

## Paraquat 저항성 망초의 protective 효소

김희주 · 황을철\*

동아대학교 생명자원과학대

**초 록 :** 망초(*Conyza bonariensis*)에서 제초제 paraquat의 저항성을 구명하기 위해 paraquat가 생성하는 superoxide 라디칼과 과산화수소 등의 유해 산소 물질을 제거하는 데에 관련된 효소의 활성을 저항성 종과 감수성 종의 망초에서 측정하였다. 경작지 부근에 자라는 망초는 비경작지에 자라는 망초에 비해 paraquat에 저항성이 강하였다. 국내에서 paraquat를 자주 살포하는 지역에서 저항성 종의 망초가 출현하고 있음을 처음으로 보고한다. 저항성 종의 superoxide dismutase의 활성, ascorbate peroxidase의 활성, 그리고 glutathione reductase의 활성은 감수성 종의 그것에 비해 각각 약 20%, 44%, 그리고 64% 높게 나타났다. 이러한 결과로부터 paraquat에 대한 망초의 저항성은 superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, 그리고 glutathione reductase 등으로 구성된 효소의 유해 산소 물질을 제거하는 효율성에 부분적으로 달려 있을 수 있다고 사료된다. (1999년 9월 28일 접수, 1999년 12월 15일 수리)

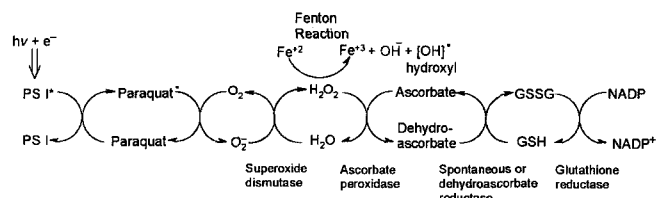
### 서 론

비선택성 제초제인 paraquat는 전 세계적으로 가장 광범위하게 사용되어온 약제의 하나이며,<sup>1)</sup> 국내에서는 이 약제의 사용량은 꾸준히 증가해 왔으나 1995년에 1,768톤(유효성분량)으로 정점에 이른 후에 점차 감소하는 추세에 있다. 그러나 1997년 현재에도 그 사용량은 유효성분 기준으로 1,366톤에 이르고 있으며 국내에서 사용되는 비선택성 제초제의 절반을 차지하고 있다.<sup>2)</sup>

노동력 절감과 수확량 증대를 위한 제초제의 사용량 증가와 반복된 살포로 인해 저항성 종이 출현하게 되었다.<sup>3)</sup> 실제로 1958년 이후 atrazine과 simazine을 매년 1회 내지 2회 살포한 지역에서 개쑥갓(*Senecio vulgaris*)의 저항성 획득이 1968년에 처음 보고된 이후 인도와 일본에서 망초(*Conyza bonariensis*)가 paraquat에 대해 저항성을 획득했다고 보고되었는데, 이 두 국가에서는 paraquat를 매년 4회 이상 살포한 것으로 알려졌다.<sup>3,5)</sup>

Paraquat에 대한 식물체의 저항성 메커니즘을 규명하기 위하여 여러 각도에서 연구가 이루어지고 있다. Paraquat 자체의 무독성화 대사, 큐티클층의 농약투과도, 죽은 조직에로의 격리(sequestration), 작용점의 변화, 효소에 의한 paraquat가 생성하는 유해 산소 물질의 제거 등에 의해 식물체에서 저항성이 발현되는 것으로 제안되었다.<sup>6-12)</sup> Paraquat에 의한 독작용은 처리 후 생성되는 superoxide 라디칼, hydroxyl 라디칼 등과 hydrogen peroxides에 의해 야기되는 것으로 알려졌다.<sup>6-12)</sup> 식물 세포 내로 흡수된 paraquat 2가 양이온은 엽록체 내의 전자전달 체계로부터 1개의 전자를 획득하여 1가 양이온으로 환원되고 즉시 산소분자에 의해 재 산화되는 과정을 거치게 되는데 이 과정에서 O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Superoxide radical)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등의 과산화물이

생성된다.<sup>6-12)</sup> 이렇게 생성된 O<sub>2</sub><sup>-</sup>과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등의 유해 산소 물질은 세포 내에 일정 농도 이상으로 존재할 경우 세포막의 주요 구성성분인 불포화 지방산을 매우 빠른 속도로 산화시켜 막의 투과성과 완전성을 손상할 뿐만 아니라 CO<sub>2</sub> 고정을 저해하고 결국은 식물을 죽음에 이르게 한다.<sup>6-12)</sup> 이러한 유해 산소 물질들을 재빨리 제거시킬 수 있는 능력의 차이가 저항성 발현의 직접적인 요인인 것으로 알려져 있다.<sup>7,13,14)</sup> 이와 관련해서, paraquat가 유발한 유해 산소 물질의 무독성화 또는 제거 과정에는 일련의 3-4가지 효소 즉, superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase, 그리고 glutathione reductase 등이 관련되어 있으며 상호 작용의 전체 흐름도는 아래의 그림과 같다.<sup>13,14)</sup>



The formation of toxic oxygen species on the presence of paraquat, light, and superoxide dismutase. Superoxide radical can be detoxified by a related pathway using three or four enzymes.

최근 10년간 국내에서 paraquat 사용량은 유효성분으로 14,370 톤에 이르는 정도의 많은 양을 사용했다.<sup>2)</sup> 과수원 등의 농경지 또는 농수로에 서식하는 망초가 비선택성 제초제인 paraquat에 더 이상 잘 방제되지 않는다는 농민들의 제보를 1995년 8월에 듣고, 부산, 경남 지역에서 이를 수차 확인하였다. 실제 이러한 저항성을 획득한 망초가 출현하여 일부 농민은 제초체계를 바꾸고 있었다. 본 실험에서는 위에서 언급한 무독성화 메커니즘을 저항성 종이 발견되는 망초에 적용시켜 세 가지 보호 효소(protective enzymes)의 활성을 저항성 종과 감수성 종에서 비교하여 제초제 paraquat에 대한 망초의 저항성 메커니즘을 구명하고자 하였다.

찾는말 : 망초(*Conyza bonariensis*), paraquat, resistance, superoxide dismutase  
 \*연락처

## 재료 및 방법

### 시약

Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) 표준품 (순도 98%)은 Fluka사에서 구입하여 사용하였으며 본 실험에서 사용된 그 이외의 모든 시약들은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

### 종자

Paraquat의 사용량과 사용빈도가 다를 것으로 예상되는 지역, 즉 함안과 함천 지역의 농로주변과, 김해와 부산 지역의 농가주변과 산기슭에서 자라는 망초의 씨앗을 채취하여 4°C에서 보관하여 사용하였다.

### 식물재배

채취한 망초 종자를 perlite, peat moss, vermiculite (5:3:2)의 혼합 배양토에 과중한 후 성장상(25±3°C, 16h light, 8h dark)내에서 발아 시켰다. 발아 15일 경과 후 건실하게 자란 유묘를 포트에 옮겨 심었다. 생육적기의 자연조건에서 매일 1차례 수분을 공급하면서 재배하였으며 발아 30일 후에는 포장에 옮겨 심어 재배하면서 실험에 필요한 시료를 취하였다.

### 저항성 종과 감수성 종의 선별

발아 후 60일 경의 성체 식물체 경엽에 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-3</sup>, 그리고 10<sup>-2</sup> M의 paraquat 표준용액을 농도별로 약액이 충분히 묻을 정도로 처리하여 12시간 경과한 후에 약해를 조사하여 겉보기 등급 (visual rating)으로 표시하였다. 약해 증상을 조사한 결과 10<sup>-3</sup> M 처리농도에서 저항성 종과 감수성 종을 선별하는 것이 용이하였기 때문에 망초 식물체에 10<sup>-3</sup> M 농도의 paraquat 표준용액을 소형 분무기로 국부적으로 일부 잎에만 처리하여 12시간 경과 후에 약해 정도에 따라 약해를 거의 보이지 않는 것을 저항성 종으로, 완전히 시드는 것을 감수성 종으로 구분하였다.

### 효소의 활성 측정

저항성 종과 감수성 종에서 채취한 잎을 약 4°C의 물로 씻은 후 각각 0.1g을 취하고 이어 0.1 mM EDTA와 40 mM Na-ascorbate를 함유한 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.8) 5 ml를 가하여 마쇄기 polytron을 이용하여 4°C에서 8,400 rpm으로 30초간 마쇄하였다. 마쇄액을 두 겹의 가체를 통해 여과시키고 그 여과액을 4°C에서 25,000 rpm으로 30분간 원심분리하였다. 상등액만 따로 받아 효소의 활성을 측정하기 위한 조추출물로 사용하였다.<sup>14,15)</sup> 이 조추출물은 엽록체와 세포질을 구분하지 않은 총세포추출물(total cell extracts)이다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 Bradford의 방법을 따라 측정하였다.<sup>16)</sup>

Beauchamp와 Fridovich<sup>15)</sup>의 방법에 따라 superoxide dismutase의 활성을 측정하였다. 15 ml 용량의 시험관에 1.17×10<sup>-6</sup> M riboflavin, 0.01 M methionine, 2.0×10<sup>-5</sup> M sodium-cynide, 5.6×10<sup>-5</sup> M nitro blue tetrazolium (NBT), 0.05 M

potassium phosphate (pH 7.8), 그리고 단백질량으로 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 그리고 3.5 g에 상당하는 각각의 조추출물을 가하여 전체부피가 3 ml가 되게 했다. 알루미늄 박지로 안을 댄 상자에 상기 시험관을 넣고 10 cm거리에서 7분간 27 와트의 형광등으로 빛을 조사하면서 반응을 진행시킨 후 10분 이내에 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nakana와 Asada<sup>17)</sup>의 방법에 따라 ascorbate peroxidase의 활성을 측정하였다. 50 mM potassium phosphate (pH 7.0), 0.5 mM ascorbate, 0.1 mM EDTA와 단백질량으로 30 g에 상당하는 조추출물을 넣고 전체부피가 1 ml가 되게 했다. 추출물을 가한 시점으로부터 15초 후부터 290 nm에서의 흡광도 변화를 매 3분마다 18분간 측정하였다. 식물 추출액 없이 위의 반응을 진행시켜 비효소적으로 일어나는 흡광도 변화를 측정하였고 각 시료의 ascorbate peroxidase 활성은 개개의 흡광도 변화율에서 비효소적 흡광도 변화율을 뺀 값으로 나타냈다.

Glutathione reductase 활성은 Foyer와 Halliwell<sup>18)</sup> 방법에 따라 측정하였다. EDTA 3 mol, 산화형 glutathione (GSSG) 10 mg, Tris buffer (pH 7.5) 260 mol과 단백질 량으로 30 g에 상당하는 조추출물을 가하여 전체부피가 3 ml가 되게 했다. 조추출물을 가한 시점으로부터 15초 후부터 340 nm에서의 흡광도 변화를 매 50초마다 250초간 측정하였다. 각 시료의 효소활성은 개개의 흡광도 변화율에서 GSSG를 첨가하지 않고 얻은 흡광도 변화율을 뺀 값으로 나타냈다.

## 결과 및 고찰

### 저항성종의 출현과 선별

paraquat에 노출되는 빈도가 비교적 많은 농수로 주변(함천과 함안 지역)과 그렇지 않을 것으로 예상되는 야산의 기슭(부산과 김해 지역)에 서식하는 망초의 씨앗을 채취하여 발아후 60일경의 망초에 paraquat 표준용액을 농도별로 살포하여 관찰한 약해는 Table 1과 같다. Table 1에서 보는 바와 같이 대체로 함천과 함안 지역의 농경지 수로에 서식하는 망초 종은 부산과 김해지역의 비농경지에서 서식하는 망초 종에 비하여 paraquat 처리에 약해를 덜 받았다. 그러나 개체별로는 함천과 함안 지역의 망초가 김해나 부산지역의 망초와 같거나 같은 정도의 약해를 받는 것도 있었고 그 역도 마찬가지였다. 이로써, 일본과 서구에서는 오래 전에 paraquat에 저항성을 띠는 망초가 출현했음이 보고되었으나,<sup>4)</sup> 국내에서 저항성종이 출현했음을 처음으로 확인할 수 있었다. 또한 앞으로 망초는 국내에서도 농수로와 과수원 등에서 문제 잡초가 될 것으로 예상되며 그 방제 체계를 바꿀 필요가 있을 것으로 판단한다. 서식지에 따라 저항성 종과 감수성 종을 선별하는데는 무리가 있었으므로 비교적 저항성 종과 감수성 종을 판별하는데 용이한 10<sup>-3</sup> M 농도에서의 paraquat를 성체의 망초에 국부적으로 일부 잎에만 처리하여, 약해 증상에 따라 판별이 명확하지 않은 것은 제외시키고 확연한 것만 골라 서식지에 관계없이 Table 1의 ++++ 증상을 보이는 것을 저항성 종으로 그리고 + 증상을 보이는 것을 감수성 종으로 분류하였다(Fig. 1).

**Table 1. Relative phytotoxicity of established plants\*, *Conyza bonariensis*\*\* treated with paraquat**

Inhabitation Area	District	Concentration of paraquat (M)				
		Untreated	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-2</sup>
Cultivated	Hapchon	+++++	+++++	+++++	++	+
	Haman	+++++	+++++	+++++	++++	++
Uncultivated	Pusan	+++++	+++++	++++	+	+
	Kimhae	+++++	+++++	++++	+	+

\* Plants grown for 60 days after germination.

\*\* Ten plants per treatment were tested.

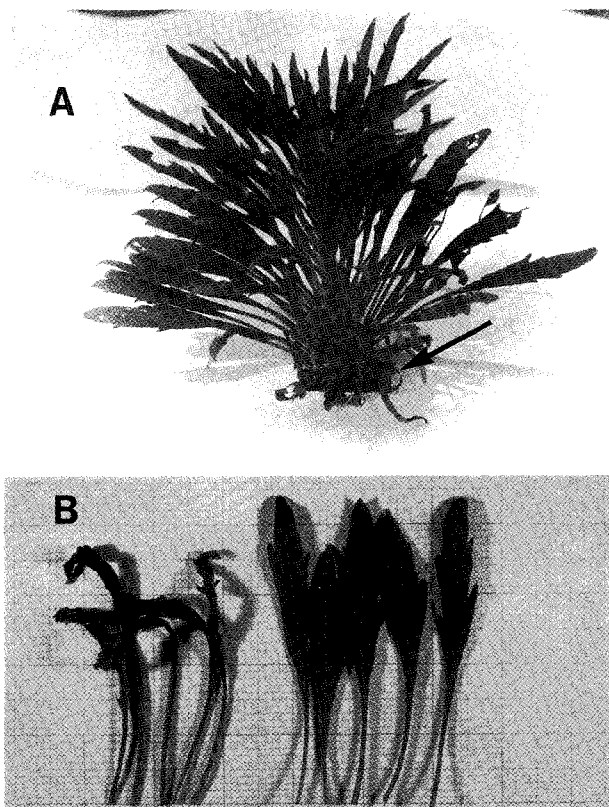
+++++ : no visual signs of damage.

++++ : signs of damage.

+++ : pronounced damage.

++ : almost complete damage.

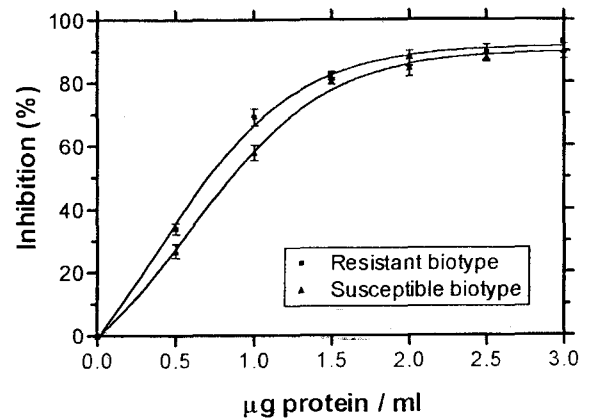
+ : full damage.



**Fig. 1. Phytotoxicity of *Conyza bonariensis*.** A: *Conyza bonariensis* locally treated with 10<sup>-3</sup> M paraquat. Arrow indicates the treated spot. B: Leaves detached from the susceptible (left) and resistant (right) biotype locally treated with 10<sup>-3</sup> M paraquat.

**SOD 활성**

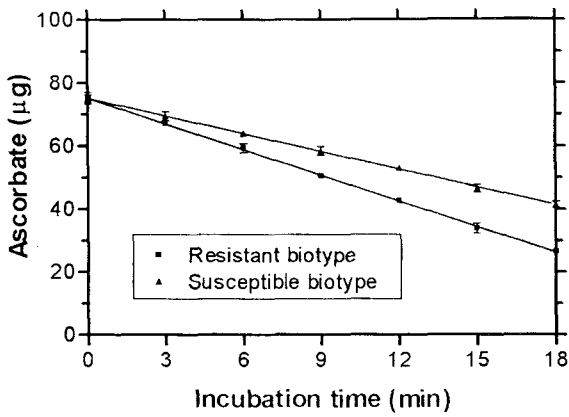
저항성 종과 감수성 종의 SOD 활성은 이 효소에 의한 NBT의 환원을 저해하는 정도로 표시하였으며 결과는 Fig. 2와 같다. 저항성 종과 감수성 종간의 SOD 활성 차이는 50% 저해도 (I<sub>50</sub>)로 표현한 SOD활성에서 저항성 종이 감수성 종에 비해 약 20% 더 높았다. 실험조건에 따라 또는 생육시기에 따라 약간의 편차는 있었고 심지어 감수성 종에서 SOD 활성이 더 높게 나타나기도 하였다. 이러한 결과는 Haper와 Harvey<sup>11)</sup>가 다년생 호밀풀(ryegrass)의 총세포추출물에서 측정된 결과와 유사하였다. 한편 Shaaltiel과 Gressel<sup>14)</sup>은 총세포추출물에서 감수성



**Fig. 2. Inhibition of NBT reduction by superoxide dismutase in total cell extracts of resistant and susceptible biotypes.** Cuvets contained 5.6×10<sup>-5</sup> M NBT, 1.0×10<sup>-2</sup> M methionine, 1.17×10<sup>-6</sup> M riboflavin, 2×10<sup>-5</sup> M sodium cyanide, 0.05 M potassium phosphate and total cell extracts as enzyme solution corresponding to 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, and 3.0 µg of protein in total volume of 3.0 ml at 30°C, pH 7.8. Reduction of NBT, during 7 min of illustration, was measured in terms of increased absorbance at 560 nm and inhibition (%) caused by superoxide dismutase was plotted as function of protein concentration in the cell extract. Values are means EM (n = 3-5).

종의 SOD 활성이 오히려 더 높았으나 손상되지 않은 엽록체에서는 저항성 종의 SOD활성이 감수성 종의 그것에 비해 60% 높았다고 보고하였다.

SOD의 활성이 연구자에 따라 또는 실험조건에 따라 상반되게, 다시 말하여 저항성과 관련이 있는 것으로 또는 그렇지 않은 것으로 보고되는 것은<sup>7)</sup> 효소 추출시 총세포추출물에 엽록체내의 SOD가 얼마나 유출되느냐에 달려 있는 것으로 추측한다. 저항성 종과 감수성 종에서 약 20%라는 SOD활성 차이만으로는 paraquat에 대한 망초의 저항성을 설명하기에는 다소 무리가 있을 것으로 생각한다. 그러나 superoxide 라디칼이 SOD에 의해 제거될지라도 동시에 또 다른 독성물질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 같은 과산화물을 생성하므로 이러한 과산화물의 제거에 연이어 관련되어 있는 ascorbate peroxidase와 glutathione reductase의 활성 또한 paraquat에 의한 식물체의 저항성에 또한 충분히 기여할 것으로 생각한다.



**Fig. 3. Ascorbate peroxidase activity.** The reaction mixtures contained 50 mM potassium phosphate, 0.5 mM ascorbic acid, 0.1 mM hydrogen peroxidase, 0.1 mM EDTA and total cell extracts as enzyme solution corresponding to 30 µg of protein in total volume of 1 ml at 25°C, pH 7.8. Ascorbate peroxidase activity was measured as a decrease in absorbance at 290 nm. Values are means  $\pm$  EM (n=3).

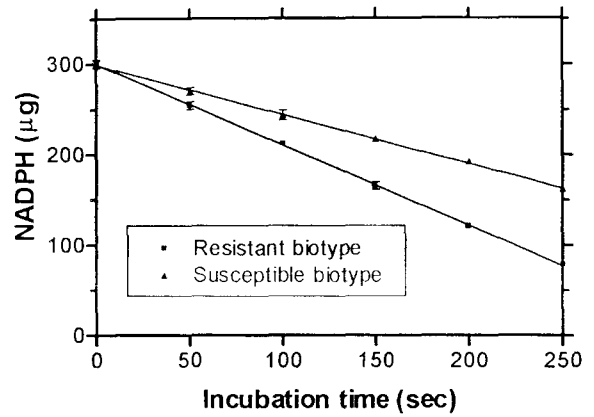
### Ascorbate peroxidase 활성

Ascorbate peroxidase 활성은, 기질인 ascorbate의 전환율을 Fig. 3과 같다. 저항성 종의 효소활성은 µg ascorbate/µg protein, min으로 표현하였을 때 감수성 종의 활성에 비해 44% 높았다. Harper와 Harvey<sup>11)</sup>는 paraquat에 반응을 달리하는 저항성 4종과 감수성 11종의 total cell extracts에서 ascorbate peroxidase의 활성을 비교 검토하였는데, 저항성 종에서의 ascorbate peroxidase 활성이 감수성 종의 그것에 비해 25% 더 높은 것으로 나타났으며, 이 결과는 손상되지 않은 엽록체에서도 유사하였다. 따라서 본 실험에서 얻은 결과는 Harper와 Harvey<sup>11)</sup>의 결과와 매우 유사했으며 이 효소의 활성의 차이도 망초의 저항성에 기여하고 있을 것으로 생각한다.

### Glutathione reductase 활성

Glutathione reductase 활성은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 340 nm에서 기질인 NADPH의 전환율로 나타내었다. µg NADPH/µg protein, sec로 표현한 저항성 종의 효소활성은 감수성 종의 활성에 비해 64% 높았다. 이것은 이 효소의 높은 활성으로 인해 환원형 GSH의 생성속도가 빨라서 충분한 양의 전자를 dehydroascorbic acid에 공급할 수 있기 때문에 ascorbate peroxidase의 기질인 ascorbic acid를 많이 생성함으로써 superoxide 제거에 관련된 일련의 반응체계가 순조롭게 진행되게 한다는 것을 의미한다.

Shaaltiel과 Gressel<sup>14)</sup>은 paraquat에 저항성 종과 감수성 종의 망초를 선별하여 손상되지 않은 엽록체에서 SOD, ascorbate peroxidase, glutathione reductase 세 효소의 활성을 측정된 결과, 저항성 종에서의 세 효소 활성은 감수성 종의 그것에 비해 각각 60%, 50%, 92% 높은 것으로 보고하였으나 엽록체와 세포질을 합한 총세포추출물(total cell extracts)에서의 효소활성은 저항성 종과 감수성 종 모두에서 비슷하게 나타났다고 보고했다. 그러나 Harper와 Harvey<sup>11)</sup>는 paraquat에 저항성을 획득한 다년생 호밀풀 4종과 감수성 11종의 총세포추출물에서 수용성



**Fig. 4. Glutathione reductase activity.** The reaction mixtures contained 3 mmol EDTA, 10 mg GSSG, 0.3 mg NADPH, 260 µmol tris buffer, and total cell extracts as enzyme solution corresponding to 30 µg protein in total volume of 3 ml at 25°C, pH 7.5. Glutathione reductase activity was measured as a decrease in NADPH absorbance at 340 nm. Values are means  $\pm$  EM (n=3).

단백질량과 세 효소의 활성을 측정하였는데, 수용성 단백질량에서는 저항성 종과 감수성 종간에 차이가 인정되지 않았으나, superoxide 라디칼 제거에 관련된 효소 즉 SOD, catalase, 그리고 peroxidase의 활성면에서는 저항성 종이 감수성 종에 비해 모두 유의성을 인정할 만큼 높게 나타났다고 보고하였다.

Paraquat의 작용으로 인해 세포에 유해한  $O_2^-$ 가 엽록체 내에서 생성되지만 이 라디칼은 엽록체 막 바깥으로 확산해 나갈 수 있을 만큼 세포 내에서는 충분히 안정하다.<sup>10,19)</sup> Paraquat 처리 후 엽록체 내에서 독성효과가 나타나기 이전에 tonoplast와 plasmalemma가 먼저 손상을 입는다는 연구 결과도 있다.<sup>20,22)</sup> 물론  $O_2^-$  뿐만 아니라  $H_2O_2$ 도 막 바깥으로 자유롭게 확산되어 나갈 수 있기 때문에,<sup>20,22)</sup> paraquat의 무독성화에 직접 관련된 세 효소는 엽록체 내에서뿐만 아니라 세포질에서도 유해 물질들을 제거할 것으로 추정되었다. 이러한 가정 하에서 수행된 실험의 결과로부터, 저항성화의 한 원인으로 알려진<sup>6,7,13,14)</sup> 세 효소 즉, SOD, ascorbate peroxidase, glutathione reductase의 활성이 저항성 종에서 감수성 종보다 각각 20%, 44%, 64%가 높은 것으로 확인되었다. 비록 두 종간 개개 효소의 활성차이는 충분히 크지 않았지만 전체적으로는 이러한 차이로 인해 문턱독성(threshold toxicity)이 크게 차이가 날 수 있다.<sup>14)</sup> 이들 보호 효소(protecting multienzymatic system)의 활성이 높다는 것은 물론 paraquat 그 자체를 효율적으로 제거한다는 것을 의미하지는 않는다. Fuerst 등은 paraquat에 대한 망초의 저항성 연구에서<sup>6,9,23)</sup> 저항성은 paraquat가 생성한 유해 산소 물질을 제거하는 보호 효소에 관련되어 있을 것 같지 않고 오히려 변화된 작용점, 큐티클층의 투과도, 또는 paraquat 자체의 대사에 더 관련되어 있다고 주장한다. 그러나 이들 보호 효소의 높은 활성은 paraquat에 의해 생성된  $O_2^-$ 를 효율적으로 제거함으로써 paraquat를 죽은 조직인 액포와 세포벽 등에 효과적으로 격리하거나 또는 유폐시키는 것에도 기여할 것으로 추측한다. 물론 paraquat에 대한 망초의 저항성은 한 가지 특정 메커니즘에 의해서라기보다는 여러 요인에 의해 복합적으로 발현될 가능성은

를 것으로 간주된다. 유해 산소 물질의 제거에 관련된 보호 효소의 효율성은 망초의 저항성 발현에 부분적으로 기여할 것이라고 사료된다.

### 참고문헌

1. LeBaron, H. M. (1982) In 'Introduction: Herbicide Resistance in Plants', LeBaron, H. M. and Gressel, J., 1st Ed., Chap.1, John Wiley & Sons, Inc., U.S.A.
2. Agricultural Chemicals Industrial Association (1998, 1995, and 1991) Agrochemical Year Book.
3. Mortimer, A. M. (1997) Phenological adaptation in weeds-an evolutionary response to the use of herbicides. *Pestic. Sci.* **51**, 299-304.
4. Heap, I. M. (1997) The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pestic. Sci.* **51**, 235-243.
5. Watanabe, Y., Honma, T., Ito, K. and Miyahara, M. (1982) Paraquat resistance in *Erigeron philadelphicus* L. *Weed Research (Japan)* **27**, 49-53.
6. Fuerst, E. P. and Vaughn, K. C. (1990) Mechanisms of paraquat resistance. *Weed Technol.* **4**, 150-156.
7. Preston, C. (1994) In 'Resistance to Photosystem I Disrupting Herbicides: Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry', Powels, S. B. and Holtum, J. A. M., 1st Ed., Chap. 3, CRC Press Inc., U.S.A.
8. Chun, J. C., Ma, S. Y., Kim, S. E. and Lee, H. J. (1997) Physiological responses of *Rhehmannia glutinosa* to paraquat and its tolerance mechanisms. *Pestic. Biochem. Physiol.* **59**, 51-63.
9. Norman, M. A. and Fuerst, E. P. (1997) Interactions of cations with paraquat in leaf sections of resistant and sensitive biotypes of *Conyza bonariensis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **57**, 181-191.
10. Harvey, B. M. R. 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.
11. 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.
12. Halliwell, B. (1978) Biochemical mechanisms accounting for toxic action of oxygen on living organisms: the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol. International Reports* **2**, 113-128.
13. Shaaltiel, Y. and Gressel, J. (1987) In 'Biochemical Analysis of Paraquat Resistance in *Conyza* Leads to Pinpointing Synergists for Oxidant Generating Herbicides: Pesticide Science and Biotechnology', Greenhalgh, G. and Roberts, T. R., 1st Ed., Blackwell Scientific Publications, U.S.A.
14. Shaaltiel, Y. and Gressel, J. (1986) Multienzyme oxygen radical detoxifying system correlated with paraquat resistance in *Conyza bonariensis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **26**, 22-28.
15. Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
16. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
17. Nakana, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiol.* **22**, 867-880.
18. Foyer, C. H. and Halliwell, B. (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta* **133**, 21-25.
19. Farrington, J. A., Ebert, M., Land, E. J. and Fletcher, K. (1973) Bipyrilidylum quaternary salts and related compounds: V. pulse radiolysis studies of the reaction of paraquat radical with oxygen. implications for the mode of action of bipyrilidylum herbicides. *Biochimica et Biophysica Acta* **314**, 372-381.
20. Harris, N. and Dodge, A. D. (1972) The effect of paraquat on flax cotyledon leaves: changes in fine structure. *Planta* **104**, 201-209.
21. Baur, J. R., Bovey, R. W., Baur, P. S. and El-Seify, Z. (1969) Effects of paraquat on the ultrastructure of mesquite mesophyll cells. *Weed Research* **9**, 81-85.
22. Harvey, B. M. R. and Fraser, T. W. (1980) Paraquat tolerant and susceptible perennial ryegrasses: effects of paraquat treatment on carbon dioxide uptake and ultrastructure of photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* **3**, 107-117.
23. Vaughn, K. C. and Fuerst, E. P. (1985) Structural and physiological studies of paraquat-resistant *Conyza*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **24**, 86-94.

---

**Protective Enzymes of Paraquat-Resistant *Conyza bonariensis***

Hee-Joo Kim and Eul-Chul Hwang\*(*College of Life Science and Natural Resources, Dong-A university, Hadan, Saha, Pusan, 604-714, Korea*)

**Abstract :** The resistance of *Conyza bonariensis* to herbicide paraquat was investigated by evaluating the activities of three enzymes concerning in scavenging paraquat-generated toxic oxygen species such as superoxide radical and hydrogen peroxide in resistant and susceptible biotypes. *Conyza bonariensis* inhabited in cultivated area was more tolerant to paraquat than that of uncultivated area. This is the first report that a biotype of *Conyza bonariensis* has appeared in an area with repeated paraquat treatments of Korea. Superoxide dismutase activity of resistant biotype was 20% higher as I50 than that of susceptible biotype. Ascorbate peroxidase activity of resistant biotype was 44% higher than that of susceptible biotype. Glutathione reductase activity of resistant biotype was 64% higher than that of susceptible biotype. It can be concluded from above results that the resistance of *Conyza bonariensis* to paraquat depends partially on the toxic oxygen species-scavenging efficiency of protective multienzymatic system which is composed of three enzymes, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase.

---

Key words : *Conyza bonariensis*, paraquat, resistance, superoxide dismutase

\*Corresponding author