

신규 cyclohexanedione계 화합물 EK3143과
EK3150의 제초작용 발현특성과 Acetyl
CoA Carboxylase 활성에 미치는 효과

김진석 · 송종환 · 조광연*

**Action Characteristics of EK3143 and
EK3150, New Cyclohexanedione Herbicides,
and Their Effects on Acetyl CoA Carboxylase Activity**

Kim J.S., J.H. Song and K.Y. Cho*

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the herbicidal action characteristics of EK3143 and EK3150, newly synthesized cyclohexanedione analogues, and their inhibitory effects on the acetyl-CoA carboxylase activity isolated from various plants.

Sethoxydim, a typical cyclohexanedione herbicide, had a high herbicidal activity against only grasses with growth inhibition, leaf chlorosis and necrosis. EK3143 and EK3150 had a lower effect against grasses but a higher effect against broadleaf plants such as black nightshade and velvetleaf than sethoxydim had. Low rate application of EK3143 induced leaf bleaching(whitening), while high rate application induced the same symptoms as those of sethoxydim. EK3150 induced more significant whitening, additionally accompanying a curling of meristem part in broadleaf plants. A consistent tendency was observed between the growth inhibition against grasses and the sensitivity of grass ACCase to these compounds, but not between herbicidal activities against broadleaf plants and the sensitivity of dicotyledonous ACCase; i.e. EK3150, which had higher herbicidal activity against black nightshade and velvetleaf than EK3143 had in greenhouse, rather showed lower ACCase inhibition. In EK3150-treated barnyardgrass, growth inhibition occurred prior to decrease of photosynthetic pigments, in contrast to that of norflurazon and EK3140. These results suggest that EK3143 and EK3150 may have two target sites, ACCase and an unknown site on fatty acid synthesis related to growth inhibition and bleaching respectively, and their symptoms would be appeared in different degree by a differential binding affinity between two action sites.

Key words : Cyclohexanedione, Herbicide, Graminicides, Bleaching(whitening), Growth inhibition, Acetyl CoA carboxylase(ACCase)

* 한국화학연구소 (Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea)

〈'98. 10. 2 접수〉

서 언

1980년대 초에 개발되기 시작한 cyclohexanedione계와 aryloxyphenoxypropionate계의 제초제는 화분과 잡초에 대하여 고도의 선택적 제초 활성을 보이는게 특징이다³⁴⁾. 약제처리후 몇시간 이내에 분얼부의 생장이 중지되고 신생조직의 탈색과 기존조직의 황화(chlorosis) 또는 종에 따라서는 안토시아닌의 축적으로 자색화가 일어나면서 식물체가 서서히 위조, 고사하게 된다^{5,21)}. 반면에 광엽식물들은 상당한 내성을 보이기 때문에 콩, 목화등과 같은 광엽작물의 경엽처리용으로 주로 사용되고 있다. Cyclohexanedione계 화합물중 제초제로 사용되고 있는 alloxymid, butoxydim, clethodim, cycloxydim, sethoxydim, tralkoxydim 등³⁴⁾과 aryloxyphenoxypropionate계의 cyhalofop-butyl, fenoxaprop, fluazifop, haloxyfop, propanil, quizalofop, quizalofop 등은 모두 acetyl CoA carboxylase (ACCCase)가 일차작용점인 것으로 인정되고 있다^{12,17,20,21,25,30)}. 즉 제초제가 처리되면 ACCCase subunit 중의 하나인 transcarboxylase 활성이 저해되어 malonyl CoA 형성이 적어지고 이로 인해 palmitic acid 등 지방산의 생합성이 이루어지지 않아 세포구조막이 미발달되거나 기능이 장애를 받아 결국, 특히 분얼부의 생장이 중지되면서 식물체가 변색, 고사하게 되는 것으로 이해되고 있다. 한편 광엽식물과 화분과 식물간에 고도로 선택성을 가지는 원인은 광엽식물의 엽록체에는 제초제에 둔감한 prokaryotic form ACCCase가 존재하는 반면 화분과식물은 제초제에 민감한 eukaryotic form ACCCase가 존재하기 때문으로 알려지고 있다^{4,27)}. 즉 작용점에서의 감수성 차이로 나타나는 생리적 선택성의 전형적인 양상을 보인다. 그러나 일부 화합물은 화분과 식물간에도 선택성을 가지기 때문에 밀, 벼 등에도 사용되기도 하는데³⁴⁾ 이의 원인들은 특정식물에서 약제가 쉽게 무독화되거나^{2,28)} 또는 제초제에 둔감한 ACCCase isozyme이 존재하기 때문인 것으로 밝혀지고 있다^{3,19,30)}. 그러므로 현재 개발된 ACCCase 저해제들은 상당히 고농도로

처리될 경우만이 광엽초종에 제초효과가 나타나고 적정농도에서는 전혀 나타나지 않는게 일반적이다. 그런데 cyclohexanedione계 화합물 유도체들을 신규로 합성하여 선발하던중 기존약제와 동일계통의 화합물인데도 불구하고 동일처리농도에서 화합물 구조변화에 따라 제초범위가 광엽까지 확대되고 그 증상이 생육저해형으로부터 백화형으로 변화되는 것들이 발견되었다. 따라서 본 연구에서는 이들의 제초작용발현의 특성을 기존약제와 비교조사하고, 이들이 ACCCase에 대해 어떠한 저해활성을 가지는지를 알아보려고 제반실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 화합물

Sethoxydim {2-(N-ethoxybutyrimidoyl)-5(2-ethylthiopropyl)-3-hydroxy-2-cyclohexane-1-one}은 Nippon Soda로부터 받은 원제를 사용하였고, EK3143 {2-[1-(Ethoxyimino)propyl]-5-(2,3-dihydro-3,6-dimethylthiobenzopyran-8-yl)-3-hydroxy-2-cyclohexen-1-one}, EK3150 {2-[1-(Allyloxyimino)propyl]-5-(2,3-dihydro-3,6-dimethylthiobenzopyran-8-yl)-3-hydroxy-2-cyclohexen-1-one}, EK3140 {2-propionyl-5-(2,3-dihydro-3,6-dimethylthiobenzopyran-8-yl)-cyclohexane-1,3-dione}은 한국화학연구소에서 신규로 합성한 원제(95% 이상의 순도)를 사용하였다.

2. 온실에서의 제초효과 비교

공시화합물의 제초범위를 비교하기 위하여 화분과 식물 5초종(옥수수, 벼, 수수, 식용피, 바랭이), 광엽식물 5초종(콩, 까마중, 자귀풀, 어저귀, 도꼬마리)을 포트에 파종한 다음, 콩의 1본엽이 완전히 전개되었을 무렵 여러 농도(kg/ha)로 조제한 약제를 경엽처리하였고, 처리후 2주째에 효과를 달관조사하였다. 한편 약효의 상대적 수준을 비교하고 증상을 면밀히 관찰하기 위해서 시험화합물들에 반응이 민감했던 피, 어저귀, 까마중을 대상으로 어린시기(식용피 : 2엽전개 완료, 까마중과 어저귀 : 본엽

출현시작)에 화합물을 물농도로 처리한 다음, 처리후 10일째에 달관조사하였다.

3. 생장저해효과 조사

시험약제의 화분과 식물에 대한 생장저해 효과를 실험실 내에서 정량적으로 측정하기 위해 식용피 및 수수의 잎생장과 옥수수의 뿌리생장에 미치는 효과를 조사하였다. 즉 식용피와 수수의 제 2분엽이 출현될 때 시험약제를 처리한 다음, 처리후 4일째에 피의 경우 제 2분엽의 생장정도를, 수수의 경우에는 제 2분엽과 제 3분엽의 생장정도를 조사하였다. 반복당 10개체씩 3반복으로 시험하였다. 한편 옥수수의 경우는 25℃에서 3일동안 최아지킨 것의 뿌리선단 1cm를 White 배지에 10개씩 넣고 2일 동안 배양한 후(실온, 암조건, 130rpm) 생장정

도를 조사하였다.

4. 식물 광합성색소함량 조사

엽록소와 카로티노이드는 메탄올로 추출하여 Lichtenthaler 방법²³⁾에 의해 정량하였다. 흡광도는 분광광도계(Beckmann DU-65)를 이용하여 측정하였다.

5. ACCase 활성 조사

온실에서 생육한 3-4엽기의 옥수수, 2-3엽의 분엽이 전개된 까마중과 어저귀로부터 각각 ACCase 조효소액을 추출한 다음, C¹⁴-sodium bicarbonate의 유입정도로 그 활성을 조사하였다. ACCase 추출 및 활성조사는 Yenne & Hatzios 방법³⁵⁾을 약간 변형하여 실시하였고, 단백질 함량은 Bradford 방법¹¹⁾에 준하여 정량하였다.

Table 1. Herbicidal activity of sethoxydim, EK-3143 and EK-3150 to various weed species at foliar treatment¹⁾

Chemicals	Rates (kg/ha)	Grasses					Broad leaves				
		Z E A M X	O R Y S A	S O R B I	E C H C G	D I G S A	G L X M A	S O L N I	A E S I N	A B U T H	X A N S I
Sethoxydim	0.004	0	0	20	55	35	0	0	0	0	0
	0.016	40	45	40	75	60	0	0	0	0	0
	0.063	90	70	95	100	85	0	0	0	0	0
	0.250	100	90	100	100	100	0	0	0	0	0
	1.000	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0
EK-3143	0.004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.016	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0
	0.063	15	0	0	55	90	0	0	0	0	0
	0.250	100	70	35	100	100	0	0	0	0	0
	1.000	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0
EK-3150	0.125	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0
	0.250	0	0	5	5	10	20	60	0	0	0
	0.500	5	0	20	25	35	35	70	15	0	15
	1.000	20	0	30	60	40	50	100	15	0	30
	2.000	25	0	55	70	85	50	100	50	20	40

¹⁾ Herbicides were treated at 12 day after seeding and control values were determined 14 days after foliar treatment (100 : complete control, 0 : no control). ZEAMX : *Zea mays*, ORYSA : *Oryza sativa*, SORBI : *Sorghum bicolor*, ECHCG : *Echinochloa crus-galli*. DIGSA : *Digitaria sanguinalis*, SOLNI : *Solanum nigrum*, AESIN : *Aeschynomene indica*, ABUTH : *Abutilon theophrasti*, XANSI : *Xanthium strumarium*

결 과

1. 신규화합물의 제초작용특성

Sethoxydim을 대조약제로 하여 EK3143과 EK-3150의 제초작용특성을 온실조건에서 비교하여 보았다. 먼저 선택성 정도와 제초효과를 조사한 실험결과는 표 1에서와 같았다. Sethoxydim과 EK3143은 1kg/ha 처리수준까지 화분과 식물들에만 제초효과를 가지는 반면, 광엽잡초에 대한 활성은 거의 없었으며 EK3143은 전체적으로 sethoxydim보다 활성이 약한 경향이였다. 반면에 EK3150은 sethoxydim이나 EK3143보다

화분과 식물에 대한 활성은 상대적으로 감소되었으나 여러 초종의 광엽잡초에 대해서는 보다 강한 활성을 가지는 특징을 보였다. 이들 약제를 가지고 보다 민감한 반응을 보이는 식용피, 어저귀, 까마중에 물농도로 경엽처리하여 제초효과 및 증상을 조사하였다(표 2). Sethoxydim은 7.5 μ M의 저농도까지 피에 대해서만 활성이 보이지만, 동일농도 범위에서의 EK3143은 피에 대한 활성은 떨어지는 경향이냐 까마중에 대한 활성은 증가되었다. 한편 EK3150은 피에 대한 활성이 두 약제보다 더욱 감소하였지만 어저귀와 까마중에 대한 활성은 더욱 증가하는

Table 2. Herbicidal activities and symptoms in several weed species treated with sethoxydim, EK-3143 and EK-3150¹⁾

Chemicals	Concentration (μ M)	ECHCF	ABUTH	SOLNI
Sethoxydim	7.5	85 GI,N ²⁾	0	0
	15.0	95 GI,N	0	0
	30.0	100 GI,N	0	0
	60.0	100 GI,N	0	0
	125.0	100 GI,N	0	0
	250.0	100 GI,N	0	0
	500.0	100 GI,N	0	0
	1000.0	100 GI,N	0	0
EK-3143	7.5	10 W	0	0
	15.0	60 W,GI	0	0
	30.0	80 GI,N	0	0
	60.0	90 GI,N	0	0
	125.0	95 GI,N	0	0
	250.0	100 GI,N	0	10 W
	500.0	100 GI,N	0	10 W
	1000.0	100 GI,N	0	60 MC,W
EK-3150	7.5	0	0	5
	15.0	0	0	10 W
	30.0	0	0	20 MC,W
	60.0	10 W	0	30 MC,W
	125.0	30 W	30 MC,W	60 MC,W
	250.0	40 W	20 MC,W	100 MC,W
	500.0	50 W	50 MC,W	100 MC,W
	1000.0	60 W	50 MC,W	100 MC,W

¹⁾ Herbicides were treated at the time of main leaf emergence in ABUTH and SOLNI and second leaf stage in ECHCF(9 day after seeding). Control values were determined 10 days after early post-emergence treatment (100 : complete control, 0 : no control). ECHCF : *Echinochloa crus-galli* var. *frumentacea*, ABUTH : *Abutilon theophrasti*, SOLNI : *Solanum nigrum*.

²⁾ GI : Growth inhibition, N : Necrosis, W : Whitening, MC : Meristem curling

경향이였다. 제초증상의 경우에도 서로 달라 sethoxydim을 처리할 경우 생육정지와 함께 조직의 황화, 괴사 등의 증상이 유기되었으나, EK3143 처리에서는 저농도에서는 백화증상이, 고농도에서는 sethoxydim과 동일한 증상이 나타났다. 반면에 EK3150은 모든 농도에서 초기의 생육저해 증상보다는 식물체의 백화를 현저히 유기시켰으며, 광엽잡초의 경우 백화와 더불어 분열조직에서의 생육이상(뒤틀림)이 뚜렷하게 나타났다.

2. 화합물이 생장저해 정도에 미치는 효과

온실에서 조사한 결과에 의하면 화분과 잡초에 대한 활성이 강한 약제는 생육저해 증상이

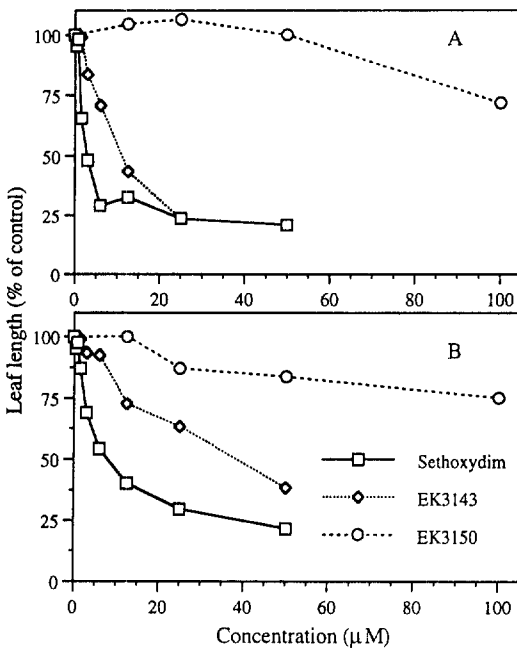


Fig. 1. Effect of sethoxydim, EK3143 and EK3150 on the growth of barnyardgrass (A) and sorghum (B).

Herbicides were foliar-treated at the time of second leaf emergence (7 days after seeding). At 4 days after treatment, the second leaf length of barnyardgrass and sum of the second and third leaf length of sorghum was investigated respectively. The mean values were based on 3 replicates with 10 plants in each one

현저하고, 광엽에 대한 활성이 높아질수록 생육저해는 경감되는 대신에 백화증상이 뚜렷이 발현되었다(표 1, 표 2). 이들 관계를 보다 정량적으로 확인하기 위하여 화분과 식물인 피, 수수, 옥수수를 대상으로 잎 또는 뿌리의 생장에 미치는 화합물들의 효과를 조사해 보았다. 그 결과 온실실험에서와 동일하게 sethoxydim, EK3143, EK3150 순으로 생육저해 효과가 낮아졌다. 먼저 피의 경우 EK3150 100 μM 처리까지는 잎의 생장이 거의 저해되지 않았으나 sethoxydim은 5 μM , EK3143에서는 25 μM 에서 생장저해의 포화점에 이르렀다(그림 1A). 수수의 경우도 화합물간의 생장억제력 차이는 피에서와 같았으나 개개 화합물에 대한 반응은 피보다 약간 둔감하여 sethoxydim과 EK3143을 50 μM 처리할 경우 무처리 대비 각각 25%, 40%의 신장반응을 나타내었다(그림 1B). 옥수수 뿌리신장에 미치는 효과를 조사한 결과(그림 2)에 있어서도 저해 효과가 EK3150, EK3143, sethoxydim 순으로 높게 나타났다. 그러나 화합물간 저해 정도차이는 잎생장의 조사시보다 낮았는데 이는 잎보다는 뿌리가 상대적으로 민감하고 뿌리 절편이 약제용액에 계속적으로 노출된 상태에서 배양되었기 때문으로 여겨진다.

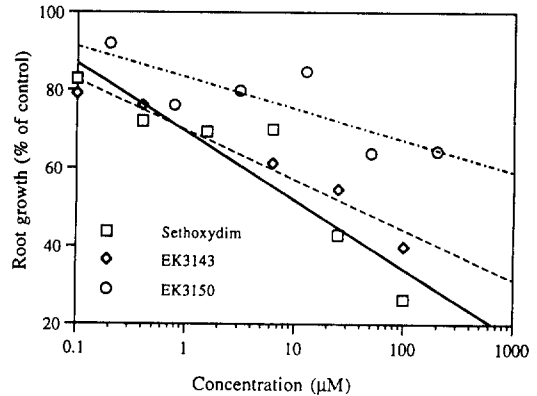


Fig. 2. Effect of sethoxydim, EK3143 and EK3150 on the growth of corn root tip in White's medium.

Ten of the root tips (1cm) excised from corn germinated in the dark at 25°C for 3 days were incubated in the medium for 2 days with shaking speed of 130 rpm.

3. 화합물이 ACCase 활성에 미치는 효과

공시화합물이 화본과식물과 광엽식물의 ACCase 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 옥수수 잎으로부터 추출한 ACCase에 대한 효과를 조사해 본 결과는 그림 3에서와 같았다. 신장저해를 보다 현저하게 유기시켰던 sethoxydim과 EK3143은 거의 동일 수준으로 ACCase 활성을 저해시켰으나 신장저해보다는 백화를 현저히 유기시켰던 EK3150은 이들보다 낮은 활성을 나타내었다. 50% 저해농도는 sethoxydim 13.9 μM , EK3143 16.1 μM , EK3150 41.1 μM 이었다. 한편 광엽식물인 까마중과 어저귀로부터 추출한 ACCase에 대한 효과를 조사해 본 결과는 그림 4에서와 같았다. 광엽식물에 효과가 없었던 sethoxydim은 200 μM 까지 저해활성을 나타내지 않았으나 신규합성화합물이면서 광엽식물에 제초활성을 보였던 EK3150과 EK3143은 흥미롭게도 ACCase 활성을 저해하였다. 그러나 ACCase 저해정도에 있어서는 온실조건에서 광엽잡초에 보다 높은 제초효과를 보였던 EK3150이 효과가 낮았던 EK3143보다 낮게 나타나, 실제 전식물체(intact plant)에 대한 제초활성과 ACCase 저해정도에 있어서는 일관성을 나타내지 않았다. 그리고 광엽잡초간의 활성에 있어서도 EK3143의 경우는 동일농도의 온실실험에서 까마중에서만 활성이 보였으나 ACCase 저해는 까마중과 어저귀 모두에서 나타나 작용

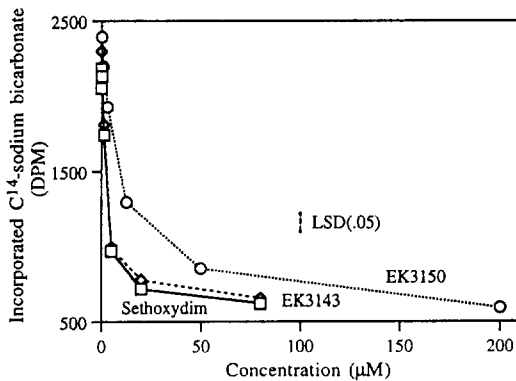


Fig. 3. Effect of sethoxydim, EK3143 and EK3150 on the activity of acetyl-CoA carboxylase extracted from corn leaf.

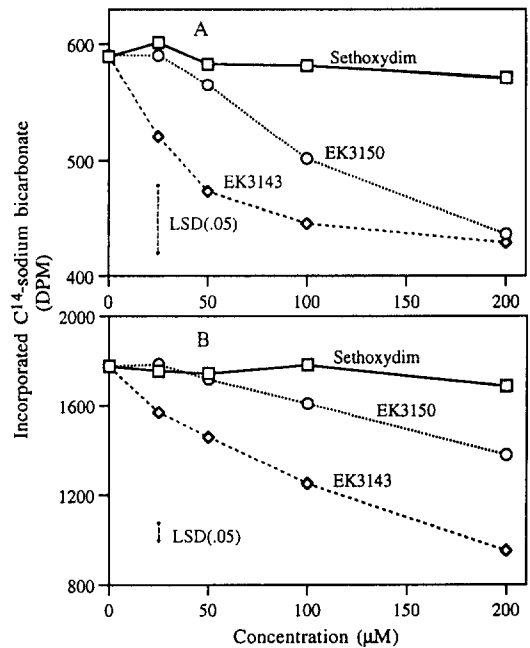


Fig. 4. Effect of sethoxydim, EK3143 and EK3150 on the activity of acetyl-CoA carboxylase extracted from black nightshade (A) and velvetleaf (B) leaf.

점상의 감수성 이외에 *in vivo*상태에서의 화합물 흡수, 이행, 대사과정도 제초활성에 영향을 미치고 있는 것으로 생각되었다.

4. 광합성색소 생합성에 미치는 효과

생장저해와 백화유기가 동일 작용점 저해로부터 오는 것인지 아니면 어느 다른 작용점이 추가로 존재하기 때문에 나타나는지는 또 다른 흥미이다. Norflurazon은 카로티노이드 생합성을 억제하여 백화를 유기시키는 화합물이다. 이를 식물체에 처리했을 때 생장억제보다는 광합성색소 특히 카로티노이드 함량의 감소가 더욱 현저하게 나타나는 특성을 가지고 있다¹⁾. EK3150이 이와 비슷한 양상을 보이는지 알아보기 위하여 성장저해와 광합성색소 감소정도를 억제처리후 시기별로 조사하였다(그림 5). 그 결과 norflurazon과 좀더 백화가 뚜렷하였던 sulcotrione 계통의 EK3140처리에서는 카로티노이드 함량 감소가 성장저해보다 먼저 현저하게 일어나는데 반하여 EK3150은 엽록소 및 카로

고 찰

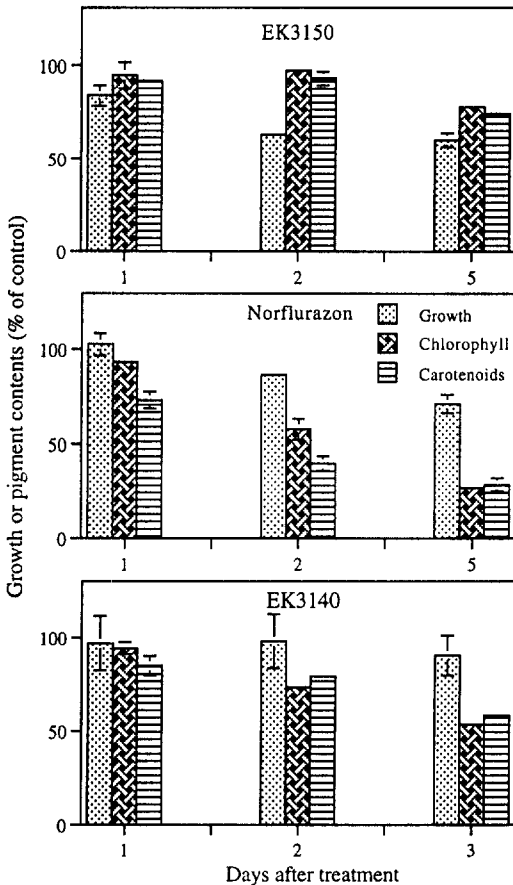


Fig. 5. Changes in the growth, chlorophyll and carotenoid content of the barnyardgrass treated with $100 \mu\text{M}$ EK3150, $20 \mu\text{M}$ norflurazon or $100 \mu\text{M}$ EK3140. The herbicides were treated at the time of second leaf emergence (7 days after seeding). The growth and photosynthetic pigments of the second leaf were investigated periodically. Vertical bars represent standard deviation of 3 replicates. In some cases the bar is obscured by the symbol.

티노이드 함량 감소보다 성장저해가 먼저 일어나며 그 억제정도도 약간 높게 나타나는 경향이 있었다(그림 5). 이들의 결과는 성장저해와 백화유기가 서로 다른 생리작용으로부터도 나올 수 있음을 의미하며, 따라서 EK3143과 EK3150 화합물은 ACCase 뿐만 아니라 다른 어떤 작용점을 추가로 공격하는 것으로 추정된다.

ACCase 저해 제초제들에 있어서 광엽식물과 화본과 식물간에 고도의 선택성을 나타내는 원인에 대해서는 다각도로 연구하여 왔으나 가장 지배적인 의견은 광엽식물의 엽록체에는 제초제에 둔감한 prokaryotic form ACCase가 존재하는 반면 화본과식물은 제초제에 민감한 eukaryotic form ACCase이 존재하기 때문인 것으로 이해되고 있다^{4,20,22,27}. Cyclohexanedione계 화합물의 ACCase 활성에 대한 Ki는 화본과 식물의 경우 0.02-1.95 micromolar인데 반해 광엽은 53-2200 micromolar로서 수십-수백배의 차이가 있는 것으로 보고되고 있다²⁵. 그런데 같은 ACCase 저해제라 할지라도 일부 화합물은 화본과 식물간에도 선택성을 가지기 때문에 밀(diclofop-methyl, tralkoxydim, fenoxaprop-ethyl)과 벼(fenoxaprop-ethyl, cyhalofop-butyl) 등에도 사용되기도 하는데³⁴ 이는 이들 식물에서 약제가 쉽게 무독화되거나^{2,28}, 제초제에 보다 둔감한 ACCase isozyme이 존재하기 때문인 것으로 밝혀지고 있다^{3,19,30}. 한편 제초제의 지속적인 사용에 따른 저항성식물도 보고되고 있는데 이 경우는 작용점상에서의 ACCase 변형때문인 것으로 대부분 보고되고 있으나^{10,16,24,31}, 경우에 따라서는 흡수차이¹⁵ 또는 기타 원인¹⁴에 의해서도 나타나는 것으로 알려지고 있다. 즉 ACCase 저해제들의 식물간 선택성은 작용점에서의 감수성 차이 뿐만아니라 식물간의 흡수, 이행, 무독화 과정등의 차이에 의해서도 나타나기 때문에 상당히 복잡하게 이루어지고 있다¹⁶. 본 연구에 있어서도 화본과 식물에 대해서만 제초효과를 가지는 sethoxydim은 화본과 ACCase만을 저해하였고, 광엽잡초에 제초효과가 있었던 EK3143과 EK3150은 화본과 ACCase는 물론 광엽 ACCase도 저해하였지만 보다 세부적으로 볼 때는 화합물별 또는 식물별 제초반응과 *in vitro*에서의 ACCase 저해정도와는 높은 상관관계를 나타내지 않았다(표 2, 그림 3, 그림 4). 이는 작용점의 감수성차이 이외에 화합물의 흡수, 이행, 무독화작용등이 식물마다 차이가 있는

것과 관련이 있는 것으로 판단된다. 그러나 흥미로운 사실은 작용기작에 대해서는 아직 모르지만 두 화합물에 의해 광엽 ACCase도 보다 강하게 저해를 받을 수 있다는 사실이다(그림 4). 본 신규화합물의 경우 매우 높은 편은 아니었지만 기존약제인 sethoxydim보다는 광엽 ACCase에 대한 저해활성이 높았던 것이 이를 반증해주며 이는 광엽잡초의 ACCase를 선택적으로 저해하는 화합물도 개발될 수도 있음을 시사해준다.

그렇다면 EK3143 또는 EK3150 화합물 처리에서 생육저해와 백화증상이 보였던 원인이 과연 광엽 ACCase를 추가로 저해하였기 때문일까? 화분과 ACCase를 저해하는 제초제를 처리하면 때에 따라서는 저농도처리에서 화분과잡초에 대해 백화증상이 약하게 나타나는 경우가 있어 그 가능성을 완전히 배제하지는 못한다. 그러나 화합물 구조의 변화로 화분과 ACCase에서 단순히 광엽 ACCase로 그 저해양식이 일부 전환됨으로써 두가지 증상이 동시에 나타났다고 결론짓기는 어려울 것 같다. 즉 작용발현의 우선순위와 초기증상을 볼 경우 sethoxydim은 성장저해만을, 반면에 EK3143, EK3150은 성장저해 보다는 백화증상을 더욱 강하게 유기하였는데 이 때 화분과식물의 성장저해는 ACCase 활성감소에 의해서 주로 나타나고, 백화는 다른 작용점의 저해로 인해 나타날 것으로 여겨지기 때문이다. Bailey 등(1995)⁸⁾은 ACCase가 성장에 필수적임을 제안하였고, 실제 화분과 ACCase 저해제를 처리하면 성장저해가 보다 초기에 현저히 일어나지만 이 때 식물체의 백화가 현저히 유기된다는 보고는 없다. 본 실험에서도 sethoxydim이 시험화합물보다 백화가 강하게 발현되지는 않았다(표 2). 한편 제초제 처리에 의해서 식물체가 백화되는 경우의 보고된 작용기작을 보면, norflurazon 처리에서와같이 phytoene desaturase가 저해되어 카로티노이드 색소함량이 감소될 경우^{18,26)}와 diflufenican 처리에서와 같이 fatty acid synthase도 같이 저해되어 지방산 생합성이 감소되기 때문에 엽록체막이 제대로 형성되지 못할 경우로 대별할

수 있다^{6,7,9)}. 카로티노이드 생합성을 저해하는 제초제의 경우 일반적으로 색소함량의 감소가 생육저해보다 먼저 나타나는데¹⁾ 본 연구에서의 EK 화합물 처리에서는 색소함량감소보다는 생육저해가 먼저 나타나고 무색카로티노이드(phytoene, phytofluene)의 축적이 잘 관찰되지 않았던 것으로 보아(테이타제시 생략) 카로티노이드 생합성 저해보다는 지방산 생합성 저해로 인한 백화의 가능성이 더 높을 것으로 여겨진다. 현재 개발된 ACCase활성 저해 제초제의 대부분은 광엽식물에 대해서는 상당히 높은 선택성을 가지고 있는 화합물들이기 때문에 이들 제초제가 광엽식물에 어떠한 저해작용을 가지고 있는지에 대한 연구는 극히 제한되어 있다. 최근 Shimabukuro와 Hoffer(1996)²⁹⁾ diclofop-methyl이 leafy spurge (*Euphorbia esula* L.) 식물에 대해 잎의 굴곡과 황화현상(chlorosis)을 동반한 탈엽을 초래하며 이의 원인은 ACCase 저해가 아닌 막과산화 촉진에 의한 에틸렌의 과다생성 때문인 것으로 제안하고 있다. 이러한 제반사항을 검토해 볼 때 본 신규화합물은 적어도 2가지 이상의 제초작용점이 있을 것으로 추정되며 화합물과 작용점간의 결합정도에 따라 생육저해 또는 백화 등의 증상이 서로 비중을 달리하여 나타나는 것으로 생각된다. 화합물에 따라 제초작용점이 2개 이상 있는 경우는 다수 보고되고 있다²⁶⁾. 식물체의 백화를 유도시키는 화합물을 예로들면 diflufenican의 경우 phytoene desaturase와 fatty acid synthase를 저해하며^{6,7,9)}, norflurazon은 phytoene desaturase를 저해하면서 광합성전자전달계와 fatty acid desaturation도 저해하는 것으로 보고되고 있다^{18,32,33)}. 한편 화합물구조의 변형에 따라 작용점이 완전히 달라지는 예는 특히 diphenyl ether계 화합물에서 대표적으로 보고되고 있는데 주변 관능기의 변화에 따라 광합성 저해, 엽록소 생합성 저해, 지방산 생합성저해, 핵산대사 저해 등을 나타낸다^{13,26)}. 기존 cyclohexanedione계 화합물은 광엽에 높은 선택성을 보이므로 이와같은 연구보고가 현재까지 없었지만 본 연구에서의 화합물 구조변화에 따른 제초작용을 조사한 결

과에 의하면 cyclohexanedione계 화합물의 경우도 종류에 따라 여러 작용점을 가질 가능성이 충분히 있을 것으로 여겨진다.

결론적으로 본 연구에서의 EK3143, EK3150과 같은 cyclohexanedione계통의 화합물은 제초 범위가 광엽식물까지 확대되었으며, 이러한 활성은 광엽 ACCase를 저해함과 동시에 미지의 어떤 다른 작용점도 새롭게 저해함으로써 나타난다고 보여지므로 이들 특징을 중심으로 새로운 구조의 화합물을 더욱 합성하게 되면 독창적인 화합물이 개발될 수 있을 것으로 여겨진다. 아울러 미지의 다른 작용점이 무엇인지에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다.

요 약

신규로 합성한 cyclohexanedione계 화합물 EK3143과 EK3150의 제초작용 발현의 특성을 기존약제와 비교조사하고, 이들이 ACCase에 대해 어떠한 저해활성을 가지는지를 알아보고자 제반실험을 수행하였다.

Sethoxydim은 화본과식물에만 제초효과를 가지며 생육정지와 함께 조직의 황화, 괴사가 나타난다, 반면에 EK3143과 EK3150은 화본과식물에 대한 활성은 상대적으로 감소되었으나 까마중, 어저귀 등의 광엽잡초에 대해서는 보다 강한 활성을 가졌다. EK3143은 저농도의 보다 폭넓은 범위에서는 백화증상이, 고농도에서는 sethoxydim과 동일한 증상을 나타내었고 EK3150은 모든 농도에서 식물체의 백화를 유기시켰으며 광엽잡초의 경우 분열조직에서 그 증상이 뚜렷하였다. 이들 화합물의 화본과식물에 대한 생육저해 활성과 옥수수 ACCase에 대한 저해 정도간에는 일치된 경향을 보였으나 광엽잡초인 어저귀와 까마중에 대한 ACCase 활성과 전 식물체(intact plant)에서의 제초활성간에는 일치된 경향을 보이지 않았다. 즉 EK3143과 EK3150은 어저귀와 까마중의 ACCase에 대한 저해활성이 sethoxydim보다 전반적으로 높은 특징을 보이지만, 광엽잡초에 대한 제초활성이 상대적으로 높았던 EK3150이 ACCase에 대해서는

EK3143보다 오히려 낮은 저해활성을 나타내었다. 한편 색소감소 정도가 신장저해보다 빨리 나타나는 norflurazon 및 EK3140 처리에서와는 달리, EK3143과 EK3150 처리에서는 색소감소보다 신장저해가 보다 빠르게 나타나 다른 저해양상을 보였다. 이상의 결과로 보아 EK3143과 EK3150은 ACCase 이외에 다른 작용점을 추가로 저해하는 것으로 생각되며, 약간의 구조변경에 따라 제초작용점간의 결합정도에 차이가 생김으로써 생육저해 또는 백화증상이 서로 비중을 달리하여 나타나는 것으로 추정된다.

인 용 문 헌

1. 김진석 · 김태준 · 김영섭 · 조광연. 1994. 새로운 백화형 디페닐에테르계 화합물 KC-6361의 제초작용기작. 한잡초지. 14(2) : 81 - 93.
2. 김길웅 · 박재읍. 1997. 제초제 cyhalofop-butyl ester의 벼와 피간의 선택성기작. III. 흡수, 전이 및 대사. 한잡초지 17(2) : 185 - 191.
3. 박재읍 · 이인용 · 박태선 · 유갑희 · 김영구 · 김길웅. 1997. 제초제 cyhalofop-butyl ester의 벼와 피간의 선택성기작. IV. 효소활성, 지방산 및 단백질합성에 미치는 영향. 한잡초지 17(2) : 192 - 198.
4. Alban C., P. Baldet and R. Douce. 1994. Localization and characterization of two structurally different forms of acetyl-CoA carboxylase in young pea leaves, of which one is sensitive to aryloxyphenoxypropionate herbicides. Biochem. J. 300 : 557 - 565.
5. Asare-Boamah N.K. and R.A. Fletcher. 1983. Physiological and cytological effects of BAS 9052 OH on corn (*Zea mays*) seedlings. Weed Sci. 31 : 49 - 55.
6. Ashton I.P., K.O. Abulnaja, K.E. Pallett, D.J. Cole, and J.L. Harwood. 1992. Diflufenican, a carotenogenesis inhibitor, also reduces acyl lipid synthesis. Pestic. Biochem. Physiol. 43

- : 14 - 21.
7. Ashton I.A., K.O. Abulnaja, K.E. Pallett, D.J. Cole, and J.L. Harwood. 1994. The mechanism of inhibition of fatty acid synthase by the herbicide diflufenican. *Phytochemistry* 35(3) : 587 - 590.
 8. Bailey A., J. Keon, J. Owen and J. Hargreaves. 1995. The *ACCl* gene, encoding acetyl-CoA carboxylase, is essential for growth in *Ustilago maydis*. *Mol. Gen. Genet.* 249 : 191 - 201.
 9. Barry P. and K.E. Pallett. 1988. The effect of diflufenican on pigment levels in carotenogenic systems. *Proc. EWRS Symp.*, 51.
 10. Betts K.J., N.J. Ehlike, D.L. Wyse, J.W. Gronwald and D.A. Somers. 1992. Mechanism of inheritance of diclofop resistance in italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Sci.* 40 : 184 - 189.
 11. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 : 248 - 254.
 12. Burton J.D., J.W. Gronwald, R.A. Keith, D.A. Somers, B.G. Gengenbach and D.L. Wyse. 1991. Kinetics of inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by sethoxydim and haloxyfop. *Pestic. Biochem. Physiol.* 39 : 100 - 109.
 13. Cho K.Y., J.S. Kim and K.S. Hong. 1997. Physiological action characteristics of *m*-substituted diphenylethers, TOPE and KC6361. *J. Weed Sci. Tech.* 42(4) : 307 - 317.
 14. Devine M.D., S.A. MacIsaac, M.L. Romano, and J.C. Hall. 1992. Investigation of the mechanism of diclofop resistance in two biotypes of *Avena fatua*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 42 : 88 - 96.
 15. Devine M.D., S. Renault and X. Wang. 1993. Alternative mechanisms of resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibitors in grass weeds. Brighton Crop Protection Conference-Weeds. Vol. 2 : 541 - 548.
 16. Devine M.D. 1997. Mechanism of resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors : a review. *Pestic. Sci.* 51(3) : 259 - 264.
 17. Golz A., M. Focke, and H.K. Lichtenthaler. 1994. Inhibitors of *de novo* fatty acid biosynthesis in higher plants. *J. Plant Physiol.* 143 : 426 - 433.
 18. Gronwald J.W. 1991. Lipid biosynthesis inhibitors. *Weed Sci.* 39 : 435 - 449.
 19. Herbert D., D.J. Cole, K.E. Pallett, and J.L. Harwood. 1996. Susceptibilities of different test systems from maize (*Zea mays*), *Poa annua*, and *Festuca rubra* to herbicides that inhibit the enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. *Pestic. Biochem. Physiol.* 55 : 129 - 139.
 20. Herbert D., K.A. Walker, L.J. Price, D.J. Cole, K.E. Pallett, S.M. Ridley, and J.L. Harwood. 1997. Acetyl-CoA carboxylase-a graminicide target site. *Pestic. Sci.* 50 : 67 - 71.
 21. Hosaka H., H. Inaba, A. Satoh and H. Ishikawa. 1984. Morphological and histological effects of sethoxydim on corn (*Zea mays*) seedlings. *Weed Sci.* 32 : 711 - 721.
 22. Incedon B.J. and C.J. Hall. 1997. Acetyl-coenzyme A carboxylase : quaternary structure and inhibition by gramincidal herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 57(3) : 255 - 271.
 23. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids : pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymol.* 148 : 350 - 382.
 24. Marles M.A.S., M.D. Devine and J.C. Hall. 1993. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. *Pestic. Biochem. Physiol.* 46 : 7 - 14.
 25. Rendina A.R. and J.M. Felts. 1988. Cyclohexanedione herbicides are selective and po-

- tent inhibitors of acetyl-CoA carboxylase from grasses. *Plant Physiol.* 86 : 983 - 986.
26. Sandmann G. and P. Boger. 1992. Chemical structure and activity of herbicidal inhibitors of phytoene desaturase. *In Rational approaches to structure, activity, and ecotoxicology of agrochemicals*(eds by Draber W. and T. Fujita) pp. 357 - 371, CRC Press, London.
 27. Sasaki Y., T. Konishi and Y. Nagano. 1995. The compartmentation of acetyl-coenzyme A carboxylase in plants. *Plant Physiol.* 108 : 445 - 449.
 28. Shimabukuro R.H., W.C. Walsh and R.A. Hoerauf. 1979. Metabolism and selectivity of diclofop-methyl in wild oat and wheat. *J. Agric. Food Chem.* 27 : 615 - 623.
 29. Shimabukuro R.H. and B.L. Hoffer. 1996. Induction of ethylene as an indicator of senescence in the mode of action of diclofop-methyl. *Pestic. Biochem. Physiol.* 54 : 146 - 158.
 30. Stoltenberg D.E., J.W. Gronwald, D.L. Wyse, J.D. Burton, D.A. Somers and B.G. Gengenbach. 1989. Effect of sethoxydim and haloxyfop on acetyl-coenzyme A carboxylase activity in *Festuca* species. *Weed Sci.* 37 : 512 - 516.
 31. Tardif F.J., J.A.M. Holtum and S.B. Powles. 1993. Occurrence of a herbicide resistant acetyl-coenzyme A carboxylase mutant in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) selected by sethoxydim. *Planta.* 190 : 176 - 181.
 32. Trebst A. and B. Depka. 1997. Role of carotene in the rapid turnover and assembly of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Letters* 400 : 359-362.
 33. Wang X-M, D.F. Hildebrand, H.A. Norman, M.L. Dahmer, J.B. St. John and G.B. Collins. 1987. Reduction of linolenate content in soybean cotyledons by a substituted pyridazinone. *Phytochemistry* 26 : 955 - 960.
 34. Wood Mackenzie. 1998. Agrochemical service. Update of the products section. pp. 40 - 43, Edinburg, Wood Mackenzie.
 35. Yenne S.P. and K.K. Hatzios. 1989. Influence of oxime ether safeners and metolachlor on acetate incorporation into lipids and on acetyl-CoA carboxylase of grain sorghum. *Pestic. Biochem. Physiol.* 35 : 146 - 154.