

除草劑 Napropamide의 分解微生物의 分離 및 分解特性

韓 成 洙*

Isolation and Characteristics of Soil Microorganisms Degrading Herbicide Napropamide

Han, S.S.*

ABSTRACT

This study was carried out to isolate the soil bacteria degrading herbicide napropamide [N,N-diethyl-2-(1-naphthoxy)-propionamide] from the clayey loam soil tested and to clarify the characteristics of the napropamide-degrading bacteria.

Twenty strains of the gram-positive and the gram-negative bacteria were isolated and identified from the clayey loam soil tested. Most of them were vigorously proliferated at 100ppm of napropamide and two strains of *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. II and Other spp. II were very tolerated to napropamide even at the concentration of 1500ppm.

Staphylococcus spp. II and *Actinobacillus* spp. II of the isolated bacteria degraded more than 20% of the treated napropamide. These two strains could not utilize napropamide as sole nitrogen sources, but could use this compound as sole carbon sources. Napropamide was rapidly decomposed by *Staphylococcus* spp. II at one-time application and at three-time application of napropamide, but wasn't at two-time application of napropamide.

Key words : napropamide, napropamide-degrading bacteria, isolated bacteria, gram-positive and gram-negative bacteria.

緒 言

撒布된 農藥의 行方은 處理方法이나 農藥劑型에 따라 다르나 어느 境遇이든 大部分의 農藥이 土壤에 投入 蓄積되며 이들 農藥은 自然 環境內를 移動하면서 分解 消失되거나 土壤 또는 作物體內에 蓄積되고 이러한 殘留農藥은

人間의 健康과 直間接的인 關係가 있으며 環境生態系에 惡影響을 끼치는 等의 負의 價値를 誘發할 수 있다^{1,4)}. 즉 農藥殘留로 因한 食品汚染, 環境汚染 等を 招來하거나 後作物에 대한 藥害를 誘發시킬 수 있다. 따라서 處理되는 農藥은 目的對象으로 하는 病, 害蟲, 雜草를 防除하여 所期의 目的을 達成한 後에는 化學的, 微生物學的, 光化學的 分解過程 等を 거

圓光大學校 農科大學(College of Agriculture, Wonkwang University, Iri 570-749, Korea)

<1995. 1. 27 접수>

처 분해 消失되어 非目的對象 生物에 대한 危害性이 없어야 한다.

實際로 農藥은 環境中에 들어 가면 微生物學的, 化學的, 光化學的 分解와 같은 여러 가지 變換過程을 거쳐 分解되지만 그 중에서 微生物에 의한 分解가 가장 重要的 것으로 알려져 있고^{5,7,25)} 著者 等⁶⁾이 微生物 有無에 의한 殘留量 分析結果 本 研究의 供試除草劑 Napropamide는 土壤微生物에 의해 分解가 크게 促進됨을 알았다.

土壤中 農藥의 殘留持續性과 微生物 分解의 制御로 環境汚染을 減少시키며 食品이나 環境을 保護하고 後作物에 대한 惡影響을 除去할 수 있다면 매우 바람직스러운 일이기 때문에 土壤에 殘留되는 農藥을 土壤으로 부터 人爲的으로 除去시키는 方法의 講究는 農藥殘留에 의해 擡頭되는 問題의 解決을 위해 重要的 課題라 할 수 있고 農藥汚染 土壤의 治癒를 위해 有機汚染物質의 微生物 分解 強化를 위한 메카니즘 특히, 土壤中 農藥의 殘留持續性과 微生物의 作用사이의 關係를 理解하는 것이 必須的이다.

이러한 目的達成을 위한 基礎資料를 얻음 目的으로 先進 外國에서는 農藥을 分解하는 數種의 곰팡이, 박테리아, 放線菌을 土壤으로 부터 分離하여 이들 微生物이 農藥을 分解하는 能力과 이들 微生物의 生長條件과 分解能 사이의 關係 그리고 分解機작을 究明하는 研究가 많이 이루어지고 있으나^{9-12,14,15,17,21-23)} 우리 나라에서는 이에 대한 研究가 거의 이루어지고 있지 않다. 따라서 本 研究에서는 殘效期間이 긴 것으로 알려진²⁴⁾ 除草劑 Napropamide의 分解能이 優秀한 菌株을 選拔 利用하여 分解를 促進시켜 줌으로써 殘留農藥으로 인한 問題點을 解決하는데 利用되는 基礎資料를 얻음 目的으로 農藥 無處理土壤으로부터 菌株을 分離 同定하고 이들 微生物을 Napropamide含有 培地에 接種하여 生存力과 農藥分解能을 調査하였으며, 分解能이 優秀한 菌株에 대해 Napropamide를 窒素源 혹은 炭素源으로 利用하는지의 與否와 農藥反覆處理에 의한 微生物

의 農藥分解樣相을 檢討하였는 바 그 結果를 報告한다.

本 研究는 1994年度 圓光大學校 校內研究費 支援에 의하여 遂行되었으며 關聯機關에 謝意를 表한다.

材料 및 方法

1. 供試藥劑

Napropamide는 50% 水和劑와 純度 93%의 標準品을 農村振興廳 農藥研究所에서 分讓받아 實驗에 使用하였다.

2. 供試土壤

微生物分離에 使用한 土壤은 圓光大學校 農科大學 實驗圃場의 밭土壤인 埴壤土를 使用하였고 그의 理化學的 性質은 表 1에 나타낸 바와 같다.

Table 1. Physicochemical properties of soil used.

Sampling Soil	Soil texture	pH 1:5(H ₂ O)	Organic matter(%)	C.E.C (me/100g)
Soil A	CL	5.9	1.0	10.5

3. 土壤細菌의 分離

土壤試料 50g을 삼각 플라스크에 取하여 最大圃場容水量의 60%로 調節하고, 28±1℃에서 2週間 pre-incubation하여 微生物을 活性化시킨 土壤을 10⁵倍로 稀釋하여 0.5ml씩 NB培地에 接種하여 發生한 細菌을 5日間 28±1℃에서 培養하고 形成된 colony를 顯微鏡의 觀察에 의하여 形態에 따라 分離하여 NB agar 培地에서 28±1℃, 48hr동안 純粹培養 後 각 細菌을 Cowan and Steel's method²⁾에 의하여 24種類의 生理生化學的 試驗을 行하여 屬까지 分類하였다. 分類된 細菌은 斜面培地에 接種하여 28±1℃, 48hr 培養 後 각 試驗을 위해 冷藏保管하면서 使用하였다.

4. 分離細菌의 Napropamide에 대한 生存力 試驗

100-3000ppm의 Napropamide가 添加된 NB agar培地에 上記의 分離菌株을 各各 接種하여 $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 5日間 培養한 後 colony 形成能을 觀察하여 4段階(生育旺盛, 生育良好, 生育微弱, 生育不能)로 分離細菌의 Napropamide에 대한 生存力을 評價하였다

5. Napropamide 分解能力 優秀 菌株 選拔

供試土壤으로부터 分離한 細菌을 nutrient broth(difco) 20ml가 담긴 test tube에 接種하여 30°C 에서 48hr 培養하여 菌을 活性化시켰다. 活性化시킨 各 細菌들의 吸光度를 420nm에서 UV/Vis Spectrophotometer로 測定하여 吸光度가 0.3이 되도록 一定하게 調節한 菌液 1ml를 Napropamide 20ppm이 되도록 添加한 NB培地 19ml에 接種하고 30°C 에서 96hr 培養한 後 試料를 採取하여 菌體增殖量 測定 및 Napropamide 殘留量을 分析한 다음 20% 以上 分解能을 가진 菌株을 優秀 分解菌으로 選拔하였다.

6. 分解 優秀菌株의 窒素源 또는 炭素源으로서 Napropamide 利用與否 檢討

分解菌이 Napropamide를 炭素源 또는 窒素源으로 利用하는지의 與否를 調査하기 위하여 glucose 또는 NaNO_3 除外 無機鹽+農藥添加培地에 上記 優秀 分解能을 가진 分解菌을 一定量씩 接種하여 5日間 培養 後 試料를 取하여 $\text{NO}_3\text{-N}$ 定量은 Brucine法¹³⁾, glucose 定量은 Dinitrosalicylic acid法¹⁶⁾에 의한 比色法에 의해 無處理區 對比 處理區의 百分率을 求하여 窒素源 혹은 炭素源의 利用率을 나타냈고 아울러 農藥 殘留量도 分析하였다. 上記 無機鹽培地는 K_2HPO_4 0.5g, NaNO_3 0.5g, MgSO_4 0.5g, glucose 0.1g, 微量無機鹽類 1ml($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.64g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.11g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.15g + D.W 1L)를 D.W 1000ml에 넣어 調製하여 pH 7.0으로 調節한 後 使用하였다.

7. 農藥反覆處理에 의한 分解樣相과 分解 微生物 變化

分解菌을 nutrient broth(difco) 20ml가 담긴 test tube에 接種하여 30°C 에서 48hr 培養하여 菌을 活性化시켰다. 1回處理는 活性化된 分解菌을 Napropamide가 10ppm이 되도록 處理한 NB培地에 接種하여 7日後 試料를 採取하였고, 2回處理는 1回處理後의 7日後에 다시 連用處理하여 1回處理日로부터 14日後에 試料를 採取하였으며, 3回處理는 2回處理後의 7日後에 再次 連用處理하여 1回處理日로부터 21日後에 試料를 採取하여 各各 Napropamide殘留量 및 微生物增殖量을 調査하였다.

8. Napropamide 殘留量의 分析方法 및 分析器機條件

各 實驗에서 試料採取한 液體培養液 5ml을 100ml삼각 플라스크에 取하고 acetone 25ml를 加한 後 30分間 加溫 振蕩抽出한 濾液 10ml을 분액갈대기에 옮기고 20ml의 蒸溜水와 benzen 20ml, 飽和食鹽水 1ml를 加한 後 separatory funnel shaker로 5分間 激烈하게 振蕩한 後 benzen層을 分離하였다. 이에 無水黃酸 나트륨을 加하여 脫水시킨 後 減壓濃縮한 뒤, acetone 5ml를 加하여 再次 減壓濃縮하여 乾固시켰다. 乾固된 殘留物을 acetone으로 最終 定容하여 그 中 2 μl 를 GLC-FTD(Shimadzu GC-14A)에 注入하여 chromatogram上에 나타난 peak 높이를 測定하고 標準檢量線에 의해 殘留量을 算出하였다. Napropamide의 回收率은 85%이었고, 殘留分析器機는 다음의 條件에서 實施하였다.

Detector : Flame thermionic Detector

Column : Glass column, 3.2mm(ID)×5mm(OD),
2.1m, Column packed with Silicone
GE SE-30, 5%

Temperature : Column oven ; 260°C isothermal
Injection port ; 270°C
Detector ; 300°C

Gas flow rate : Carrier(N_2) ; 20ml/min
Hydrogen ; 3ml/min
Oxygen ; 120ml/min

Chart speed : 0.5cm/min

Retention time : 2.24min

結果 및 考察

1. 供試土壤으로부터 分離된 細菌의 分類

農藥 分解微生物을 選拔하여 利用함으로써 環境中 農藥殘留期間을 人爲的으로 調節하여 줌으로써 環境中에서 일어나는 여러 가지 副作用을 最小化하고자 하는 研究는 매우 바람직스러우며, 實際로 最近 先進 外國에서는 除草劑 Isouron²³⁾, Molinate⁹⁾, Chlornitrofen²¹⁾, Naproanilide²²⁾, Paraquat¹²⁾ 殺蟲劑 Salithion¹⁴⁾ 및 殺菌劑 Chlorothalonil¹⁷⁾ 等에 대한 土壤中 分解微生物 分離 研究가 遂行되어 各種 細菌, 곰팡이, 放線菌, 藻類 等이 農藥 分解微生物로 單離되었으며 이들에 대한 特性과 農藥代謝機能 研究가 이루어져 왔다. 따라서 우선 本 研究에서도 Napropamide 分解微生物의 探索에 使用될 土壤細菌을 分離 同定하고자 農藥을 處理하지 않은 圓光大學校 實習地 밭土壤인 埴壤土로부터 分離한 細菌을 純粹培養하여 Cowan 및 Steel의 方法²⁾에 의해 24種類의 生理 生化學의 分類同定 試驗을 行하고 屬까지 分類한 結果는 表 2에 나타낸 바와 같다. 그람陽性細菌으로는 *Corynebacterium*屬 3菌株, *Listeria*屬 4菌株, *Staphylococcus*屬 2菌株, *Streptococcus*屬 1菌株 等 4屬 10菌株이었으며, 그람陰性細菌으로는 *Actinobacillus*屬 2菌株, *Alcaligenes*屬 1菌株, *Enterobacterium*屬 4菌株, 其他 屬 3菌株 等 4屬 10菌株로 總 8屬 20菌株을 分離하였다. 其他 屬에는 *Chromobacterium*, *Benekea*, *Vibrio*, *Plesiomonas*, *Aeromonas*屬 中에 包含되는데 이에 대한 屬의 分類를 위해서는 追後 分類 同定 試驗이 要求된다.

2. 分離된 土壤細菌의 生存力

供試土壤으로부터 分離한 細菌들의 Napropamide에 대한 生存力 評價를 하기 위하여 Napropamide를 100ppm에서 3000ppm까지 여러 段階의 濃度로 含有된 NB培地에 分離된 各 菌株을

Table 2. Classification of bacteria isolated from the clayey loam soil.

Gram-positive bacteria		Gram-negative Bacteria	
<i>Corynebacterium</i> spp.	I	<i>Actinobacillus</i> spp.	I
	II		II
	III	<i>Alcaligenes</i> spp.	
			I
<i>Listeria</i> spp.	I	<i>Enterobacterium</i> spp.	
	II		I
	III		II
	IV		III
			IV
<i>Staphylococcus</i> spp.	I		
	II	<i>Others</i> spp.	I
			II
<i>Streptococcus</i> spp.	I		III
Total	10 Strains	Total	10 Strains

Classification of bacteria was carried out by Cowan and Steel's method.

接種培養한 後 colony形成을 觀察하여 生育旺盛(◎), 生育良好(○), 生育微弱(^), 生育不能(×)의 4段階로 評價하여 나타낸 結果는 表 3과 같다.

全體의으로 볼 때 供試菌株 모두 Napropamide 100ppm까지는 生存力이 旺盛하였고 200ppm부터는 菌種에 따라 差異가 나고 있었다. 그람陽性細菌中에서는 *Corynebacterium*屬 II, *Staphylococcus*屬 I 및 II 그리고 그람陰性細菌中에서는 其他 屬 II가 1500ppm濃度까지 旺盛한 生育을 보인 것으로 보아 本 實驗에서는 그람陽性細菌이 그람陰性細菌보다 Napropamide에 대해 耐性이 강한 것으로 判斷된다. 한편 *Listeria*屬 IV와 *Staphylococcus*屬 II는 Napropamide 2000 ppm에서도 微弱하지만 生存력을 나타내고 있었고, 其他 供試 土壤細菌들은 Napropamide의 高濃度에 대한 耐性이 弱한 것으로 思料된다. 一般的으로 高濃度의 農藥에서 微生物의 生長이 沮害된다는 事實과 本 實驗結果를 比較해 볼 때 菌이나 農藥의 種類에 따라서는 다른 傾向이 나타날 수도 있다는 것을 示唆해 주고 있다.

Table 3. Vitality of isolated bacteria to napropamide herbicide.

Strains	Concentration of napropamide(ppm)										
	100	200	300	400	500	1000	1500	2000	2500	3000	
<i>Corynebacterium</i> spp.	I	⊙	⊙	⊙	⊙	○	△	△	×	×	×
	II	⊙	△	△	×	×	×	×	×	×	×
	III	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	×	×	×
<i>Listeria</i> spp.	I	⊙	△	×	×	×	×	×	×	×	×
	II	⊙	△	×	×	×	×	×	×	×	×
	III	⊙	△	×	×	×	×	×	×	×	×
	IV	⊙	△	△	△	△	△	△	△	×	×
<i>Staphylococcus</i> spp.	I	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	×	×	×
	II	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	△	×	×
<i>Streptococcus</i> spp.	I	⊙	△	△	×	×	×	×	×	×	×
<i>Actinobacillus</i> spp.	I	⊙	○	×	×	×	×	×	×	×	×
	II	⊙	○	△	△	△	△	△	×	×	×
<i>Alcaligenes</i> spp.	I	⊙	×	×	×	×	×	×	×	×	×
<i>Enterobacterium</i> spp.	I	⊙	○	○	×	×	×	×	×	×	×
	II	⊙	△	△	×	×	×	×	×	×	×
	III	⊙	○	○	×	×	×	×	×	×	×
	IV	⊙	△	△	△	△	△	△	×	×	×
Others spp.	I	⊙	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	II	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	×	×	×
	III	⊙	×	×	×	×	×	×	×	×	×

Degree of vitality : × ; Not growth, △ ; Weak, ○ ; Good, ⊙ ; Very good

3. 分離된 土壤細菌의 napropamide分解力

本 實驗에서 使用한 土壤으로부터 分離된 細菌들의 Napropamide分解能을 測定하기 위하여 NB培地에서 미리 活性化시킨 菌液을 一定한 O.D.값이 되도록 調節한 다음 Napropamide 20ppm 含有 NB培地에 一定量씩 接種 培養한 後 72時間 뒤에 調査한 各 細菌의 增殖程度(O.D.값)와 Napropamide分解率은 表 4에 나타낸 바와 같다.

Napropamide 20ppm添加培地에서의 供試菌株의 增殖程度를 보면 그람陽性細菌中 *Listeria*屬 II 및 III, *Streptococcus*屬 I은 매우 微弱하였으나 기타 그람兩性細菌과 그람陰性細菌 모두는 比較的 旺盛한 生育을 나타냈다. 특히 그람陽性細菌中 *Corynebacterium*屬 III, *Listeria*屬 IV 및 *Staphylococcus*屬 II, 그람陰性細菌中 *Actino-*

*bacillus*屬 II, *Enterobacterium*屬 III 및 IV, 其他屬II 등이 顯著的한 增殖이 있었다. 한편 分離細菌들의 Napropamide分解率을 보면 그람陽性細菌中에서는 *Corynebacterium*屬 III, *Listeria*屬 IV, *Staphylococcus*屬 II가, 그람陰性細菌에서는 *Actinobacillus*屬 I, *Enterobacterium*屬 I, 其他屬 I이 Napropamide를 잘 分解하는 것으로 나타났고, 이 中에서도 *Staphylococcus*屬 II와 *Actinobacillus*屬 I이 各各 Napropamide를 20.9% 및 21.5%로 가장 잘 分解하고 있었다.

菌株의 增殖程度와 Napropamide分解率과를 서로 比較檢討해 볼 때 一般的으로 增殖이 旺盛한 菌株가 Napropamide分解率이 높지는 않았으며, 增殖은 旺盛하지 못해도 分解率은 높은 것으로 나타났는데 이에 대한 原因究明의 實驗이 있어야 할 것이 要求된다.

Table 4. Degradation ability of napropamide herbicide of bacteria isolated from soil.

Strains		Degree of propagation (O.D value)	Rate of degradation(%)		
Gram-positive bacteria	<i>Corynebacterium</i> spp.	I	1.805	4.6	
		II	1.523	8.0	
		III	1.968	18.1	
	<i>Listeria</i> spp.	I	1.528	9.7	
		II	1.009	8.0	
		III	0.664	0	
		IV	1.944	18.1	
	<i>Staphylococcus</i> spp.	I	1.802	4.6	
		II	2.000	20.9	
	<i>Streptococcus</i> spp.	I	0.657	6.3	
	Gram-negative bacteria	<i>Actinobacillus</i> spp.	I	1.474	21.5
			II	1.923	9.6
<i>Alcaligenes</i> spp.		I	1.409	9.6	
<i>Enterobacterium</i> spp.		I	1.532	17.6	
		II	1.432	15.8	
		III	1.909	15.8	
		IV	1.940	9.7	
Others spp.		I	1.632	18.6	
		II	1.997	0.0	
		III	1.926	8.0	

한편, 表 3의 結果 Napropamide에 대한 生存力이 강한 것으로 밝혀진 菌株中 *Staphylococcus*屬 II만이 Napropamide를 잘 分解하였고, Napropamide에 대한 生存力이 弱한 것으로 밝혀진 *Actinobacillus*屬 I 또한 Napropamide의 分解能이 높은 것으로 보아 生存力과 分解能 사이의 關係는 菌種이나 農藥에 따라서 差異를 보이는 것으로 判斷되며, 이러한 結果는 Katayama 等¹⁷⁾이 行한 實驗에서 分解菌은 高濃度의 Chlorothalonil에 대하여 耐性이었다는 報告와는 多少 差異가 있는 것으로 思料된다.

4. 分解菌株의 窒素源으로서 Napropamide 利用性

表 4의 Napropamide分解力試驗 結果에서 比較的 높은 分解率을 보였던 그람陰性細菌 *Actinobacillus*屬 I 과 그람陽性細菌 *Staphylococcus*

屬 II가 Napropamide를 窒素源으로 利用하는지의 與否를 調査할 目的으로 Napropamide를 添加하지 않은 無機鹽培地(對照區), NaNO₃ 대신에 Napropamide를 添加한 無機鹽培地 및 NaNO₃와 Napropamide를 모두 添加한 無機鹽培地에 各 菌을 接種하여 一定期間 培養後 調査한 NO₃-N利用率과 Napropamide分解率은 表 5에 나타낸 바와 같다.

*Actinobacillus*屬 I 과 *Staphylococcus*屬 II의 對照區에서의 NaNO₃利用率은 各各 61.5%와 60.1%이었으며, NaNO₃ 대신에 Napropamide를 添加한 實驗區에서의 Napropamide分解率은 各各 4.0% 및 7.0%이었으며 NaNO₃와 Napropamide를 함께 添加한 實驗區에서의 NO₃-N利用率은 各各 60.5%와 61.8%로 對照區와 비슷한 水準이었고, Napropamide分解率은 各各 14.7%와 17.4%로 NaNO₃대신에 Napropamide만 添加한

Table 5. Use of herbicide napropamide as a sole nitrogen source.

Treatment	<i>Actinobacillus</i> spp. I		<i>Staphylococcus</i> spp. II	
	Use rate of NO ₃ -N(%)	Rate of degradation(%)	Use rate of NO ₃ -N(%)	Rate of degradation(%)
Inorganic salt medium without napropamide (control)	61.5	—	60.1	—
Inorganic salt medium with napropamide and without NaNO ₃	—	4.0	—	7.0
Inorganic salt medium with napropamide and NaNO ₃	60.5	14.7	61.8	17.4

Table 6. Use of herbicide napropamide as a carbon source.

Treatment	<i>Actinobacillus</i> spp. I		<i>Staphylococcus</i> spp. II	
	Use rate of glucose(%)	Rate of degradation(%)	Use rate of glucose(%)	Rate of degradation(%)
Inorganic salt medium without napropamide (control)	32.9	—	35.3	—
Inorganic salt medium with napropamide and without glucose	—	13.5	—	31.8
Inorganic salt medium with napropamide and glucose	35.7	22.5	37.5	37.0

實驗區에서보다 多少 높게 나타났다. 結局 두 菌株 모두 NO₃-N의 利用率은 높으나 Napropamide分解率은 그리 높지 않은 것으로 보아 Napropamide를 單一 窒素源으로 利用하지는 못하는 것으로 判斷된다.

5. 分解菌株의 炭素源으로서 Napropamide 利用性

表 4의 結果에서 比較的 分解能이 優秀했던 *Actinobacillus*屬 I과 *Staphylococcus*屬 II의 炭素源으로서 Napropamide利用性 與否를 調査할 目的으로 前述한 表 5의 實驗과 類似한 方法으로 Napropamide를 含有하지 않은 無機鹽培地(對照區), glucose대신에 Napropamide를 添加

한 無機鹽培地, glucose와 Napropamide를 함께 添加한 無機鹽培地에 두 菌株를 各各 接種하여 一定期間 培養後 調査한 Napropamide의 分解率과 glucose利用率은 表 6에 나타난 바와 같다.

無機鹽類만을 使用한 對照區에서의 glucose 利用率은 *Actinobacillus*屬 I이 32.9%, *Staphylococcus*屬 II가 35.3%이었으며, glucose 대신에 Napropamide를 添加한 實驗區에서 두 菌株의 Napropamide分解率은 各各 13.5%와 31.8%로 상당히 높았다. Napropamide와 glucose를 함께 添加한 實驗區에서 두 菌株의 glucose利用率은 各各 35.7%와 37.5%로 對照區와 비슷한 水準 이었고, Napropamide分解率은 各各 22.5%, 37%

로 Napropamide만 添加한 實驗區에서보다는 높아진 것을 알 수 있었다. 이러한 實驗結果를 檢討해 볼 때 두 군주 모두 Napropamide를 單一 炭素源으로 利用하는 것으로 判斷되며, 특히 *Staphylococcus*屬 II가 Napropamide를 單一 炭素源으로 利用하는 傾向이 뚜렷하게 나타났다.

Imai 等⁹⁾은 除草劑 Molinate 그리고 Oyamada 等²¹⁾은 除草劑 Chlornitrofen을 分解하는 微生物을 各各 分離하여 이들 微生物이 각 除草劑들을 에너지源으로 利用하는지를 研究한 結果 單一 炭素源으로 이용하지는 못하였으나 그 培地에 補充한 다른 炭素源을 必要로 하였다는 報告와 Katayma 等¹⁷⁾이 行한 殺菌劑 Chlorothalonil의 分解菌들 中 *Flavobacterium*屬 2菌株가 이 藥劑를 唯一한 炭素源 및 窒素源으로 利用하였다는 報告를 本 研究結果의 Napropamide分解細菌이 Napropamide를 單一 窒素源으로서는 利用하지 못하고 單一 炭素源으로 利用하였다는 結果와 比較해 볼 때 分解菌의 種類나 藥劑의 種類에 따라서 差異가 나고 있는 것이라 判斷되며, 實際로 Martani 等^{18,19)}이 微生物 群落과 單離細菌에 의한 2,4-dichlorophenol의 分解에 끼치는 營養鹽類의 影響이 컸다고 하는 研究結果가 이를 證明해 주고 있다.

6. Napropamide反覆處理에 의한 分解様相과 細菌増殖量 變化

分解能이 가장 좋았고 Napropamide를 炭素源으로 利用했던 그람陽性細菌 *Staphylococcus*屬 II에 대해 Napropamide反覆處理에 따른 Napropamide分解率과 細菌増殖量 變化를 調査한 結果는 表 7에 나타난 바와 같다.

먼저 Napropamide分解率을 보면 Napropamide 1回處理後 7일뒤에 調査한 分解率은 65.6%로서 急激히 分解되었으나 一週日 間隔으로 2回處理後 7일뒤에 調査한 分解率은 13.4%로 遲延되었으며 一週日 間隔으로 3回處理後 7일뒤에 調査한 分解率은 52.1%로 다시 急速한 分解가 일어남을 알 수 있었다. 한편 供試細菌의 増殖量(O.D.값) 變化를 檢討해 보면 1回處理後 7일뒤의 O.D.값은 1.343으로서 1回處理直後의 0.112에 비해 1.231만큼의 큰 差異로 急激한 増殖을 보였으며, 2回處理後 7일뒤의 O.D.값은 1.543으로 1回處理後 7일뒤의 O.D.값에 비해 0.2程度의 微弱한 増殖을 나타냈으며, 3回處理後 7일뒤의 O.D.값은 2.0으로 2回處理後 7일뒤의 O.D.값에 비해 0.447程度의 増殖을 나타내 다시 増殖速度가 빨라짐을 알 수 있었다. 따라서 本 實驗結果는 Napropamide의 反覆處理로 因한 *Staphylococcus*屬 II의 Napropamide分解速度는 細菌의 増殖速度와 一致하였으며 1回處理時 急速한 分解와 増殖이 이루어지고 2回處理時 若干 遲延現像을 보이다가 3回處理時 다시 分解와 増殖이 빠르게 進行됨을 알 수 있었다. 圃場實驗에서 많은 農藥은 反覆處理에 의해 分解速度가 빨라지며⁸⁾, Butachlor²⁰⁾나 Benthicarb³⁾의 分解도 反覆處理에 의해 促進되었다고 하였는 바 Napropamide에 대한 本 實驗結果에서는 1回處理와 3回處理에서는 分解速度가 빨랐으나 2回反覆處理時에는 Lag-phase 現像이 나타나고 있어 多少 差異를 보였다.

要 約

除草劑 Napropamide의 分解能이 뛰어난 菌株

Table 7. Effect of repeated application on biodegradation of herbicide napropamide and propagation of *Staphylococcus* spp. II.

Rate of degradation (%)			Degree of propagation (O.D.value)			
One-time application	Two-time application	Three-time application	Days after inoculation			
			0	7	14	21
65.6	13.4	52.1	0.112	1.343	1.543	2.000

를 選拔하고 그의 分解特性을 究明할 目的으로 農藥 無處理土壤으로부터 細菌을 分離한後 이들 菌을 Napropamide 含有 NB培地에 接種하여 生存力과 Napropamide 分解能을 調査하였으며, 分解能이 優秀한 細菌에 대해 Napropamide를 炭素源 혹은 窒素源으로서의 利用與否와 反覆處理에 의한 細菌의 Napropamide 分解樣相을 調査하였는 바 그 結果는 다음과 같다.

供試土壤인 堆壤土에서 分離한 細菌은 그람陽性菌 및 그람陰性菌이 各各 4屬 10菌株씩이었고, 이들 細菌의 Napropamide에 대한 生存力試驗에서 供試菌株 모두 100ppm에서는 活潑하게 增殖되었고 1500ppm까지 生存력이 뛰어난 菌株는 *Staphylococcus*屬 2菌株, *Corynebacterium*屬 III, 其他 屬 II이었다. 供試菌株中 20%以上 Napropamide 分解能을 가진 細菌은 *Staphylococcus*屬 II와 *Actinobacillus*屬 I이었고, 이들 두 菌株는 Napropamide를 單一 窒素源으로서는 利用하지 못하였으나, *Staphylococcus*屬 II가 Napropamide를 單一 炭素源으로 利用하는 것으로 나타났다. Napropamide의 反覆處理에 따른 *Staphylococcus*屬 II의 供試藥劑의 分解는 1回處理에서 急速히 分解되었고 2回連用處理後에는 分解가 遲延되었으나 3回連用處理에서는 다시 急速한 分解가 일어났다.

引用 文 獻

1. Cheng, H.H. 1990. Pesticides in the soil environment ; processes, impacts and modeling. Soil Science Society of America : 429-466.
2. Cowan, S.T. and K.J. Steel. 1974. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press : 1-186.
3. Duah-yentumi, S. and S. Kuwatsuka. 1982. Microbial degradation of benthiocarb, MCPA, and 2,4-D herbicide in perfused soil amended with organic matter and chemical fertilizer, Soil Sci. Plant Nutr., 28(1) : 19.
4. Guenzi, W.D. 1974. Pesticides in soil and water. Soil Science Society of America : 1-562.
5. Guth, J.A. 1980. "Interactions between herbicides and the soil," ed. by R.J. Hance. Academic Press, London : 123-158.
6. 韓成洙·鄭載勳·崔讚奎. 1994. 環境條件 差異에 따른 밭土壤中 除草劑 Napropamide의 殘留 및 土壤微生物相 變化. 韓國 雜草學會誌 14(4) : in press.
7. Hill, I.R. and S.J.L. Wright. 1978. Pesticide microbiology. Academic Press, London : 79136.
8. Hurk, K. and A. Walker. 1980. Interactions between herbicide and the soil. Academic Press, London : 83.
9. Imai, Yasufumi and Shozo Kuwatsuka. 1986. Characteristics of microflora degrading the herbicide molinate in soil. J. Pesticide Sci. 11 : 57-63.
10. Imai, Yasufumi and Shozo Kuwatsuka. 1986. The mode of metabolism of the herbicide molinate by four strains of microorganisms isolated from soil. J. Pesticide Sci. 11 : 111-117.
11. Imai, Yasufumi and Shozo Kuwatsuka. 1986. Metabolic pathways of the herbicide molinate in four strains of isolated soil microorganisms. J. Pesticide Science 11 : 245-251.
12. Imai, Yasufumi and Shozo Kwwatsuka. 1989. Characteristics of paraquat-degrading microbes. J. Pesticide Sci. 14 : 475-480.
13. 農村振興廳 農業技術研究所. 1988. 土壤化學分析法. 農業技術研究所 : 62-63.
14. Itoh, Kazuhito. 1991. Characteristics of microflora degrading insecticide salithion in soil. J. Pesticide Sci. 16(1) : 77-83.
15. Itoh, Kazuhito. 1991. Stereoselective metabolism of insecticide salithion by *agrobacterium* sp. and *acinetobacter* sp. isolated from

- soil. J. Pesticide Sci. 16 : 85-91.
16. 鄭東孝·張賢基. 1992. 食品分析. 進路研究社. : 179.
 17. Katayama, Arata, Hiroshi Isemura and Shozo Kuwatsuka. 1991. Population change and characteristics of chlorothalonil-degrading bacteria in soil. J. Pesticide Sci. 16(2) : 239-245.
 18. Martani, Erui and Masayuki Seto. 1991. Degradation of 2,4-dichlorophenil in the microbial community of ground water sample by bacterial isolate E-6. J. Pesticide Sci. 16(3) : 429-434.
 19. Martani, Erui and Masayuki Seto 1991. Effects of mineral nutrients on the degradation of 2,4-dichlorophenol at low concentrations by microbial community and bacterial isolates. J. Pesticide Sci. 16 : 1-7.
 20. 文永熙·李王休·梁桓承. 1990. 湛水土壤중에 있어서 除草劑 butachlor의 分解速度에 미치는 各種 土壤環境條件의 影響. 韓國雜草學會誌. 10(1) : 41-48.
 21. Oyamada, Masami and Shozo Kuwatsuka. 1989. Microbial metabolism of the herbicide chloronitrofen and its amimo derivative. J. Pesticide Sci. 14 : 329-335.
 22. Oyamada, Masami and Shozo Kuwatsuka. 1990. Degradation of the herbicide naproanilide and its hydrolyzed product in perfused soil and by a bacterium isolated from soil. J. Pesticide Sci. 15 : 81-87.
 23. Ozaki, Mamoru and Shozo Kuwatsuka. 1986. Reproductive degradation of the herbicide isouron and its related compounds by *pseudomonas putida*. J. Pesticide Sci. 11(3) : 427-432.
 24. 梁桓承·文永熙. 1991. 主要 菜蔬用 除草劑의 土壤中에서의 殘效와 後作物에 미치는 影響. 韓國科學財團 研究報告書 : 1-75.
 25. Torstensson, L. 1980. Interactions between herbicides and the soil, ed. by R.J. Hance. Academic Press, London : 159-178.