

유기염소계 농약 endosulfan을 분해하는 미생물의 분리 및 분해 특성

신재호 · 곽윤영 · 김원찬 · 소재현 · 신현수 · 박종우 · 김태화 · 김장억 · 이인구*

경북대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부
(2008년 7월 23일 접수, 2008년 9월 25일 수리)

Isolation of endosulfan degrading bacteria and their degradation characteristics

Jae-Ho Shin, Yunyoung Kwak, Won-Chan Kim, Jai-Hyun So, Hyun-Soo Shin, Jong-Woo Park, Tae-Hwa Kim, Jang-Eok Kim, and In-Koo Rhee* (School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea)

ABSTRACT: A bacterium, which was named to be *Bacillus* sp. E64-2, capable of degrading endosulfan was isolated from the environmental sample using enrichment culture technique. The *Bacillus* sp. E64-2 was able to degrade 99% of 10 mg/L endosulfan in the culture media within 7 days at 30°C. Endosulfan diol was the only intermediate by the endosulfan degrading bacterial culture and the pH value of the culture media was significantly increased to pH 8.4 from pH 7.0 after 7 days of incubation. When the endosulfan and the crude extract of the strain were incubated, endosulfan diol was a major metabolite. Both the enzymatic reaction and the pH-increasing effect contribute to the degradation of endosulfan by the bacterial culture.

Key Words: Biodegradation, Bioremediation, Endosulfan, Organochlorine insecticide

서 론

농약은 농산물의 양적·질적인 향상과 노동력 절감 등의 필요성으로 인해 현대 농업활동에 있어서 없어서는 안 될 농자재로서 그 특성상 어느 정도의 생물 독성과 토양 잔류성은 불가피한 실정이다. 그러나 일부 농약의 경우 지나치게 독성이 높고 잔류성이 길어 환경생태계에 좋지 않은 영향을 미치기 때문에 사용이 금지되고 있다. 예를 들어 BHC, DDT, aldrin과 같이 다수의 염소원자를 함유하고 있는 유기염소계 농약은 환경에 노출된 후의 긴 잔류성이 문제가 되어 대부분 사용이 금지되었다.¹⁾ 비침투성 농약인 endosulfan(6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzodioxathiepin-3-oxide)은 우리나라와 미국에서 현재 사용되고 있는 유일한 유기염소계 살충제로 대부분의 농가에서 해충 방제용으로 광범위하게 누적 사용되고 있으며 이에 따라 우리나라 경작지 토양에는 endosulfan과 그 분해산물 중의 하나인 endosulfan sulfate가 상당량 잔류하고 있는 것

으로 알려져 있다. Endosulfan 분해과정의 산물인 endosulfan sulfate는 그 독성이 β -endosulfan에 비해 오히려 큰 것으로 알려져 있다.¹⁾ 또 endosulfan은 수용해도가 적고 흡착성이 큰 약제로서 유출수에 의한 유실이 제한되어 있어서²⁾ 결국 토양 중에 잔류하는 endosulfan은 농산물 중으로 흡수되어 축적된다는 보고가 있으며,^{3,4)} 동물에 흡수되면 환경호르몬으로 작용하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 이처럼 endosulfan은 농작물의 안전성 문제를 일으킬 뿐만 아니라 인간의 건강 및 생태계에 위협이 될 수 있기 때문에 endosulfan에 의해 오염된 폐수나 토양 등의 무독화 처리를 위한 여러가지 물리화학적 처리방법이 연구, 개발되고 있다. 그러나 이러한 물리화학적 처리법은 일반적으로 이차환경오염의 가능성이 클 뿐만 아니라 처리비용 면에서도 불리한 단점을 내포하고 있어 미생물을 이용한 생물학적 처리법 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.⁶⁾

본 연구에서는 이러한 미생물학적 처리법 개발의 기초단계로써, 우리나라 농경지 토양을 집적배양(enrichment culture)하여 endosulfan 분해능을 확인하고 단독으로 이를 분해할 수 있는 분해 균주를 분리하여 그 특성을 파악하였다.

*연락처:
Tel: +82-53-950-5718 Fax: +82-53-953-7233
E-mail: ikrhee@knu.ac.kr

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 technical grade endosulfan(순도 99.5% 이상)과 그 대사 산물의 표준품인 endosulfan sulfate, endosulfan diol, endosulfan lactone, endosulfan ether 등은 Riedel-deHaen사(Seelze, 독일)로부터 구입하여 사용하였으며 분해산물의 추출과 가스크로마토그래피(GC) 분석에 사용한 n-hexane 및 acetone, methanol, dichloromethane 등은 Merck사(USA)의 분석용 시약(순도 99.9% 이상)을 사용하였다.

토양 시료의 채취

Endosulfan 분해균주의 분리를 위한 시료는 endosulfan의 사용여부를 조사하여 대구, 경북, 경남 일대의 농경지와 야산에서 채취된 140점의 토양 시료와 금호강과 낙동강 하천에서 채취된 17점의 진흙, 각종 퇴비에서 채취된 13점의 시료, 동해안 및 남해안의 양식장 인근 고농도 침출액 5점과 염료공장의 하수구 인근에서 채취된 5점의 진흙, 그리고 식품가공 공장의 폐액 3점 등을 포함하여 총 182점을 채취하였다. 채취된 토양시료는 집식배양(enrichment culture)에 사용하기 전까지 4°C에서 보관하였다.

미생물 집식배양(enrichment culture)

미생물 집식배양(enrichment culture)을 위한 접종원은 채취한 토양시료 10 g을 50 ml의 Basal Salt Medium(BSM)에 넣고 25°C에서 150 rpm으로 1 시간 동안 진탕한 후 다시 1 시간 동안 정치하여 상등액 10 ml을 취하여 이를 접종원으로 사용하였다.

집식배양용 배지는 Lee 등의⁷⁾ 방법을 참고하여 BSM 배지에 100 mg/L의 endosulfan과 0.05%의 yeast extract를 넣어 사용하였다. BSM은 liter당 2 g의 KH_2PO_4 , 7.5 g의 K_2HPO_4 , 1 g의 NH_4Cl , 0.5 g의 NaCl , 0.1 g의 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 mg의 nicotinic acid에 10 ml의 trace element solution(TES)을 첨가하여 pH 6.8로 조제하였으며 여기에 0.5 g의 yeast extract와 100 mg의 endosulfan(순도 99.5%), 그리고 분산제로서 0.5 ml의 Tween80을 첨가하여 제조하였다. TES 용액은 liter 당 20 mg의 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 50 mg의 H_3BO_3 , 30 mg의 ZnCl_2 , 3 mg의 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mg의 $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 그리고 20 mg의 $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 넣어 제조하였다.

집식배양은 90 ml의 집식배지에 10 ml의 접종액을 넣고 30°C, 150 rpm으로 2 주 이상 진탕배양하며 균의 생육 여부를 육안 관찰하였다. 1차 집식배양이 끝난 후 배양액 1 ml를 취하여 신선한 집식배지 100 ml에 다시 접종한 후 동일 조건에서 2차 집식배양을 실시하였다.

Endosulfan 분해 미생물 분리

Endosulfan을 분해할 수 있는 단독 미생물은 Kim 등의⁸⁾ 방법을 응용하여 분리하였다. 집식배양에서 endosulfan의 분해능이 큰 것으로 나타난 시험구를 15,000 rpm에서 10분간 원심집중하고 BSM 액체배지로 2회 세척하였다. 모아진 미생물 균체중 적량을 100 mg/L의 endosulfan과 0.05% Tween 80이 함유된 BSM 한천평판배지에 도말하여 30°C에서 배양하면서 생성된 콜로니를 순수 분리 하였다.

Endosulfan 분해 미생물의 순수배양과 분해능 검증

선별된 endosulfan 분해 미생물들의 endosulfan 분해활성을 조사하기 위하여 분리된 미생물을 10 mg/L 농도의 endosulfan을 첨가한 1/10 LB 배지(0.1% tryptone, 0.05% yeast extract, 0.5% NaCl)에 접종하여 30°C, 150 rpm으로 7일간 배양한 후, Fig. 1과 같이 endosulfan과 여러가지 분해 산물을 가스크로마토그래피(Varian 3400CX equipped with 63Ni electron capture detector and Rtx-5 capillary column [0.25 mm(inside diameter) by 30 m; 0.25 μm film thickness; RESTEK, USA])로 분석하였다. 이때 시료 접종액을 넣지 않은 실험구를 대조군으로 함께 실험하여 endosulfan의 화학적 분해 요인을 보정하였다.

미생물 조효소액에 의한 endosulfan의 분해

분리균 *Bacillus* sp. E64-2에 의한 endosulfan의 분해

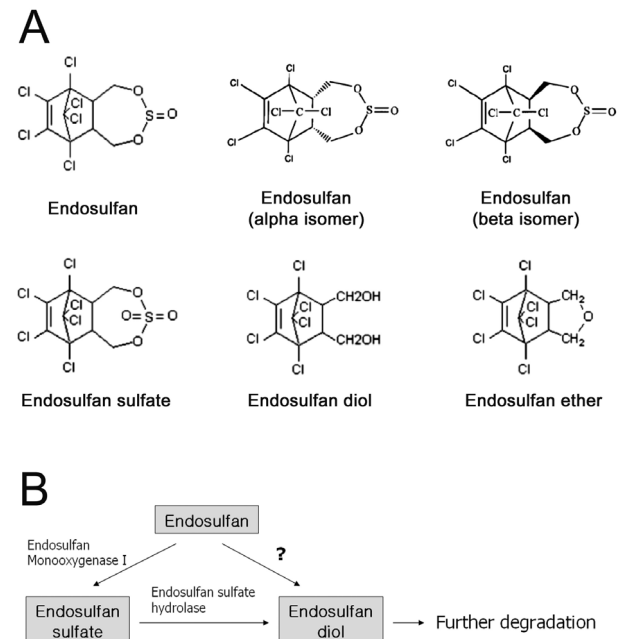


Fig. 1. Endosulfan and its suggested degradation pathway. A, chemical structures of endosulfan, endosulfan isomers, endosulfan sulfate, endosulfan diol and endosulfan ether; B, putative enzymatic degradation pathway of endosulfan.

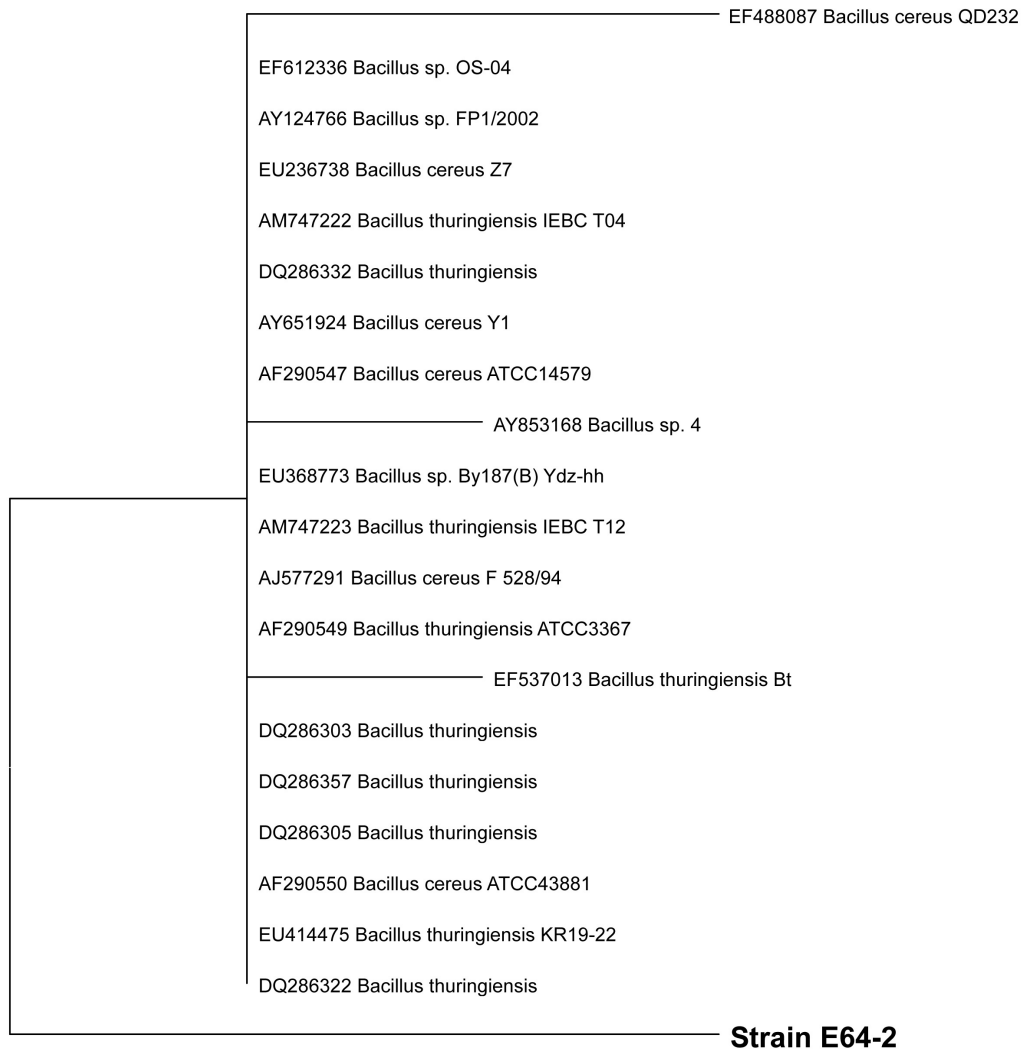


Fig. 2. Phylogenetic tree by 16S rDNA analysis of strain E64-2. The GeneBank accession numbers are shown before the strain names. The scale bar indicates 0.0001 change per nucleotide substitutions per site.

혹은 전환이 미생물이 가진 자체의 효소 작용에 의한 것인지 알아보기 위하여 10 mg/L의 endosulfan이 함유된 1/10 LB 배지에서 각각 1일과 3일, 7일간 배양된 E64-2의 배양액 50 ml에 포함된 균체를 원심집중하고 PBS buffer(0.8% NaCl, 0.2% KCl, 1.44% Na₂HPO₄, 0.48% KH₂PO₄, pH 7.0)로 2회 세척하여 배지 성분을 제외한 배양 세포만을 모았다. 모아진 배양 세포는 5 ml의 PBS buffer에 현탁하여 초음파 파쇄 후 원심분리하여 불용성 성분을 제거한 뒤 상침액을 endosulfan 분해 실험을 위한 조효소액으로 사용하였다.

효소에 의한 endosulfan의 분해 실험은 분리균을 1/10 LB 배지에서 10 mg/L endosulfan으로 1-7일간 유도하여 생육시킨 균체를 파쇄하여 조효소액을 만들고 이렇게 얻어진 조효소액에 endosulfan을 최종농도 10 mg/L이 되도록 첨

가하여 30°C에서 24시간 동안 반응하고 GC로 반응산물을 분석하여 진행하였다.

Endosulfan 분해 미생물의 동정

선별된 endosulfan 분해 미생물들은 Choi 등의⁹⁾ 방법을 변형한 분자생물학적인 방법으로 동정하였다. 미생물로부터 염색체 DNA를 분리한 후 이를 주형으로 한 PCR로 16s ribosomal DNA를 증폭하였다. 이 때 PCR primer로는 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-GTTACCTTGTTACGACTT-3')을 사용하였다. 증폭된 DNA는 cloning하여 염기서열을 분석한 후 Ribosomal Database Project site(<http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>)와 MEGA4 program을 이용한 계통분류학적 비교분석을 통하여 균주를 동정하였다.

결과 및 고찰

집식배양에 의한 endosulfan의 분해

집식배양에 사용된 182점의 시료 중 1차 및 2차 집식배양액에서 균의 생육이 확인된 시료는 144점이었다. 균의 생육이 있는 집식배양액의 endosulfan 농도를 GC로 분석한 결과 모든 실험구에서 40%에서 100% 수준으로 endosulfan 농도가 감소하였다.

이들은 GC 확인 결과 주된 분해 산물로 endosulfan sulfate, diol, ether 등을 각각 가지는 집식배양 실험구들로 분류되었다. 조사된 144점의 시료중에서 endosulfan sulfate를 분해 산물로 가지는 시료가 총 25점, endosulfan diol을 분해산물로 가지는 시료가 14점이었고 나머지 시료에서는 endosulfan의 감소는 있으나 2차 산물이 발견되지 않았거나 적은 양의 ether가 일부 발견되었으며 이러한 특성은 시료를 채취한 지역별로 거의 동일하게 나타났으므로 각 지역이나 환경의 토착 미생물 분포에 따라 endosulfan 분해 양상도 다르게 나타나는 것으로 생각되었다.

Endosulfan sulfate를 형성하지 않는 분해미생물의 분리

토양에 잔류하는 endosulfan은 알칼리조건에서 쉽게 가수분해가 일어나지만 직접 광분해를 받지는 않는다.¹⁰⁾ 또한 미생물에 의해 분해된다는 보고가 있지만 분해속도가 느리고 분해된다고 할지라도 모화합물인 endosulfan과 비슷한 독성을 가지는 endosulfan sulfate가 최종산물로 다량 생성된다.¹¹⁾ Endosulfan sulfate는 상당한 독성을 가진 것으로 보고되고 있으며¹⁾ 반면 endosulfan ether와 endosulfan alcohol은 독성이 거의 없는 것으로 보고되었다.¹²⁾ 독성이 있는 endosulfan sulfate는 토양에 상당 기간 잔류하는데 이는 주로 endosulfan의 화학구조 중에 있는 choline group의 탈염소화(dechlorination)가 잘 일어나지 않기 때문인 것으로 보고되고 있다.^{11,13)} 따라서 본 연구에서는 endosulfan을 분해하면서도 endosulfan sulfate는 형성시키지 않는 성질을 가진 미생물의 분리에 중점을 두어 미생물 분해 산물에 의한 독성증가를 막고자 하였다.

Endosulfan 분해활성이 확인된 시료 중 주로 diol을 형성한 그룹은 sulfate를 형성하지 않았으며 대부분의 endosulfan을 분해시킨 것으로 나타났다. 이들 14점의 diol 생성 시료에 대하여 다시 한 번 동일 실험을 반복하여 endosulfan 분해능력이 좋은 시료 4점을 최종 선별하였다. 선별된 시료는 집식배양에 사용한 BSM 한천평판배지에 도달하여 단일 colony를 얻은 후 이들을 3회 계대배양하여 총 10 종의 미생물 균주를 순수 분리하였다.

순수 분리 미생물에 의한 endosulfan의 분해 양상

선발 균주들의 endosulfan 분해활성을 측정하기 위하여 분리된 10 종의 균주를 재료 및 방법에서 설명한 바와 같이 10 mg/L의 endosulfan이 함유된 1/10 LB 배지에 접종하

여 30°C에서 7일간 배양한 후 endosulfan의 분해도를 조사하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 선별된 10 종의 균주 배양액 모두에서 endosulfan이 줄어들고 diol이 생성되었다. 이 중에서 E64-2 균주는 diol의 생성량이 많고 동시에 endosulfan의 감소량도 커서 이 균주를 최종적으로 endosulfan 분해 균주로 선별하였다.

선발된 균주 E64-2를 동정하기 위하여 그람염색을 실시한 결과 그람 양성의 간균으로 판명되었다. 보다 구체적인 동정을 위하여 이 균의 16s rDNA sequence를 cloning하여 염기서열을 결정하고 계통분석을 한 결과 분리균주 E64-2는 *Bacillus thuringiensis*나 *Bacillus cereus*와 99% 이상의 근연관계를 가지고 있는 균으로 나타났다[Fig. 2]. 두 종의 미생물들은 실제로 서로의 아종으로 분류되기도 할 정도로 근연관계에 있으며 토양환경 중에서 흔히 발견되고 있다. 분리된 균주는 이들과 매우 유사한 균주로서 역시 토양시료로부터 분리되었으므로 endosulfan의 분해를 목적으로 토양에 적용되었을 경우 생존율이나 점유율에 문제가 없을 것으로 보인다.

Fig. 3은 분리된 *Bacillus* sp. E64-2를 10 mg/L의 endosulfan이 첨가된 1/10 LB 배지에서 생육시키며 그 증식상태와 endosulfan 분해 활성을 측정한 것이다. 분리균 *Bacillus* sp. E64-2은 배양 시작 후 곧바로 증식을 시작하였고 대수증식기를 지나면서 균체의 흡광도는 약간 감소하였으나 endosulfan의 분해는 계속되는 것으로 나타났다. 분해는 3일 후 31%, 5일 후 62%의 endosulfan이 감소되는 것으로 나타났으며 배양 7일 후에는 alpha 및 beta 형태의 endosulfan이 완전히 분해되었다. 이때 2차 산물로는 5 mg/L 이상의 endosulfan diol만 검출되었다.

미생물 효소에 의한 endosulfan의 분해 양상

Table 2에서와 같이 균주 E64-2의 endosulfan 유도 1일

Table 1. Degradation products of endosulfan by the isolated strains.

Strain	Endosulfan (mg L ⁻¹)				
	alpha	beta	ether	diol	sulfate
E61-1	1.52	0.94	0.44	3.42	0.00
E61-2	1.77	1.26	0.95	2.04	0.00
E61-3	2.49	1.43	0.90	1.56	0.00
E64-1	1.81	1.26	0.80	1.23	0.00
E64-2	0.93	0.98	0.39	4.33	0.00
E167-1	0.95	0.94	0.87	3.33	0.00
E167-2	2.38	1.38	0.83	1.34	0.00
E173-1	1.65	1.20	0.75	1.53	0.00
E173-2	2.61	1.45	0.77	0.79	0.00
E173-3	2.21	1.35	0.75	1.10	0.00
Control	3.54	1.86	0.00	0.00	0.00

Table 2. Transformation of endosulfan to endosulfan diol by the crude enzyme of *Bacillus* sp. E64-2

Culture time* (day)	Endosulfan (mg L ⁻¹)**				
	alpha	beta	ether	diol	sulfate
0	3.38	1.81	0.00	0.00	0.00
1	2.86	1.90	0.00	0.00	0.00
3	2.99	1.73	0.00	0.14	0.00
7	3.12	1.84	0.00	0.38	0.00

* Strain was cultured in 1/10 LB media with 10 mg L⁻¹ of endosulfan.

** 10 mg L⁻¹ of endosulfan was incubated with the cell extract of strain E64-2 in PSB buffer, pH 7.0 at 30°C for 24 h before GC analysis.

제의 조효소액으로는 endosulfan의 분해가 거의 일어나지 않았으나 endosulfan 유도 3일차와 7일차의 조효소액은 endosulfan을 endosulfan diol로 일부 전환하는 능력을 나타내었다. 이 실험 결과로 볼 때 균주 E64-2가 가진 효소 혹은 효소 복합체는 endosulfan을 endosulfan diol로 전환하여 분해시키는 것으로 추정된다. 조효소액은 살아있는 세포가 아니므로 시간이 지남에 따라 활성을 잃어버리는 효소의 수준을 유지할 수 없는 상태이므로 생세포에 비해 상대적으로 분해 활성이 낮게 나온 것으로 보인다. 또한 조효소액은 PBS buffer에 의하여 pH 7.0으로 고정되어 있었으므로 알칼리 조건에 의한 가수분해 촉진효과 역시 없었기 때문에 상대적으로 낮은 endosulfan diol이 검출된 것으로 보인다. 한편 검출된 반응물의 endosulfan 및 그 유도체는 Table 2에 나타내었다.

Endosulfan 분해균의 성장과 pH

Endosulfan은 알칼리 조건에서 쉽게 가수분해가 일어난다는 점에 착안하여(The Merck index, 1996), endosulfan 분해균으로 분리된 *Bacillus* sp. E64-2가 배양액중의 pH를 변화시키는지 알아보았다. 실험은 endosulfan 분해 실험과 동일한 조건으로 일주일간 배양하며 매 24시간마다 pH 변화를 조사하였다. Figure 3에서 보는 바와 같이, pH 7.0이던 배양 배지의 초기 pH는 균의 성장이 급속히 일어나면서 1일 후에는 pH 6.4로 떨어졌다가 이후에 점차로 증가하여 7일차에 이르러서는 pH 8.4까지 증가하였다.

실제로 배양액 중의 알칼리 조건에서 endosulfan이 endosulfan diol로 전환되는지 알아보기 위하여 균체없이 각 pH 별로 제조한 배양 배지만을 가지고 endosulfan의 전환을 알아보았다. 배양 배지 5 ml를 각 pH 별(pH 3.0-9.0)로 조건을 맞추고 여기에 10 mg/L의 endosulfan을 넣어 30°C에서 24시간 정치 후 상등액을 GC 분석하였다. Table 3과 같이 pH 7.0 이하에서는 endosulfan의 전환이 전혀 관찰되지 않았으나 pH 8.0 이상에서는 endosulfan이 ether나

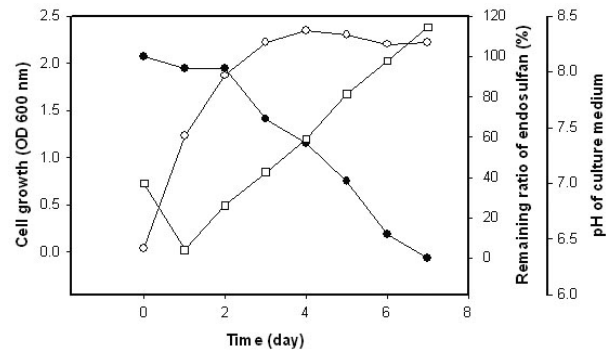


Fig. 3. Growth of endosulfan degrading strain E64-2, degrading rate of endosulfan and variation of pH. Cell was grown in the 1/10 LB containing 10 mg/L of endosulfan at 30°C. ○-○, cell growth; ●-●, % of remaining endosulfan. □-□, pH of culture medium.

Table 3. Effect of pH on endosulfan transformation

pH*	Endosulfan (mg L ⁻¹)			
	alpha	beta	ether + diol	sulfate
Control**	72.8	27.2	0.0	0.0
3.0	75.6	24.4	0.0	0.0
4.0	73.3	26.7	0.0	0.0
5.0	74.6	25.4	0.0	0.0
6.0	72.0	28.0	0.0	0.0
7.0	73.8	26.2	0.0	0.0
8.0	55.6	3.1	41.3	0.0
8.5	47.4	1.8	50.8	0.0
9.0	29.2	2.6	68.3	0.0

* 100 mg L⁻¹ of endosulfan was incubated for 24 h at each pH and 30°C.

** 100 mg L⁻¹ of endosulfan in pH 7.0 without incubation.

diol로 전환되는 현상이 나타났다. 생물학적 요인에 의한 endosulfan의 분해는 Figure 1B에서와 같이 endosulfan sulfate를 경유하는 것으로 보고되고 있으나 높은 pH에서의 가수분해작용과 같은 화학적 요인도 생물학적 요인과 결합하여 나타나는 것으로 추측되고 있다.¹⁴⁾ 따라서 본 논문의 분리 균에 의한 endosulfan diol의 생성 및 분해는 효소작용과 더불어 배양액의 pH가 증가하는 성질에서 기인하는 것으로 판단된다.

요 약

우리나라에서 유일하게 사용되고 있는 유기염소계 살충제 endosulfan을 미생물학적 방법으로 분해하기 위하여 총 182점의 토양, 퇴비 및 액상의 미생물 시료를 접종원으로 실시한 endosulfan 집식(enrichment) 실험으로부터 endosulfan을 endosulfan diol

형태로 경유하여 분해하는 균주를 선발하고 그 이름을 *Bacillus* sp. E64-2로 명명하였다. 분리균주는 7일만에 배지에 함유된 10 mg/L 농도의 endosulfan을 99% 이상 분해하였다. 또한 분리균주 *Bacillus* sp. E64-2의 조효소액은 endosulfan을 endosulfan diol로 전환하는 활성을 가지고 있었으며 균주 자체는 생육 중에 배지의 pH를 배양 7일 만에 pH 7.0에서 pH 8.4로 올릴 수 있었다. 이러한 효소활성과 pH 증가 능력은 분리균주 E64-2에 의한 endosulfan 분해의 주된 작용 인자인 것으로 판단되며 이 균주는 효소에 의한 분해작용과 pH 상승작용을 통하여 토양에 잔류하는 난분해성 물질인 endosulfan을 bioremediation하기 위한 연구의 기초 균주로서의 가치가 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구개발사업(과제번호 : 20080401-033-084-001-03-00)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Rao, D. M. R. and Murty A. S. (1980) Persistence of endosulfan in soils. *J. Agric. Food Chem.* 28, 1099-1101.
- Kim C. S., Lee H. D., Ihm Y. B. and Im G. J. (2007) Runoff of endosulfan by rainfall simulation and from soybean-grown field lysimeter. *Korean J. Environ. Agric.* 26(4), 343-350.
- Luchini, L. C., Peres, T. B. and de Andrea, M. M. (2000) Monitoring of pesticide residues in a cotton crop soil. *J. Environ. Sci. Health B.* 35, 51-59.
- Antonious, G. F., Byers, M. E. and Snyder, J. C. (1998) Residues and fate of endosulfan on field-grown pepper and tomato. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 54, 848-854.
- Hodges, L. C., Bergerson, J. S., Hunter, D. S. and Walker, C. L. (2000) Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells in vitro. *Toxicol. Sci.* 54, 355-364.
- Zaugg, R. H. and Swarz J. R. (1981) Assessment of future environmental trends and problems: industrial use of applied genetic and biotechnologies. US EPA-600, 8-81-020.
- Lee S. H., Shin J. H., Choi J. H., Park J. W., Kim J. E. and Rhee I. K. (2004) Isolation and Characterization of Chlorothalonil-dissipating Bacteria from Soil. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 32(1), 96-100.
- Kim Y. M., Park K., Kim W.C., Shin J. H., Kim J. E., Park H. D. and Rhee I. K. (2007) Cloning and Characterization of a Catechol-Degrading Gene Cluster from 3,4-dichloroaniline Degrading Bacterium *Pseudomonas* sp. KB35B. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4722-4727.
- Choi J. H., Im W. T., Liu Q. M., Yoo J. S., Shin J. H., Rhee S. G. and Roh D. H. (2007) *Planococcus donghaensis* sp. nov., a starch degrading bacterium isolated from the East Sea, South Korea. *Int. J. Sys. Evol. Micro.* 57, 2645-2650.
- The Merck index (1996) Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.
- Kullman S. W., Matsumura F. (1996) Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 593-600.
- Barnes, W. W. and Ware G. W. (1965) The absorption and metabolism of ¹⁴C-labeled endosulfan in the house fly. *J. Econ. Entomol.* 58, 286-291.
- Guerin T. F. (1999) The anaerobic degradation of endosulfan by indigenous microorganisms from low-oxygen soils and sediments. *Environ. Poll.* 106, 13-21.
- Sutherland T. D., Horne I, Lacey M. J., Harcourt R. L., Russel R. J. and Oakeshott J. G.. (2000) Enrichment of an endosulfan-degrading mixed bacterial culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2822-2828.