합성 과정에서 protoporphyrinogen IX(protoxen IX)을 PPIX으로 산화하는 효소이다⁹⁾. Protox의 저해에 의해 protoxen IX이 PPIX으로 산화되지 못하고 축적이 되며, 축적된 protoxen IX은 색소체의 합성장소로부터 세포질로 이탈되며, 이탈된 protoxen IX은 비효소적인 자동산화에 의해 PPIX으로 축적된다¹⁸⁾. 이렇게 축적된 PPIX은 빛에 의해 여기되면서 산소와 반응하여 singlet oxygen을 생성하고, 이 singlet oxygen이 막을 이루고 있는 불포화 지방산을 산화시켜 지질의 과산화를 유도함으로써 세포막을 파괴하는 것으로 알려져 있다^{9,17)}.

Acifluorfen에 내성인 겨자는 PPIX이 적게 축적되고 반면에 감수성인 어저귀는 많은 양이 축적되어 PPIX 축적량과 제초제 내성과 관련성 있다고 보고하였고, PPIX축적 이외에도 내성차이는 대사, 침투 등에 의해 기인된다고 하였다²⁴⁾.

축적된 PPIX으로부터 광에 의해 발생된 singlet oxygen(1O_2)이 식물체 자체가 갖고 있는 방어기작에 의해 무독화될 수 있는데, 이러한 효소에는 superoxide dismutase²⁰⁾, catalase²⁾, ascorbate peroxidase²¹⁾ 등이 있다. 또한 이와 같은 기능을 갖고 있는 항산화제에는 vitamin C⁵⁾, vitamin E⁵⁾, glutathione²³⁾, carotenoid¹³⁾ 등이 있는 것으로 알려져 있다.

Schmidt와 Kunert²³⁾는 acifluorfen-sodium에 내성 콩품종의 잎에서는 감수성 품종의 경우보다 glutathione reductase의 활성이 높았으며 ascorbate와 glutathione의 함량이 많았다고 보고하였다.

Orr와 Hess²²⁾는 항산화제 vitamin E는 DPE계가 처리된 오이작엽에서 membrane leakage가 억제됨을 발견하였고, DPE계 뿐만 아니라 paraquat 처리 후에 식물에서 지질과산화의 감소는 vitamin C의 항산화작용에 의해 기인된다고 하였다¹²⁾. 또한, 鞠 등¹¹⁾은 oxyfluorfen에 내성인 벼 품종들이 감수성 벼 품종들보다 일부 항산화효소 및 항산화제 함량이 높았다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 Protox 저해형 제초제에 감수성 차이를 보인 밀과 보리에 대하여 PPIX축적, 항산화효소 활성 및 항산화제 함량 차이로 이들의 감수성 차이를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

前報⁷⁾와 동일하게 선발한 oxyfluorfen에 내성을 보인 밀 1품종(은과밀)과 감수성을 보인 보리 1품종(흰쌀보리)를 실험재료로 사용하였다.

2. PPIX 축적량

공시식물은 vermiculite에 파종하고 25℃ 압조건의 생장상에서 7일간 생육시킨 유묘를 채취하여 세척하고 10^{-6} M Protox 저해형 제초제 용액에 2시간 침지처리 후 광($93.1\mu E \cdot m^{-2} \cdot S^{-1}$)에 2시간 노출 후 식물체의 지상부를 채취하여 PPIX 축적량을 측정하였다. PPIX 추출 및 분석은 Duggan과 Gassman³⁾ 방법을 약간 변형시켜 수행하였다¹¹⁾.

3. 항산화효소 활성

공시식물은 생장상에서 10일간 육묘하여 사용하였다. Protox 저해형 제초제를 10^{-6} M로 조제하여 식물체 전체를 2시간 침지처리하고 물로 3회 세척한 후 광조건(상기와 동일)에 2, 4, 6 및 8시간 생육시킨 후에 항산화효소를 분석하였다.

항산화효소 활성은 각 식물체 0.25g을 추출한 총액(0.1mM Na₂ EDTA를 함유한 50mM potassium phosphate buffer pH 7.8) 5ml을 가한 후 마쇄하여 원심분리(8,000g, 15분, 4℃)한 후 상등액을 조효소액으로 하였다. 단백질함량은 micro BCA 방법으로 측정하였고, 표준단백질로 bovine serum albumin을 사용하였다. 각 효소의 활성은 다음과 같이 분석하였다.

Superoxide dismutase(SOD)는 MaCord와 Fridorich²⁰⁾의 방법, catalase(CAL)와 peroxidase(POX)는 Yamasue 등²⁷⁾의 방법, glutathione reductase(GR)은 Smith 등²⁶⁾의 방법, monodehydroascorbate reductase(MDAR)는 Finckh와 Kunert⁵⁾의 방법에 의하여 분석하였다.

4. 항산화제 함량

상기의 실험 3)과 동일하게 처리하여 분석하였다.

1) Vitamin C(Ascorbic acid)

저온에서 각 식물체 0.25g을 5% TCA 4ml로 마쇄한 다음 원심분리(12,000rpm, 20분, 4℃)후 상등액 0.54ml를 취하여 반응액(85% H₃PO₄ 0.16ml, 0.5% dipyridyl 2.74ml, 1% FeCl₃ 0.56ml)에 넣고 30℃에서 55분간 반응시켰다. 이를 525nm에서 흡광도를 측정하여 표준 ascorbic acid로 작성한 정량곡선을 이용하여 정량하였다¹⁴⁾.

2) Vitamin E(α -Tocopherol)

각 식물체 0.25g을 100% ethanol 5ml로 추출하여 원심분리(12,000rpm, 15분, 4℃)하고 상등액에 0.3ml(ascorbic acid 0.3g과 KOH 8g/5ml)를 넣어 50℃에서 한시간 동안 비누화시켰다. 이어 물을 가하고 petroleum ether로 층 분리 후 petroleum ether 층을 질소가스하에서 휘발시켜 제거시키고 ethanol 5~10ml로 녹여 형광분광광도계를 이용하여 Ex 290nm, Em 325nm의 조건으로 형광을 측정한 후⁵⁾ 표준물질로 작성한 α -tocopherol의 정량곡선과 비교하여 정량하였다.

3) Carotenoid

각 식물체 0.5g을 methanol 7ml로 마쇄후 13,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상등액 5ml에 n-hexane 5ml을 넣어 층을 분리시킨 후 carotenoid 성분을 함유하고 있는 n-hexane층에 대하여 분광분석하였다. Phytoene은 287nm에서 phytofluene은 347nm, β -carotene은 453nm에서 상대적인 함량을 구하였다¹⁵⁾.

4) Glutathione(GSH, GSSG)

Hissin 등⁸⁾의 방법과 동일하게 수행하였다.

결과 및 고찰

1. Protox 저해형 제초제 처리에 의한 밀과 보리의 항산화효소 활성 차이

Protox 저해형 제초제를 10⁻⁶M 농도로 2시간 침지처리후 광을 2, 4, 6 및 8시간 조사한 후에 항산화효소의 활성을 조사하였다. Protox 저해형 제초제 처리에 의한 MDAR의 활성은 그림 1과

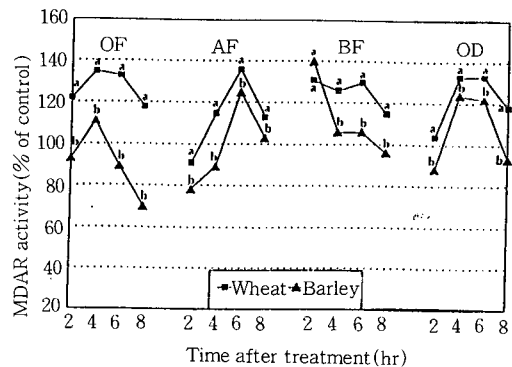


Fig. 1. Effect of protoporpyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on MDA reductase(MDAR) activity in wheat and barley. The herbicides application(1 μ M) were soaked to shoot for 2 hrs and then exposed to light. The MDAR activity of untreated wheat and barley were 0.29 \pm 0.03, and 0.62 \pm 0.07 Δ A /min /mg protein, respectively. The different letter are significantly different using LSD at the 5% level.

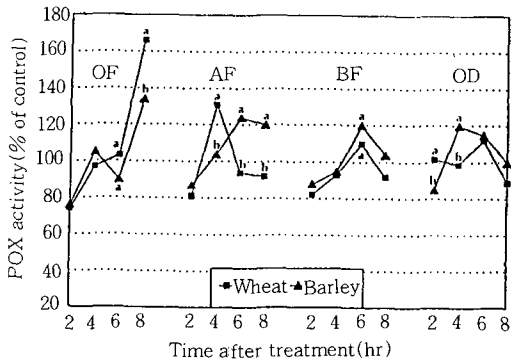


Fig. 2. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on peroxidase (POX) activity in wheat and barley. The POX activity of untreated wheat and barley were 0.68 ± 0.12 and 0.62 ± 0.19 mmol/H₂O₂/min/mg protein, respectively.

같았다. OF에 내성인 밀은 감수성인 보리보다 처리후 시간경과에 따른 활성의 감소폭은 적었다. 그리고 AF, BF 및 OD처리에서도 유사한 경향을 보였으나, OF처리보다 밀과 보리간의 활성 차이는 크지 않았다. Protox 저해에 의해 축적된 PPIX으로부터 광에 의해 singlet oxygen이 형성되는데 이는 식물체 자체가 갖고 있는 항산화 효소인 MDAR 등의 방어기작에 의해 무독화되므로²²⁾ 이러한 무독화 능력이 보리보다 밀에서 우수하여 이들 제초제에 대해 밀이 특이적으로 내성을 보였을 것으로 생각된다.

Protox 저해형 제초제에 따른 POX의 활성변화(그림 2)를 보면, OF 처리의 경우, 처리후 시간이 경과될수록 밀과 보리 모두 증가하는 경향을 보였으나, 그 밖의 AF, BF 및 OD 처리에서는 처리후 6시간 이후에 감소하는 경향을 보였다. 그러나 OF처리에서만 밀보다 보리에서 POX활성의 증가폭이 더 컸을 뿐, 그 밖의 약제에 대해서는 밀과 보리간에 큰 차이를 보이지 않았다.

오이에 있어서도 oxyfluorfen 처리에 의해 POX 활성의 증가가 보고되었고¹⁰⁾, 鞠 등¹¹⁾은 oxyfluorfen에 내성인 벼품종들보다 감수성인 벼품종들과 피에서 POX 활성의 감소폭이 컸다고 하였다. 본 연구에서도 OF에 대해 내성인 밀

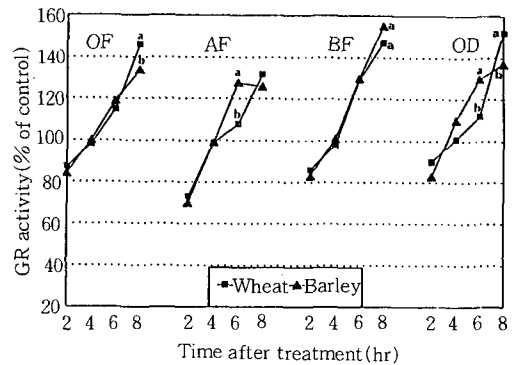


Fig. 3. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on glutathione reductase (GR) activity in wheat and barley. The GR activity of untreated wheat and barley were 0.53 ± 0.08 and 0.48 ± 0.07 Δ A/min/mg protein, respectively.

보다 감수성인 보리에서 POX 활성이 낮았던 결과는 상기의 결과들^{10,11)}과 유사하였다.

Protox 저해형 처리에 따른 GR 활성변화는 그림 3과 같다. 네 가지 약제 모두 무처리보다 효소활성이 높고 처리 후 시간이 경과될수록 활성은 증가하였다. 그러나 처리 후 일부시간을 제외하고는 밀과 보리간에 활성차이는 적었다. GR은 NADPH의 환원력을 이용하여 산화형의 glutathione을 환원형의 glutathione으로 바꾸어 항산화 작용을 하는데 밀과 보리간의 중간 차이는 적었다. 그러나 종내의 내성인 벼품종들은 감수성인 벼품종들보다 OF 처리후 GR의 활성이 높았다고 하였다¹¹⁾. Paraquat에 대한 내성은 활성 산소종의 무독화에 관여하는 적어도 3가지 효소 즉, SOD, ascorbate reductase 및 GR에 의해 기인된다고 보고하였으나⁶⁾, 본 연구에서는 밀이 보리보다 활성의 증가폭이 다소 컸을 뿐 유의적인 차이를 보이지 않아, GR의 활성 차이는 이들에 네 가지 약제에 대해 밀이 보리보다 내성을 발휘하는데 크게 영향을 주지 않았을 것으로 생각된다.

네 가지 약제 처리 후 밀과 보리의 CAL 활성의 경우(그림 4), 밀은 처리후 시간이 경과할수록 증가하는 경향을 보였으나, 보리에서는 BF를

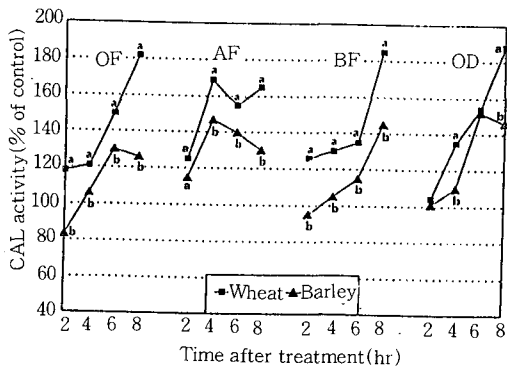


Fig. 4. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on catalase(CAL) activity in wheat and barley. The CAL activity of untreated wheat and barley were 0.17 ± 0.02 and 0.43 ± 0.08 Δ A /min /mg protein, respectively.

제외하고는 처리후 4시간 이후부터 감소하였다. 그리고 CAL 활성은 밀보다는 보리에서 활성의 감소가 컸다.

SOD 활성변화는 그림 5와 같다. 즉 SOD 활성도 CAL 활성처럼 네 가지 약제 모두 감수성인 보리보다 내성인 밀에서 활성의 증가폭이 컸다. 그러나 약제 처리후 활성의 증가 및 감소폭이 다양하였다. OF 처리에서는 처리후 밀에서는 증가

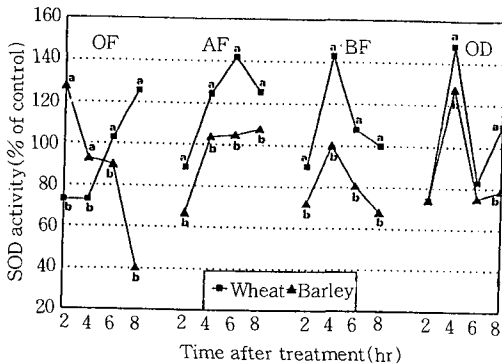


Fig. 5. Effect of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on superoxide dismutase(SOD) activity in wheat and barley. The SOD activity of untreated wheat and barley were 50 ± 7 and 50 ± 10 units /mg protein, respectively.

하였고, 보리에서는 감소하는 경향을 보여 서로 상반되는 경향이였다. SOD 효소는 superoxide 분자를 과산화수소로 바꾸어 주는 효소로서²³⁾, Prottox 저해형 제초제를 처리함으로써 SOD 활성이 증가되어 생성된 superoxide를 용이하게 분해시켰을 것으로 보인다.

따라서 Prottox 저해형 제초제에 대해 밀이 보리보다 내성을 보였던 것은 밀 자체가 갖고 있는 MDAR, POX, CAL 및 SOD와 같은 방어효소의 능력 차이에 기인되는 것으로 판단되었다.

2. Prottox 저해형 제초제 처리후 밀과 보리의 항산화제 함량 차이

Prottox 저해형 제초제 $1 \mu\text{M}$ 처리 후 6시간에

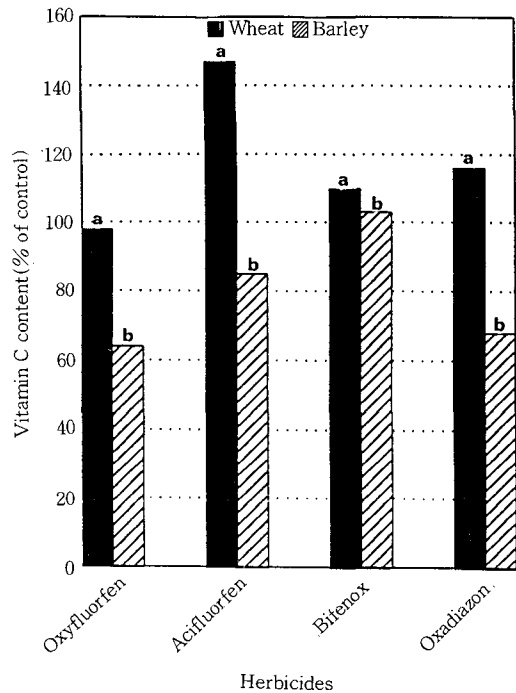


Fig. 6. Change of vitamin C contents in wheat and barley plants at 6 hours after treatment $1 \mu\text{M}$ with protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. Vitamin C contents of untreated wheat and barley were 59.2 ± 12.3 and $31.5 \pm 9.5 \mu\text{g} / \text{g}$ F.W., respectively.

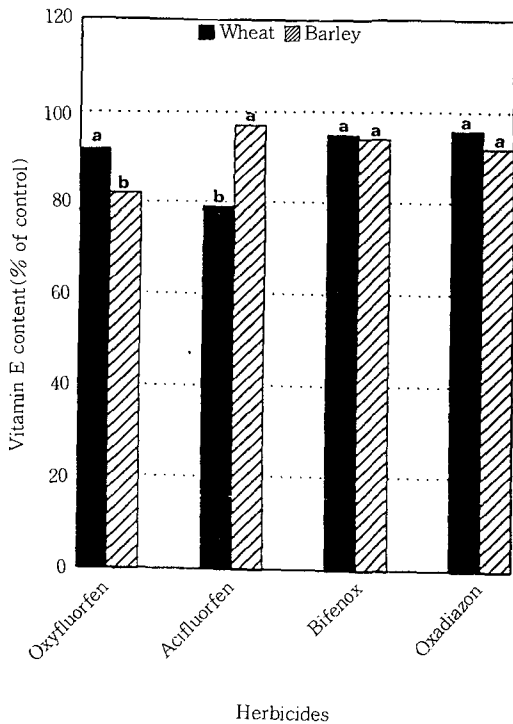


Fig. 7. Change of vitamin E contents in wheat and barley plants at 6 hours after treatment $1\mu\text{M}$ with protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. Vitamin E contents of untreated wheat and barley were 12 ± 3 and $19\pm 2.9\ \mu\text{g/g F.W.}$, respectively.

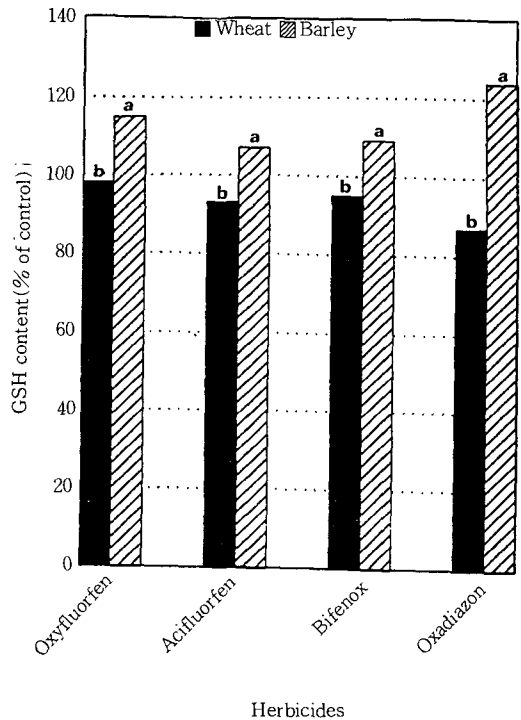


Fig. 8. Change of glutathione(GSH) contents in wheat and barley plants at 6 hours after treatment $1\mu\text{M}$ with protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. The GSH content of untreated wheat and barley were 240 ± 11 and $197\pm 17\ \mu\text{g/g F.W.}$, respectively.

밀과 보리의 vitamin C 함량 차이를 알아 보았다 (그림 6). 네 가지 약제 처리 모두 밀보다 보리에서 함량 감소가 컸으나 BF처리에서는 밀과 보리간에 차이가 적었다. Finckh와 Kunert⁵⁾는 OF 처리에 의한 식물체의 과산화는 vitamin C와 E의 비율(10~15:1)이 적당할 때 피해가 감소된다고 하여, 이들 제초제에 대해 밀이 내성을 보였던 것은 vitamin C의 단독 항산화 효과보다는 다양한 항산화제에 의해 복합적인 효과가 있기 때문인 것으로 생각되었다.

Vitamin E의 Protox 저해형 제초제에 대한 영향은 그림 7과 같다. BF 및 OD처리에서는 밀과 보리간에 함량 차이는 없었고, OF처리에서는 밀보다 보리에서, AF처리의 경우 보리보다 밀에서 함량 감소가 큰 경향을 보였다. 따라서 이들

약제 처리후 vitamin E의 함량 차이는 밀과 보리간에 일정한 경향을 보이지 않았다. 그러나 OF에 내성인 벼품종들은 감수성 벼품종들보다 vitamin E 함량이 많았다고 하여¹¹⁾ 본 연구의 OF처리시 밀이 보리보다 vitamin E 함량이 많았던 것과 유사하였으나 그 밖의 약제에 대해서는 vitamin E 함량 차이가 적어 밀이 보리보다 내성을 보였던 요인에는 크게 관여되지 않음을 볼 수 있었다.

이들 4약제 처리 후 환원형 glutathione GSH (그림 8)와 산화형인 GSSG(그림 9)는 오히려 밀보다는 보리에서 함량이 많았다. 그러나 鞠¹¹⁾은 OF에 내성인 벼품종은 감수성 벼품종보다 OF처리 후 GSH 함량이 많았다고 하여 본 연구의 결과와 상반되는 경향을 보였으나, 본 실험은

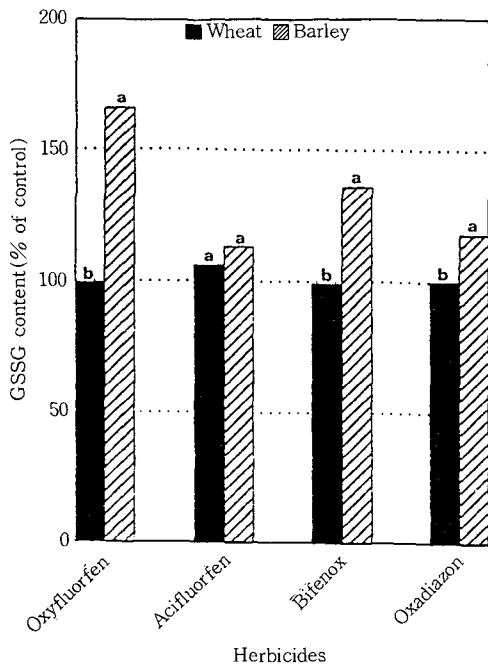


Fig. 9. Change of glutathione(GSSG) contents in wheat and barley plants at 6 hours after treatment $1\mu\text{M}$ with protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. The GSSG contents of untreated wheat and barley were 420 ± 50 and $250 \pm 36 \mu\text{g/g F.W.}$, respectively.

Table 1. Change of carotenoid contents(% of control) of wheat and barley at 6 hours after treatment of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides

Herbicides		Phyto- toene	Phyto- fluene	β -Ca- rotene	Total
Oxyfluorfen	Wheat	118	115	96	108
	Barley	108	108	101	105
Acifluorfen	Wheat	116	111	109	111
	Barley	87	87	80	84
Bifenox	Wheat	97	92	95	94
	Barley	106	100	93	99
Oxadiazon	Wheat	121	116	107	115
	Barley	103	102	95	100
LSD 0.05		10	9	12	10

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

처리 후 6시간에 분석한 결과이므로 처리 후 시간 경과에 따른 함량 변화를 조사해야 할 것으로 생각 된다. 또한, carotenoid의 성분량의 변화(표 1)를 보면 AF 처리에서는 밀보다는 보리에서 carotenoid의 성분량(phytoene, phyto fluene 및 β -carotene)의 감소가 컸을 뿐 그 밖의 OF, BF 및 OD처리에서는 차이가 없었다.

따라서 Protox 저해형 제초제 처리에 의해 발생된 활성산소종을 소거할 수 있는 항산화제들은 vitamin C를 제외하고는 이들 제초제에 대해 밀이 내성을 부여한 요인으로서는 크게 관여되지 않는 것으로 사료된다.

3. Protox 저해형 제초제 처리에 의한 밀과 보리의 PPIX 축적량

밀과 보리에 대한 PPIX 축적량은 Protox 저

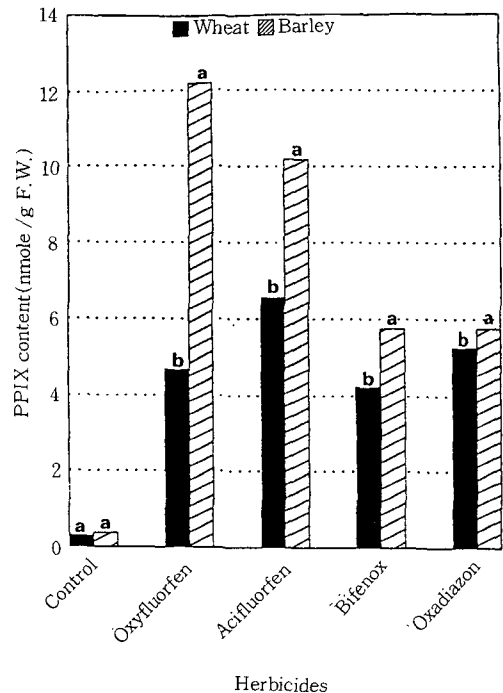


Fig. 10. Effects of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides on protoporphyrin IX(PPIX) accumulation. Shoots of the plants were soaked in $1\mu\text{M}$ herbicides solution for 2hr and then exposed to light for 2hr.

해형 제초제를 10⁻⁶M 농도로 처리 후 2시간 광에 배양하여 조사하였다(그림 10). 네 가지 약제 모두 밀보다 보리에서 축적량이 많았으나, OD처리에서는 밀과 보리간에 축적량 차이는 크지 않았다. 그러나 OF 및 AF처리에서는 밀보다 보리에서 축적량이 각각 2.2와 1.3배가 더 많았다.

PPIX 축적은 식물에 따라 상이하지만 보편적으로 OF 처리후 2시간에 최고에 달하고 그 후는 식물조직이 과산화되어 PPIX의 생합성 능력이 상실된다고 하여¹⁰⁾ 본 연구도 처리후 2시간에 조사하였다. 또한, acifluorfen에 내성인 겨자는 PPIX이 적게 축적되었던 반면 감수성 식물인 어저귀는 많이 축적된다고 하였다¹¹⁾. 이러한 결과들과 본 연구는 일치하는 경향을 보여 PPIX 축적량과 약제 활성 사이는 높은 상관관계가 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 Protox 저해형 제초제에 대해 밀이 보리보다 특이적 내성반응을 보였던 요인으로는 Protox 저해로 인한 PPIX 축적량 차이, 항산화효소인 MDAR, POX, SOD 및 CAL와 항산화제인 Vitamin C가 부분적으로 관여했을 것으로 보이고 특히, OF처리에서 이들 요인에 대한 뚜렷한 차이를 보였다. 또한, 前報⁷⁾의 실험 결과에서와 같이 밀이 보리보다 이들 약제에 대해 특이적 반응을 보였던 것은 제초제의 흡수와 PPIX 축적량이 크게 관여했던 것으로 생각되며, 이들 약제의 작용점 효소인 Protox 활성 저해 정도와 내성과의 관련성을 검토해야 할 것이다.

적 요

Protoporphyrinogen oxidase(Protox) 저해형 제초제로 알려진 oxyfluorfen(OF), acifluorfen(AF), bifenox(BF) 및 oxadiazon(OD)에 대해 밀이 보리보다 특이적으로 내성을 보인 요인이 이들 제초제 처리로 인하여 발생된 singlet oxygen을 무독화할 수 있는 항산화효소 및 항산화제의 능력 차이와 Protox 저해에 의한 protoporphyrin IX(PPIX)의 축적량에 기인하는지를 알아 보고자 하였다.

내성을 보인 밀과 감수성을 보인 보리에 OF, AF, BF 및 OD를 10⁻⁶M로 침지처리후 광에 2, 4, 6 및 8시간 경과후에 항산화효소 활성 변화를 본 결과, 이들 네 가지 약제 처리 후 monodehydroascorbate reductase(MDAR), catalase(CAL) 및 superoxide dismutase(SOD)의 활성은 밀보다 보리에서 활성의 감소폭이 컸다. POX 활성은 OF 처리후 단지 8시간에만 밀보다 보리에서 활성이 적었을 뿐, 그밖의 AF, BF 및 OD 처리에서는 차이가 없었다. GR활성은 4약제 처리후 시간이 경과될수록 활성이 증가하였으나, 밀과 보리간에 활성의 차이는 없었다. 네 가지 약제 처리 후 항산화제인 vitamin C 함량은 밀보다 보리에서 함량 감소가 컸었다. Vitamin E는 OF처리에서만 밀이 보리보다 함량 감소가 적었을 뿐 그밖의 약제에 대해서는 차이가 없었다. 그리고 carotenoid 함량은 AF처리에서만 밀이 보리보다 함량 감소가 적었을 뿐 그밖의 약제에 대해서는 차이가 없었다. Glutathione(GSH, GSSG) 함량은 네 가지 약제처리 모두 밀보다 보리에서 함량이 많았다.

이들 약제 처리후 PPIX 축적량은 밀보다 보리에서 많았고, 특히 OF 및 AF 처리에서는 각각 밀보다 보리에서 2.3배 및 1.3배가 더 많이 축적되었다.

LITERATURE CITED

1. Camadro J.M, M Matringe, R Scalla and P Labbe. 1991. Kinetic studies on protoporphyrinogen. *Biochem. J.* 277:17-27.
2. Dodge A.O. 1983. Toxic oxygen species and herbicide action. *Pest. Chem.* 59-66.
3. Duggan J and M Gassman. 1974. Induction of porphyrin synthesis in etiolated bean leaves by chelators of iron. *Plant Physiol.* 53:206-215.
4. Duke S.O, J Lydon, J.M Becerril, T.D Sherman, L.P Lehnen JR and H Matsumoto. 1991. Protoporphyrinogen oxi-

- dase-inhibiting herbicides. *Weed Sci.* 39: 465-473.
5. Finckh B.F and K.J Kunert. 1985. Vitamin C and E : An antioxidative system against herbicide-induced lipid peroxidation in higher plants. *J. Agric. Food Chem.* 33:574-577.
 6. Gressel J. 1987. Appearance of single and multi-group herbicide resistances and strategies for their prevention. *British Crop Protection Conference-Weeds.* 5(3) :479-488.
 7. Guh J.O and Y.I Kuk, 1997. Difference of absorption of and anatomical responses to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides in wheat and barley. *Korean J. Crop Sci.* 42(1):68-78
 8. Hissin P.J and R Hilf. 1976. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 74:214-226.
 9. Jacobs J.M, N.J Jacobs, T.D Sherman and S.O Duke. 1991. Effect of diphenyl ether herbicides on oxidation of protoporphyrinogen to protoporphyrin organellar and plasma membrane enriched fractions of barley. *Plant Physiol.* 97:197-203.
 10. Kim J.S. 1992. Action mechanism and selectivity of diphenyl ether compounds associated with types of herbicidal activity. *Chungnam National University. Ph. D., Thesis P.* 162.
 11. Kuk Y.I. 1995. Different physiological activity of selected rice cultivars to diphenylether herbicide, oxyfluorfen. *Chonnam National University. Ph. D., Thesis. P.* 173.
 12. Kunert K.J and P Böger. 1984. The diphenyl ether herbicide oxyfluorfen : Action of antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 32:725-728.
 13. Lambert R and P Böger. 1984. Peroxidative activity of oxyfluorfen with regard to carotenoides in *scenedesumus*. *J. Agric. Food Chem.* 32:523-526.
 14. Law M.T, S.A Charles and B Halliwell. 1983. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. *Biochem. J.* 210:899-903.
 15. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymol.* 148:350-382.
 16. Matringe M, J.M Camadro, P Labbe and R Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target for diphenyl ether herbicides. *Biochem. J.* 260:231-235.
 17. _____ and R Scalla. 1988. Studies on the mode of action of acifluorfenmethyl in nonchlorophyllous soybean cells. *Plant Physiol.* 86:619-622.
 18. _____ and _____. 1987. Induction of tetraphyrrole accumulation by diphenylether type herbicides. *British Crop Protection Conference-Weeds.* 981-996.
 19. Matsumoto H and K Ishizuka. 1992. Suppression of oxyfluorfen activity and protoporphyrin IX accumulation in intact cucumber plants by tetraphyrrole synthesis inhibitors. *Weed Research, Japan* 37(2):153-158.
 20. McCord J.M and I Fridorich. 1969. Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
 21. Nakamo Y and K Asada. 1981 : Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in sponach chloroplast. *Plant & Cell Physiol.* 22:867-880.
 22. Orr G.L and F.D Hess. 1981. Characterization of herbicidal injury by acifluorfenmethyl in excised cucumber(*Cucumis sativus* L.) cotyledons. *Pestic. Biochem.*

- Physiol. 16:171-178.
23. Schmidt A and K.J Kunert. 1986. Lipid peroxidation in higher plants. The role of glutathione reductase. *Plant Physiol.* 82:700-702.
24. Sherman T.D, J.M Becerril, H Matsumoto, M.V Duke, J.M Jacobs, N.J Jacobs and S.O Duke. 1991. Physiological basis for differential sensitivities of plant species to protoporphyrinogen oxidase. *Plant Physiol.* 97:280-207.
25. _____, M.V Duke, R.D Clark, E.F Sanders, H Matsumoto and S.O Duke. 1991. Pyrazole phenyl ether herbicides inhibit protoporphyrinogen oxidase. *Pesticide Biochemistry and Physiol.* 40: 236-245.
26. Smith I.K, T.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.
27. Yamasue Y, K Ueki and H Chisaka. 1987. Seed dormancy and germination of *Echinochloa oryzicola* Vasing: An observation through respiration and several enzyme activities. *Weed Research Japan.* 32(3):188-197.