

토양세균과 농약분해

농약의 약효를 떨어뜨릴 만큼
토양미생물은 농약을 분해한다

牟津雅仁 (일본농림수산성 야채·다업시험장) 번역 자료조사실

농작물을 안정적으로 생산하기 위하여 병해충 방제는 불가피하며, 농약은 이 역할을 충분히 해 내기를 요구받고 있다. 한편 생태계에의 영향을 고려하여 농약은 작물, 토양, 수질에 오염을 일으키지 않도록 요구되고 있다. 미생물에 의한 농약의 분해는 이러한 어떤 요구에도 깊이 관여되어 있다.

생태계에 있어서 농약의 분해에 미생물이 맡은 역할은 크다. 미생물의 농약분해능력이 낮아지면 잔류문제를 일으키게 되고, 반대로 농약의 분해속도가 현저하게 높으

면 농약의 효과는 감소한다. 실제로 분해의 촉진에 의한 농약 효과의 감소는 살충제 카보후란 등에서 인정되고 있다.

이러한 문제는 농약분해 미생물의 생태가 밝혀지고, 농약의 동태를 예측한 관리가 가능해지면 해결될 수 있으리라 생각된다. 그러기 위해서는 미생물에 의한 농약 분해의 기작을 효소 및 유전자 수준까지 해명하지 않으면 안된다.

이 글에서는 비교적 연구가 진행되고 있는 세균에 의한 농약의 분해에 대하여 소개한다.

1. 생태계에서의 미생물

생태계에는 다양한 종류의 미생물이 존재하며 질소, 탄소 등 물질 순환에 중요한 역할을 하고 있다. 탄소순환에 있어서 죽은 생물의 분해에 의한 탄산가스의 생성은 미생물에 의한 것이 대부분이다. 또한 질소순환과정에서 질소의 고정이나 탈질(脫窒)도 미생물에 의한 작용이다. 이와같이 미생물은 자연계에서 분해자, 생산자로서 생태계를 유지하고 있다.

토양에는 무수한 미생물이 존재하지만 정확한 숫자를 헤아리기는 어렵다. 간편하여 널리 이용되는 방법으로 희석평판법(稀釋平板法)이 있지만 한천배지상에 콜로니를 형성하지 않는 미생물도 있어 실제 숫자보다 낮은 값이 얻어진다. 현미경 하에서 미생물을 세는 직접 검경법(直接檢鏡法)은 조작이 복잡하여 숙련을 요하지만 가장 신빙성이 높은 것으로 생각되고 있다. 이 방법으로 측정하면 토양 1g당 1억 내지 100억 마리의 미생물이 존재한다.

한편 사상균과 세균의 비율을 생물량(biomass)으로 비교하면 초지 및 밭토양에는 사상균이 3~4배

많고, 물기가 많은 논토양에는 세균이 많다. 이와같이 토양의 건조·습 상태에 따라 사상균과 세균의 분포비율은 달라진다.

기상조건, 시비(施肥) 등에 의한 토양의 물리성 및 화학성의 변화는 토양미생물의 활동에 영향을 미친다. 예를들면, 질소비료를 많이 주어 토양산도(pH)가 3정도인 강산성화된 차밭(茶園) 토양에는 미생물의 수가 십만마리 정도로 농지토양으로서는 아주 적다. 토양 호흡량도 훨씬 떨어지고 MEP, NAC 등 농약의 토양중 분해속도는 pH5의 차밭토양에 비해 늦다. 이와같이 토양환경은 미생물의 활동에 중요한 영향을 주게된다. 따라서 토양분해미생물을 연구할 때는 분리원(分離源)인 토양의 성질 및 환경조건을 충분히 파악할 필요가 있다.

2. 공생에 의한 농약 분해

생태계에서는 각종 미생물의 분해력이 상호작용하여 보다 강력한 분해력이 만들어지고 있다. 단일의 미생물이 농약을 완전히 분해하기 위해서는 분해에 필요한 일련의 분해대사계를 갖고 있어야

한다. 그러나 합성유기물인 농약을 이용하는 대사계를 갖고 있는 미생물이 널리 존재한다고는 생각되지 않으며, 생태계에서 농약의 분해는 상호대사작용(co-metabolism)의 연속 및 미생물의 공생(共生)에 의한 분해가 중요할 것으로 생각된다.

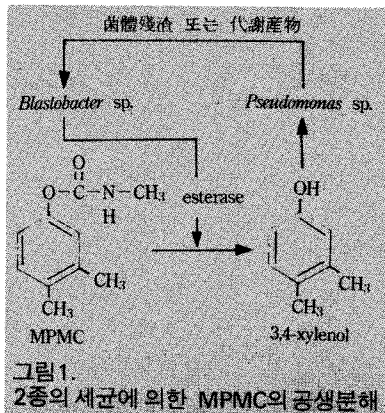
상호대사작용과 농약의 분해

적당한 기질의 존재하에 증식하고, 이 과정까지 농약의 분해를 행하는 경우, 이를 상호대사작용이라 한다. 이것에 의한 농약의 분해가 미생물의 증식에 이용되지는 않는다. 그러나 다른 미생물과 공동으로 분해가 이루어지는 조건에서는 2차적으로 증식에 필요한 인자가 주어져 서로 분해력을 합쳐 증식하는 경우가 있다.

필자의 연구실에서는 살충제 MPMC의 분해에서 이러한 예를 볼 수 있었다. 토양에서 잘 분리한 MPMC를 탄소원으로 한 혼합배양계는 두 종류의 세균으로 구성되어 있었다. 하나는 *Blastobacter* 속(屬)의 세균으로 카바메이트 결합을 가수분해 하지만 MPMC 및 그 가수분해물을 이용하는 능력이 없다. 다른 하나는 *Pseudomonas* sp.

로 3,4-xylene을 탄소원으로해서 생육이 가능하다. 이 두 종류의 세균을 혼합배양하면 둘다 증식한다. 이것은 *Blastobacter* sp.가 상호대사작용에 의해 MPMC를 가수분해하여 만들어낸 3,4-xylene을 *Pseudomonas* sp.가 이용하고, 이때 생긴 대사산물이나 균체잔사를 *Blastobacter*가 이용하는 공생계(共生系)였다(그림1).

파라치온에 있어서도 인산에스테르의 가수분해력을 가진 *Pseudomonas stutzeri*와, 그 반응으로 생성된 p-nitrophenol을 이용하는 *P. aeruginosa*의 2종의 세균에 의한 공생계가 보고되고 있다. 이들은 모두 분해대사계를 보완, 성립하는 공생계이지만, 분해효소의 반응에 필요한 인자의 공급을 통한



합성유기물의 공생에 의한 분해도 보고되고 있다.

생태계에서는 다종다양한 미생물간의 상호대사작용의 연속 및 생성된 분해물을 이용하는 미생물들의 작용에 의해 농약등의 합성유기물이 분해되는 것으로 생각된다. 그러나 이제까지 보고된 공생에 의한 분해는 모두 실험실 수준에서 얻어진 결과이다. 앞으로는 이 결과를 기초로 토양등 복잡한 생태계에서 실제로 일어나고 있는 공생에 의한 분해계를 밝힐 필요가 있다.

3. 단일 미생물에 의한 농약의 분해

토양으로부터 간혹 단독으로 농약을 분해, 이용하는 세균이 분리된다. 농약을 이용하는 능력을 가진 세균은 그람(gram) 음성균에는 *Pseudomonas*속, 그람 양성균에는 *Arthrobacter*속에서 많이 발견되고 있다. 둘다 방향족 탄화수소의 분해대사계를 지닌 것이 많기 때문에 *Pseudomonas*는 옛부터 생화학 연구재료로 이용되고 있다.

단일미생물이 농약을 이용하는 경우 몇단계를 거치는 분해를 촉

매하는 일련의 효소가 필요하다. 필자는 NAC를 탄소원, 에너지원으로 이용하는 *Arthrobacter* sp.를 분리하였는데, 이것은 처음에 카바메이트 결합을 가수분해 하면서 생성된 1-naphtol을 살리칠산을 거쳐 분해하는 대사계를 갖추고 있다. 이 밖에도 2,4-D, MEP, 파라치온, EPTC등 많은 농약을 이용하는 미생물이 보고되고 있다.

그런데 농약을 이용하는데 필요한 대사계와 분해효소는 본래 미생물에 존재하는 것인가? 이 문제를 밝히기 위해서는 분해효소와 그 유전자에 대하여 이해하지 않으면 안된다.

4. 농약 분해효소

단독으로 농약을 탄소원 및 에너지원으로 이용하는 미생물은 농약의 대사에 필요한 효소계를 갖추고 있다. 또한 상호대사작용에 의해 농약을 분해하는 미생물도 최저 1종 이상의 농약에 작용하는 효소를 갖고 있음은 당연하다. 이들 분해효소는, 기존 효소가 농약에도 작용하는 경우와 변이 등에 의해 농약 분해 효소가 생기는 경우를 고려해 볼 수 있다.

효소생산 미생물 존재때문

유기인계 및 카바메이트계 살충제는 토양중에서 비교적 쉽게 분해된다. 이것은 인산에스테르 결합과 카바메이트 결합을 가수분해하는 효소를 생산하는 미생물이 존재하기 때문이라 생각된다. 필자는 토양에서 잘 분리되는 *Blastobacter* sp.에서 NAC의 카바메이트 결합을 가수분해하는 효소를 정제하여 그 성질을 밝힌 바 있다. 카바메이트 결합은 에스테르 결합과 아미드 결합을 통하여 구성될 때 어떤 것이 가수분해되어도 중간생성물이 불안정하여 동일한 분해물을 생성한다(그림2). 따라서 카바메이트계 결합에 작용하는 효소는 amidase와 esterase가 전부이

다. *Blastobacter* sp.가 생산하는 효소는 초산 naphthyl등의 에스테르 결합에 작용하기 때문에 esterase라고 생각된다.

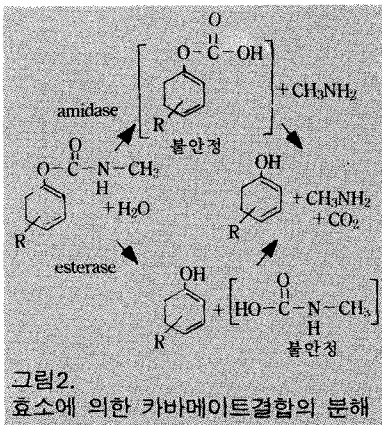
한편 Mulbry등(1989)은 3종의 세균으로 부터 정제한 파라치온 가수분해효소는 분자량 및 존재형태, 기질특이성이 다르다는 것을 밝혔다. 이것은 동일한 반응을 촉매하는 효소에도 미생물 종류에 따라 성질이 다양하다는 것을 나타내고 있다.

이와같이 세균이 새로운 합성유기물의 분해력 및 이용성을 획득하는 과정에는 유전자의 동적 측면이 관여되는 경우가 있다.

5. 농약 분해 효소의 유전자와 플라스미드

유전자는 정적인 것으로 생각되지만 미생물간에 이동하여 세포 내에서 재편성하는등 동적인 성질을 갖는다.

세균에서는 농약 분해력 획득에 유전자의 동적인 측면이 관계하는 경우가 있어 유전자 전달기구와 DNA의 재편성, 효소의 진화라는 관점에서의 연구도 진행되고 있다.



자기복제력 가진 플라스미드

플라스미드는 염색체와는 별도로 세포내에 존재하여 자기복제력을 갖는 DNA인데 환상구조를 가진 것이 많다. 플라스미드 중에는 합성유기물 분해에 관여하는 것이 다수 발견되고 있다. 특히 유기염소 화합물 및 방향족 탄화수소의 분해에 대하여 효소 및 그 유전자의 구조, 발현억제기구가 상세히 검토되고 있다.

농약분해에 관련된 유전자의 보고는 많지 않지만 파라치온 가수분해효소의 유전자는 비교적 상세하게 조사되어 있다. 필리핀 토양에서 분리된 *Flavobacterium* sp.과 미국에서 분리된 *Pseudomonas diminuta*는 각각 37kb와 70kb의 플라스미드 상에 파라치온 가수분해효소 유전자를 갖지만 이들의 유전자는 분리된 장소가 지리적으로 큰 격차가 있음에도 불구하고 상당히 높은 상동성(相同性)을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 이것은 농약분해 유전자의 생태계에 관한 기원과 분포, 이동을 관찰할 때 중요한 사항이라고 할 수 있다.

필자는 일본의 토양에서 살충제 NAC의 이용력을 갖는 *Arthrobacter*

sp.를 분리했다. 이 세균은 분자량이 다른 세가지 플라스미드를 갖고 있는데 이중 두가지가 NAC 분해에 관여한다. 즉 한가지는 카바메이트 결합 가수분해력을, 또 하나는 1-naphtyl의 대사계를 연결하고 있다. 이와같이 복수의 플라스미드가 분해에 관여하는 경우, 토양중에 농약분해에 관계하는 플라스미드의 이동이 일어나며 이용성균이 출현할 가능성이 예상된다.

유전자 전달로 분해력 출현

Tomasek등(1989)은 농약 분해력이 높은 토양에서 카바메이트계 살충제 카보후란을 분해하는 *Achromobacter* sp.를 분리하여 카바메이트결합 가수분해력이 약 100kb인 플라스미드에 연결되고 있는 것을 밝혀냈다. 카보후란은 미생물에 의한 분해촉진으로 효력이 떨어진다고 알려진 농약이므로 분해촉진에는 플라스미드와 그 전달이 관여하고 있을 가능성이 암시되었다. 이처럼 유전자의 이동은 합성유기물 분해력을 갖는 세균의 출현에 관여하며 생태계의 정화력에 영향을 주는 것으로 생각된다.

2,4-D의 분해는 농약으로는 가장 잘 연구되어 있다. 많은 종의

세균에서 분리된 2,4-D 분해 플라스미드 간에 상동성이 알려졌고 유전자의 배열에서 2,4-D분해 유전자의 기원은 클로로안식향산 분해 플라스미드와 같은 것으로 나타났다. 이들은 생태계에서 분해 미생물의 출현에는 미생물간의 유전자 전달과 재편성이 관여함을 나타내고 있다.

6. 농약분해 미생물 연구의 금후전망

세균에 의한 합성유기물 분해 연구는 분해효소와 그 유전자, 발현제어기구등 다방면에서의 연구가 이루어지고 있다. 그러나 연구 대상은 일부 합성유기물에 한정되어 농약에 관한 연구는 적다. 또한 세균과 동일한 상태의 생태계에서 농약분해에 중요한 기능을 갖고 있는 사상균에 대하여는 분해효소와 유전자 수준의 연구는 전혀 행해지고 있지 않다. 이것은 세균에 비하여 유전적으로 복잡하여 연구가 곤란하기 때문으로 생각되지만 생태계에서의 농약의 분해를 밝히기 위해서는 사상균에 대해서도 유전자 수준의 연구를 할 필요가 있다. 또한 미생물에 의한 농약분

해의 연구가 실험실 수준에서 많이 행해질 때마다 농지에서 행해지고 있는 농약살포 등과 비교하여 엄격한 조건하에서 분해균의 분리가 행해지고 있다.

실험실 연구결과 응용이 큰 과제

미생물 연구에는 한천배지와 액체배지에 의한 순수배양이 이용되고 있지만 토양에는 많은 다양한 미생물이 공존하며 토양입자 위에 존재하는등 생육장소도 순수배양과는 다르다. 따라서 생태계에 관한 농약분해의 연구로 실험실 수준에서 얻어진 결과를 어떻게 응용할 수 있는가가 큰 과제이다.

분자생물학이 기여한 지식과 그 기술의 응용은 농약분해 미생물의 생태연구에 크게 공헌한 것으로 생각된다. 이런 기술을 이용하여 환경내 특정미생물을 검출하는 기술개발이 진행될때 농약분해 미생물 연구로의 응용도 기대된다.

농약분해균에 대한 분해효소 및 그 유전자와 발현제어기구에 관한 유전자의 기원과 분포, 생태에 대한 종합적 연구를 추진한다면 생태계에서 농약동태의 예측과 미생물에 의한 농약분해의 제어가 가능해질 것으로 생각된다.