

除草劑가 土壤環境中 酵素活性에 미치는 影響

金章億·洪鍾旭
慶北大學校 農科大學 農化學科

Effects of Herbicides on Enzyme Activities in Soil Environment

Jang-Eok Kim and Jong-Uck Hong

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,
Kyungpook National University, Taegu, Korea

Abstract

The effects of herbicides on biochemical processes in soil environment were studied by examining the effects of the chemical structure of each herbicides on soil enzyme activities and pesticides residue revealed when soil treated with urea was incubated at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ for 56 days. The inhibition effects of herbicides on soil enzyme activities in soil decreased in the order of urea group > dinoseb > propanil > diphenyl ether group > acid amide group for urease, and dinoseb > urea group > diphenyl ether group > acid amide group for L-glutaminase and protease, dinoseb > diphenyl ether group > urea group > acid amide group for phosphatase. Herbicides inhibited the activities of soil enzyme in the early stage of treatment but increased the activities of urease, L-glutaminase and protease in the late stage. When herbicides were treated in soil together with urea the degradation of insecticides was accelerated.

緒 論

土壤環境內에서 農藥의 使用으로 因해서 여러가지 問題들이 惹起된다고 報告되었다.¹⁻⁴⁾ 이러한 報告들중 土壤內 營養源의 生化學的인 轉換過程에 重要한 役割을 하는 土壤內의 酵素活性에 農藥이 어떤 影響을 미치는 가에 對해서 많은 研究가 있었고 本人等도 殺虫劑의 影響을 이미 報告한바 있다.⁵⁻⁹⁾

土壤內에 處理된 農藥中 이미 몇가지는 土壤內 酵素活性을 增加시켜서 間接的으로 微生物의 營養源으로 利用될 수 있으리란 可能性이 示唆된바 있다.¹⁰⁻¹³⁾

따라서 本 研究에서는 種類面에서 多樣해지고 있고 使用量面에서 增加하고 있는 除草劑들 중 窒素가 含有된 除草劑를 化學的인 그룹별로 分類하여 이들이 土壤內에서 殘留하면서 土壤內의 酵素

活性에 미치는 影響을 糾明하여 農藥의 分子構造內에 包含된 窒素가 土壤內의 窒素供給源으로 作用할 수 있는지를 間接的으로 밝히고자 하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 供試藥劑

本 實驗에 使用된 農藥은 窒素가 含有된 除草劑로서 一般名과 化學名은 Table 1과 같다. 使用된 農藥은 標準品 및 原劑이었으며 이를 acetone 혹은 methanol에 溶解하여 使用하였다.

2) 供試土壤

前報⁹⁾와 같은 밭土壤을 採取하여 風乾시킨 後 2mm篩를 通過한 細土를 使用하였다.

2. 實驗方法

供試土壤試料 20g을 100ml容量병에 取하여 urea를 10mg/100g soil 水準으로 施用하고 供試藥劑를 10mg(a.i.)/100g soil 水準으로 3反復 處理한 後 圃

1987년 6월 12일 수리

Corresponding author: J.U. Hong

Table 1. Common and chemical name of pesticides used for experiment

Pesticide	Common name	Chemical name
Herbicide	Nitrofen	2,4-dichlorophenyl 4-nitrophenyl ether
	Chloronitrofen	2,4,6-trichlorophenyl 4-nitrophenyl ether
	Chloromethoxynil	2,4-dichlorophenyl 3-methoxy 4-nitrophenyl ether
	Butachlor	N-(butoxymethyl)-2-chloro-2', 6'-diethylacetanilide
	Alachlor	2-chloro-2', 6'-diethyl-N-(methoxymethyl) acetanilide
	Propanil	3',4'-dichloropropionanilide
	Diuron	3-(3,4-dichlorophenyl)-1, 1-dimethylurea
	Linuron	3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea
	Dinoseb	2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol

Table 2. GLC-ECD(⁶³Ni) operating conditions for analysis of pesticides

G.C. condition	OV-17*		SE-30**	
	Nitrofen Chloronitrofen Chloromethoxynil	Butachlor Alachlor Propanil	Diuron Linuron	Dinoseb
Column temp.(°C)	220	190	150	180
Injector temp.(°C)	245	220	230	210
Detector temp.(°C)	260	250	200	230
Carrier gas(N ₂)(ml/min)	40	30	30	40
Chart speed(mm/min)	2.5	2.5	2.5	2.5

*2% OV-17 on Chromosorb W, HP(80~100mesh)

**5% SE-30 on Chromosorb W, HP(80~100mesh)

場容水量의 60%가 되게 調節하고 parafilm으로 막아서 28±1°C의 恒溫條件에서 1, 3, 7, 14, 28, 56. 日間培養하면서 酵素活性 및 農藥의 殘留量을 調査하였다.

調査한 酵素는 urease, L-glutaminase, protease, phosphatase이였으며 이들 酵素의 測定方法은 前報⁹⁾와 같이 하였다. 酵素活性의 阻害率은 다음 式과 같이 計算하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

여기서, A : 對照區의 酵素活性

B : 農藥이 處理된 土壤의 酵素活性

供試農藥의 殘留量의 測定은 acetone으로 抽出하여 濃縮시켜서 溶媒로 稀釋하여 GLC-ECD의 分析用 試料로 使用하였다. GLC-ECD의 直接分析이 어려운 dinoseb은 Deboer의 方法¹⁴⁾으로 만든 diazomethane으로 methylation시켜서 分析하였다.

GLC-ECD (Hitachi, 663-50)의 分析條件 및 methylation된 dinoseb의 chromatogram은 Table 2와 Fig. 1과 같다.

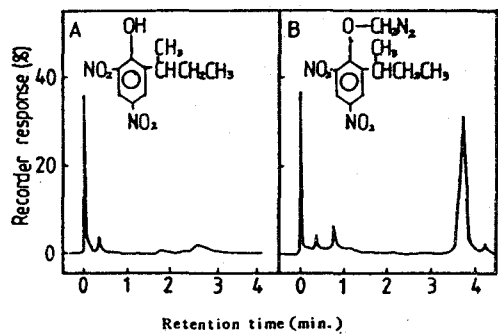


Fig. 1. Gas chromatograms of dinoseb (A) and methylated dinoseb (B)

結果 및 考察

1. Urease의 活性에 미치는 影響

除草劑의 處理가 土壤內에서 Urease의 活性에 미치는 影響은 Table 3과 같았다. 全般的으로 볼 때 處理初期에 Urease의 活性에 多少 影響을 미쳤으나 時間이 經過함에 따라 漸次的으로 減少되어 藥劑에 따라서는 14日 以後부터 影響을 미치지 않는 것도 있었으나 대체적으로 28日부터는 影響이 없었으며 活性을 增加시키는 그룹도 있었다.

藥劑別로는 處理 後 1日째에 Urea系인 linuron과 diuron이 각각 42.2%와 36.1%로 높은 沮害率을 보였으며 phenyl系인 dinoseb도 41%의 높은 沮害率을 나타내었다. 또한 산amide系 中에서 propanil이 32.5%의 沮害率을 보였으며 그 外의 다른 藥劑들에 있어서는 큰 差異가 없었으며 diphenylether系 및 산amide系 中 butachlor와 alachlor 등은 비슷한 沮害率을 나타내었다. 모든 處理區에서 時間이 經過함에 따라 沮害率이 測次的으로 減少하다가 56日째에는 diphenylether系인 nitrofen, chloronitrofen, chloromethoxynil, urea系인 diuron, linuron, phenyl系인 dinoseb 處理區에서 酵素活性을 약간 增加시키는 것으로 나타났다.

藥劑間의 化學構造에 따른 特徵的인 沮害現象으로는 urea系가 가장 높은 沮害를 나타내었는데 이러한 現象은 Cerevelli等^{15), 16)}이 jack bean urease는 urea系 除草劑의 Carbonyl group이 酸素原子에 結合하여 安定性이 있는 共鳴構造의 複合體를

形成하여 活性을 沮害시킨다는 研究結果와 一致한 것으로 推定된다.

處理後期에 diphenylether系, urea系 및 dinoseb이 urease의 活性을 增加시킨것은 이러한 藥劑들이 土壤微生物에 依해 分解, 吸收, 蓄積됨으로서 urease生成 微生物들의 基質로 利用된 것이 아닌가 推定된다. 이러한 事實로 미루어 볼때 活性을 增加시킨 藥劑들은 土壤內에서 分解되어 나오는 分解產物들을 微生物이 窒素原으로 利用할수 있으리란 可能性을 示唆하는 것이 아닌가 생각된다.

時間이 經過함에 酵素活性이 減少되는 것은 使用된 除草劑가 本 實驗條件에서의 分解半減期가 10日에서 20日일 程度이기 때문이 아닌가 생각된다.

2. L-Glutaminase의 活性에 미치는 影響

除草劑가 L-glutaminase의 活性에 미치는 影響은 Table 4와 같았다. 除草劑의 處理로 L-glutaminase는 處理初期에 20.2~35.3%程度의 沮害率을 나타내었으나 28日 以後에는 거의 影響이 없었다 藥劑別로는 處理 後 1日째에는 dinoseb이 35.3%로 가장 높은 沮害率을 나타내었으며 그의 다른 除草劑들은 대체로 20.2~26.8% 程度로 비슷한 沮害를 보여 藥劑別로는 큰 差異는 없었으나 urea系가 다소 높게 나타났다. 時間이 經過함에 따라서도 使用된 除草劑들은 약간의 差異는 있으나 全般的으로 沮害率이 減少되어 28日째에는 3% 以下の 沮害로 比較的 影響이 없었고 56日째에는 對照區와 비슷하거나 약간 活性을 增加시키는 것으로

Table 3. Effects of herbicides on urease activity in soil (% inhibition of soil urease activity)

Herbicide	Incubation day					
	1	3	7	14	28	56
Nitrofen	18.1	12.8	8.0	3.6	0.6	-8.8
Chloronitrofen	21.7	12.0	6.1	4.7	2.6	-9.9
Chloromethoxynil	24.1	17.6	11.0	6.3	3.2	-7.7
Butachlor	20.5	9.6	6.1	2.1	0.6	0.0
Alachlor	24.1	8.0	6.1	1.0	1.3	0.0
Propanil	32.5	21.6	8.0	3.6	3.2	1.1
Diuron	36.1	24.0	13.5	10.9	2.6	-4.4
Linuron	42.2	28.0	14.7	11.5	3.9	-2.2
Dinoseb	41.0	28.8	12.3	6.8	3.2	-4.4

Table 4. Effects of herbicides on L-glutaminase activity in soil
(% inhibition of soil L-glutaminase activity)

Herbicide	Incubation day					
	1	3	7	14	28	56
Nitrofen	22.1	17.4	14.3	7.9	0.7	-0.2
Chloronitrofen	23.6	17.6	14.3	8.5	0.9	0.2
Chloromethoxynil	24.5	19.4	14.5	8.5	1.9	0.0
Butachlor	20.2	15.3	13.3	7.0	0.2	-0.6
Alachlor	21.1	16.3	12.6	6.1	0.0	-0.4
Propanil	24.3	16.0	14.6	7.6	0.4	0.2
Diuron	26.8	20.6	16.6	8.7	2.8	0.0
Linuron	25.8	21.1	17.0	9.8	2.6	0.2
Dinoseb	35.3	20.7	16.4	7.6	2.0	-0.6

나타났다. 이렇게 處理後期에 影響이 없거나 活性이 약간 增加된 것은 urease의 考察과 같은 原因으로 推定된다.

3. Protease의 活性에 미치는 影響

除草劑의 處理로 土壤內 protease의 活性에 미치는 影響은 Table 5와 같았다. 除草劑가 protease의 活性에 미치는 影響은 다른 酵素와 比較해 볼 때 沮害率은 그다지 크지 않은 것으로 나타났다. 藥劑別로는 뚜렷한 差異가 없이 處理 1日째에 13.5~18.1% 程度로 비슷한 沮害率을 보였다. 處理後 14日째에 全般的으로 影響이 없었으며 28日째에는 산amide系, diphenylether系에서 活性을 다소 增加시켰다. 또한 處理後 56日째에는 chlorometho-

xynil을 除外한 모든 藥劑에서 活性을 약간 增加시켰다. 이러한 活性의 增加現象은 使用된 除草劑들은 모두 窒素를 含有하고 있는 化合物로서 土壤內에서 分解되어 나온 分解產物을 前報에서와 마찬가지로 土壤內 微生物이 農藥의 分解產物中の 窒素를 利用할 수 있을 것이라는 可能性을 示唆하는 것이라 생각된다.

4. Phosphatase의 活性에 미치는 影響

除草劑가 土壤內的 phosphatase의 活性에 미치는 影響은 Table 6과 같았다. 除草劑의 處理로 phosphatase의 活性은 處理初期에는 影響을 받았으나 沮害率은 漸次的으로 減少되는 傾向을 나타내었다. 藥劑別로는 處理初期에 dinoseb이 26.2%

Table 5. Effects of herbicides on protease activity in soil
(% inhibition of soil protease activity)

Herbicides	Incubation day					
	1	3	7	14	28	56
Nitrofen	14.6	9.3	6.3	0.5	-0.8	-1.1
Chloronitrofen	15.2	12.3	6.8	1.0	-1.1	-1.2
Chloromethoxynil	18.1	14.0	9.4	1.9	1.1	0.4
Butachlor	13.5	9.3	6.8	0.0	-1.9	-3.9
Alachlor	15.2	11.1	5.8	-0.5	-1.6	-2.2
Propanil	14.0	11.3	8.4	1.9	-0.8	-2.2
Diuron	17.5	12.3	8.9	1.0	0.0	-1.1
Linuron	15.2	10.3	8.4	1.9	0.0	-1.2
Dinoseb	18.1	12.9	8.4	0.5	0.0	-0.9

Table 6. Effects of herbicides on phosphatase activity in soil
(% inhibition of soil phosphatase activity)

Herbicide	Incubation period(day)					
	1	3	7	14	28	56
Nitrofen	20.6	16.8	7.2	4.1	3.8	0.0
Chloronitrofen	17.8	17.6	7.2	3.3	2.9	-1.2
Chloromethoxynil	18.7	18.5	6.5	4.8	2.7	1.2
Butachlor	11.8	9.3	8.0	2.4	1.9	-2.4
Alachlor	14.0	11.2	8.4	3.3	2.9	0.0
Propanil	17.8	13.4	8.1	4.8	4.8	0.0
Diuron	18.7	13.4	11.2	6.5	5.7	0.0
Linuron	16.8	14.3	8.1	4.8	4.2	1.2
Dinoseb	26.2	13.4	11.2	3.8	3.3	0.0

로 가장 높은 沮害率을 나타내었으며 diphenylether系, urea系 산amide系의 順으로 11.8~20.6% 程度의 沮害率을 나타내었다. 時間이 經過함에 따라 沮害率은 減少되었으며 56日째에는 거의 影響이 없는 것으로 나타났다.

以上の 結果로 불매 除草劑의 處理로 土壤內의 urease, L-glutaminase, protease, phosphatase의 活性은 處理初期에 沮害現象을 나타내었으나 28日째 以後에는 거의 沮害되지 않는 것으로 나타났는데 이는 除草劑의 主成分이 28日 이후에는 극히 낮은 濃度로 存在하는데 原因이 있을 것으로 推定된다. 處理 後期에 Urease, L-glutaminase, protease의 活性이 增加된 것은 農藥의 分解產物이 土壤微生物의 窒素給源으로 利用될 수 있었기 때문으로 생각된다.

5. 除草劑의 土壤中 殘留消長

土壤에 處理된 農藥은 時間이 經過함에 따라 分解消失되는데 農藥의 分解는 處理形態나 土壤環境等 여러 要因에 의해서 影響을 받는 것으로 알려져 왔다.

土壤內에 尿素의 施用으로 인해 除草劑의 分解樣相을 無施用區와 比較하여 經時的으로 調査하였다.

本 分析法에 의해 分析된 除草劑의 回收率은 Table 7과 같았다. 0.5ppm과 1.0ppm의 두 濃度에서의 回收率은 90% 以上이었으며 dinoseb의 境遇에는 methylation過程으로 인해 回收率이 약간 낮은 88.4%程度이었다.

Table 7. Recovery of pesticides from soil fortified with 0.5ppm and 1.0ppm

Pesticide	Recovery(%)*	
	0.5ppm	1.0ppm
Nitrofen	92.8	93.5
Chloromethoxynil	95.8	96.3
Chloronitrofen	94.2	95.0
Propanil	96.0	96.2
Butachlor	96.8	97.5
Alachlor	96.9	97.3
Diuron	94.4	95.6
Linuron	95.3	95.4
Dinoseb	88.4	90.1

*each value is the mean of triplicate analyses

使用된 除草劑의 分解樣相과 曲線回歸方程式 $Y=A \cdot e^{-Bx}$ 에 適用시켜서 半減期를 求한 結果는 Fig. 2 및 Table 8과 같았다. 除草劑의 分解樣相은 대체로 urea의 施用으로 인해서 分解가 促進되는 것으로 나타났으며 前報에 보고한 殺虫劑보다는 分解가 느리게 나타났다.

藥劑別로는 Urea의 施用으로 인해 propanil이 가장 빨리 分解되었으며 dinoseb, diphenylether系 산amide系의 順이었으며 urea系除草劑가 가장 느린 分解樣相을 보였다. 이러한 傾向은 urea의 加水分解로 인해 土壤內의 pH가 6.23에서 8.2로 增加되어 알칼리로 됨에 따라 urea의 施用區에서 藥劑가 빨리 分解되는 것으로 推定된다.

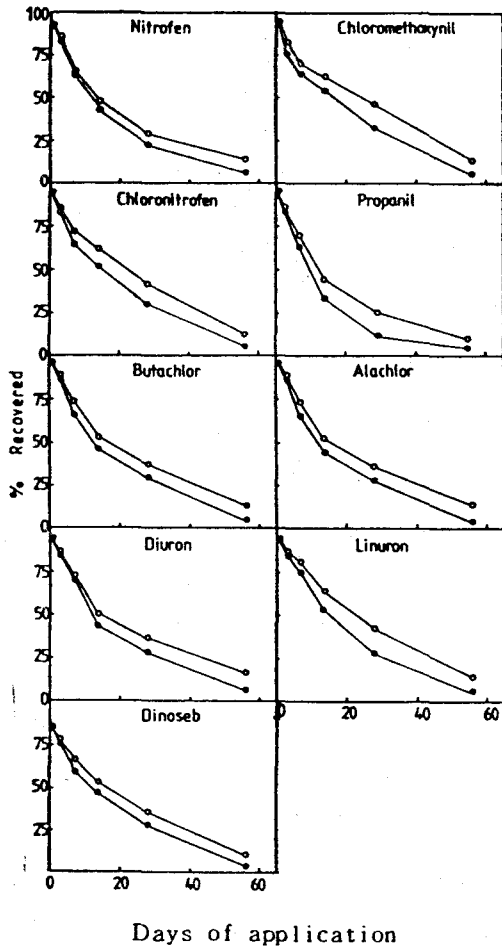


Fig. 2. Degradation of herbicides in soil
 ●—● : urea-treated soil
 ○—○ : urea-untreated soil

초 록

除草劑가 土壤環境內의 生化學的 轉換過程에 미치는 影響을 糾明하기 위해서 化學構造가 다른 여러 종류의 除草劑를 窒素質肥料인 尿素와 함께 土壤에 處理하였을때 土壤酵素의 活性에 미치는 影響과 農藥의 殘留量의 變化를 調査한 結果는 다음과 같았다. 除草劑의 處理로 Urease의 活性에는 Urea系, dinoseb, propanil, diphenylether系, 산amide系의 順으로 沮害率이 높았다. L-Glutaminase 및 protease의 活性에는 dinoseb, urea系, diphenylether系, 산amide系의 順으로 沮害率이 높았으며 phosphatase는 dinoseb, diphenylether系, urea系, 산amide系의 順으로 沮害率이 높았다. 대체적으로 除草劑의 處理로 處理初期에는 沮

Table 8. Exponential regression equations of herbicides in urea-treated and urea-untreated soil with different incubation days

Pesticide	Exponential regression equation	-r***	Half-life (day)
Nitrofen	U* Y= 92.19e ^{-0.0463x}	0.9198	13.2
	N**Y= 88.81e ^{-0.0322x}	0.9295	15.0
Chloromet-hoxynil	U Y= 98.13e ^{-0.0477x}	0.9540	14.1
	N Y= 96.51e ^{-0.0329x}	0.9742	20.0
Chloronit-rofen	U Y= 98.46e ^{-0.0486x}	0.9482	13.9
	N Y= 97.52e ^{-0.0350x}	0.9749	19.1
Propanil	U Y= 95.80e ^{-0.0627x}	0.8882	10.4
	N Y= 98.76e ^{-0.0498x}	0.9315	13.7
Butachlor	U Y=100.98e ^{-0.0494x}	0.9333	14.2
	N Y= 98.76e ^{-0.0343x}	0.9500	18.7
Alachlor	U Y=102.80e ^{-0.0524x}	0.9308	13.8
	N Y= 92.16e ^{-0.0327x}	0.9438	18.7
Diuron	U Y= 90.96e ^{-0.0328x}	0.9463	18.2
	N Y= 91.08e ^{-0.0276x}	0.9444	21.7
Linuron	U Y= 92.52e ^{-0.0290x}	0.9540	21.2
	N Y=100.83e ^{-0.0333x}	0.9820	21.1
Dinoseb	U Y= 86.03e ^{-0.0419x}	0.9490	13.0
	N Y= 90.22e ^{-0.0343x}	0.9678	17.2

*urea-treated soil, **urea-untreated soil
 ***significant at 1% level

害를 보이다가 28日 以後에는 거의 影響이 없거나 活性을 약간 增加시켰다. 尿素의 施用으로 因해 除草劑의 分解는 無施用區에 비해서 약간 促進되었다.

參 考 文 獻

1. Helling, C.S., Kearney, P.C. and M. Alexander: Advan. Agron., 23 (1971)
2. Sylvestre, G.S. and Fournier, J.M.: Advan. Agron., 31 : 1 (1979)
3. Endo, T., Kusaka, T., Tan, N. and Sakai, M.: J. Pestic. Sci., 7 : 1 (1982).
4. 飯塚昭三 : 日本農藥學會誌, 2 : 583 (1977)
5. Johnen, B.G. and Drew, E.A.: Soil Sci., 12 3 : 319 (1977)

6. Marsh, J.A.P.: Bull. Environm. Contam. Toxicol., 25 : 15 (1980)
7. Marsh, J.A.P.: Pestic. Sci., 16 : 93 (1985)
8. 洪鍾旭, 趙尙文 : 韓國農化學會誌, 22 : 217(1979)
9. 洪鍾旭, 金章億 : 韓國農化學會誌, 29 : 294(1986)
10. Cook, A.M., Daughton, C.G. and Alexander, M.: Appl. Environ. Microbiol., 36 : 668(1978)
11. Campacci, E.F., New, P.B. and Tchan, Y. T.: Nature London, 266 : 164 (1977)
12. Cook, A.M. and Hutter, R.: J. Agric. Food Chem., 29 : 1135 (1981)
13. Rajagopal, B.S., Chendrayan, K., Reddy, B.R. and Sethunathan, N.: Plant and Soil, 73 : 35 (1983)
14. Zweig, G.: Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, Vol. V, VI, Academic Press, N. Y. (1967)
15. Cerevelli, S., Nannipieri, P., Giovannini, G. and Perna, A.: Soil Biol. Biochem., 9 : 393 (1977)
16. Cerevelli, S., Nannipieri, P., Giovannini, G. and Perna, A.: Pest. Biochem. Physiol., 5 : 221 (1975)