

## Metalaxyl, Carbofuran, Simazine을 처리한 밭토양에서의 미생물수의 변동

이왕휴 · 김주희<sup>1)</sup>

전북대학교 농과대학 농생물학과(농업과학기술연구소) · 전북농업기술원 식물환경과<sup>2)</sup>

### A Fluctuation of Soil Microflora in Upland Soil Treated with Metalaxyl, Carbofuran and Simazine

Wang-Hyu Lee and Ju-Hee Kim<sup>1)</sup>(Department of Agricultural Biology, College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea: <sup>2)</sup>Department of Plant Environment, Chonbuk Provincial R.D.A. Iksan 570-140, Korea)

**Abstracts :** The effects of metalaxyl(granule), carbofuran(granule) and simazine(water soluble powder) on the soil microflora were conducted at field soil between Iksan and Chonju province. Pesticides were divided into 0.5, 1, 1.5 and 2.0 times of normal of field, respectively.

The number of fluorescent *Pseudomonas* was ranged from  $10^3$  to  $10^6$ /g in both field soil treated with cabofuran. *Pseudomonas* concentration of Chonju field soil slowly increased and approached the maximum level at 56 day after treatment(DAT). It showed the higher at 14DAT than other DAT in Iksan field soil treated with metalaxyl or simazine, whereas it increased again at 112 DAT in metalaxyl treatment. Cabofuran treatment of both field soil showed maximum *Pseudomonas* number at 28 DAT compared to that of other treatments. In Chonju field soil, those *Pseudomonads* of metalaxyl and simazine treatment increased the highest level at 7 DAT. Simazine treatment decreased it's number from the beginning of experiment.

In both soil, metalaxyl treatment decrease the general fungi number at 7 DAT, but increase at 14 and 56 DAT in Iksan field soil. However it increased at 56 DAT in Chonju field soil. Cabofuran treatment of Iksan field soil tended to decrease general fungi number at 28 DAT, but was ranged from 1.0 to  $8.6 \times 10^4$ /g for the rest of experimental period. It started to increase at 56 DAT simazine treatment of Iksan.

General bacterial concentration both soil treated with cabofuran was belong to  $26.6 \sim 29.6 \times 10^6$ . It was the highest at 56 DAT, but was not significantly different.

General actinomycetes number was highly increased at 7 and 112 DAT compared to that of other DAT.

*Pseudomonas putida* or *P. fluorescens* from both field soil was separated and identified 10 to 30 of all 104 *Pseudomonas*, respectively. All isolated microorganisms showed chemical resistance of 100ppm metalaxyl, cabofuran and simazine treatment

**Key word :** metalaxyl, carbofuran, simazine, microflora

### 서론

노동력 감소와 노동인구의 고령화의 현재 농업조건에서는 농약의 사용은 필수적이다. 농민이 사용하는 약제는 사용하기 편리한 약제 형태(주로 입제), 농약 효과가 오랜 기간 지속되는 농약 등이 사용되고 있다. 그러나 이같이 농약의 사용이 필수적인 반면에 인축이나 야생 동물에 대한 독성문제, 약제내성으로 인한 생태계의 변화<sup>1)</sup> 등 부작용이 속출하고 있다. 더욱이 처리 작물의 약해는 물론 후

작물에 약해가 발생하여 농민은 농민대로, 업자는 업자대로 엄청난 손실을 감수해야만 하는 실정으로 농약이 환경에 미치는 영향에 대한 연구가 최근 많이 이루어지고 있다.

우리 나라에서 농약이 미생물에 미치는 영향을 조사하기 시작한 것은 1975년<sup>2)</sup>이며, 그후 꾸준히 외국<sup>3-7)</sup> 및 국내에서 연구가 이루어져 왔다<sup>8-10)</sup>. 논 제초제인 PCP는 일반적으로 토양 중의 세균 수는 증가시키나, 방선균은 감소시킨다는 보고<sup>11)</sup>와 atrazine은 사상균과 세균에 각각 영향을 끼치는데 처음에는 곰팡이가 감소하고 세균은 증가하나, 시간

이 경과하면 곰팡이는 다시 증가한다고 한다<sup>12)</sup>. 살균제의 경우는 Metalaxyl에 대한 E9토양에서 반감기가 14일로 보고하였고, 14종의 토양미생물이 분리되었음을 보고하였다<sup>13)</sup>.

이처럼 농약연용과 토양미생물상 변화의 상관 관계는 미생물이 농약을 탄소원이나 질소원으로 이용함<sup>9)</sup>으로써 잔류된 농약을 분해하는 것으로 추정되어, Kim<sup>10)</sup>은 metalaxyl과 거의 비슷한 작용을 하는 oxadixyl의 2약제를 공시하여 분해에 미치는 중금속과 비료 성분의 영향을 검토한 바 있다. Han<sup>9)</sup>은 제초제 Napropamide의 분해 미생물로 *Staphylococcus* 및 *Actinobacillus*를 분리하여 사용 농약이 탄소원으로 이용됨을 보고하였고, *Staphylococcus*속 Group II가 공시약제를 1회 처리 시에 급속한 분해, 2회 연용 처리로는 분해가 지연되었으나, 3회 연용 처리에는 다시 급속한 분해를 보고하고 있다. 그러나 최근에는 제초제 분해에 관한 연구가 대부분이고, 분해 가능한 미생물로 보고된 종으로는 *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp. 등이 보고되고 있다<sup>9)</sup>.

따라서 본 실험은 점토 함량은 거의 비슷하나 양분의 차이가 뚜렷한 두 토양에 일반 농가에서 사용되는 살균제(리도밀 입제), 농약 효과가 오랜 기간 지속되는 살충제(카보입제) 및 제초제(싸마진 수화제)를 공시하여 포장 처리하므로, 토양내 미생물상에 미치는 요인을 구명하여 농약 분해이용 가능성을 검토하고자 시기별 각 미생물상의 변화를 조사하였고, 분리한 미생물의 농약 처리 배지에서의 생육, 간이 동정 등을 수행하여 약간의 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 공시약제 및 토양

공시약제는 Table 1과 같이 상품화된 Metalaxyl, Cabofuran, Simazine을 구입하여 전주 및 익산의 두 포장에 살균제, 살충제, 제초제를 각각 기준량을 기본으로 한 농도 200%, 150%, 100%, 50%로 처리하였고, 세균의 내성시험에는 원제를 구입하여 배지에 100ppm을 첨가하여 생육여부를 조사하였다. 대조구는 멸균수를 사용하여 두 포장의 토양에 동일한 방법으로 처리하였다.

#### 미생물의 분포

Table 1. Characteristics of pesticides used

| Common name | Chemical name   | Formulation type |
|-------------|---|------------------|
| Metalaxyl   | 2,3-dihydro-2,2-dimethyl benzofuran-7-yl methyl carbamate | 3% granule       |
| Cabofuran   | Methyl N-(2-methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-DL-alaninate     | 2% granule       |
| Simazine    | 2-Chloro-4,6 bis(ethylamino)-1,3,5-triazine               | 50% WP           |

공시약제를 각각의 농도별로 처리된 포장에서 미생물상의 변화를 조사하기 위하여 0, 7, 14, 28, 56, 112일 간격으로 채취한 토양 1g을 희석평판법을 이용하여 출현한 균수를 계수하였다. 사용된 배지는 형광 *Pseudomonas*의 경우 *Pseudomonas* agar F (PAF, Difco Co. U. S.), 일반 진균은 rosebengal agar, 일반 세균은 Tryptic soy agar(Difco Co. U. S.), 일반 방선균은 1/10 Tryptic soy agar를 사용하였다. 이용한 배지의 조성은 다음과 같다.

- 1) Rosebengal 배지 :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, peptone 5g, Glucose 10g, Rosebengal 0.033g, Agar 20g, D. W. 1 L, pH 6.8, SM 30,000 $\mu\text{g}$
- 2) KB Agar (PAF) : Proteose peptone #3 20g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.5g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5g, Glycerin 10ml, Agar 15g, ion water 1 L, pH 7.2
- 3) 1/10 Tryptic soy agar : Difco TSA 4g, Agar 13.5g, D. W 1 L
- 4) Tryptic soy agar(TSA) : Tryptic soy agar 40g, D. W. 1L

#### 형광 세균의 분리 및 간이동정

PAF배지에서 형광을 나타내는 세균만을 임의로 분리하여, 각각의 균주를 재희석하여 단일콜로니를 순수 분리하였다. 분리된 세균은 20% TSB(trypic soy broth)에 넣어 1일간 진탕 배양한 후 -70 $^{\circ}\text{C}$ 의 초저온 냉동고에 보존하였다가 필요시 해동하여 사용하였다.

*Pseudomonas fluorescens* 및 *P. putida*를 구분하기 위하여 Katoh와 Itoh(1983)<sup>14)</sup>가 개발한 P2, P3배지에 이식하여 형광 여부로 구분하였다. 그 조성은 다음과 같다.

- 1) P2 agar:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, KCl 0.2g,  $\text{NaNO}_3$  5g, Desoxycholate 1g, Hippurate 1g, Agar 15g, D. W. 1L, pH 7.2-7.4
- 2) P3 agar:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, KCl 0.2g,  $\text{NaNO}_3$  1g, Desoxycholate 2g, Trehalose 5g, NaCl 5g, Agar 15g, D. W. 1L, pH 7.2-7.4

#### 처리전 토양 분석

토양성분은 농업과학기술연구소 토양분석법(1988)<sup>15)</sup>에 따라 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 처리전 토양의 성분 비교

처리전 토양의 성분 분석 결과는 Table 2과 같이 익산 토양은 미사질 양토였고, 전주토양은 양토였다. 익산토양의

Table 2. Physical and chemical characteristics of experimental field soils

| Location | Texture    | pH   | O.M. | Exc. cation |      |      |      | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> |
|----------|------------|------|------|-------------|------|------|------|-------------------------------|
|          |            |      |      | Ca          | Mg   | K    | Na   |                               |
| Iksan    | Silty loam | 6.10 | 4.30 | 2.42        | 0.64 | 0.37 | 0.17 | 481                           |
| Chonju   | loam       | 6.30 | 2.13 | 4.17        | 1.56 | 0.63 | 0.21 | 168                           |

Table 3. Effect of pesticides on fluorescent *Pseudomonas* number between Iksan and Chonju field soil

| Treatment/day  | 0                     | 7    | 14   | 28   | 56   | 112 DAT** |
|----------------|-----------------------|------|------|------|------|-----------|
| Iksan-Control  |                       | 1.00 | 1.33 | 1.00 | 2.00 | 2.00      |
| Metalaxyl 200  |                       | 0.03 | 0.67 | 0.33 | 0.03 | 3.33      |
| 150            |                       | 0.03 | 1.00 | 0.03 | 0.03 | 0.03      |
| 100*           |                       | 0.03 | 0.67 | 1.00 | 1.00 | 1.00      |
| 50             |                       | 0.03 | 2.00 | 0.33 | 0.03 | 0.33      |
| Cabofuran 200  | 11 X 10 <sup>6</sup>  | 0.03 | 2.33 | 5.00 | 2.33 | 3.33      |
| 150            | cfu/g                 | 0.03 | 0.33 | 0.33 | 0.67 | 1.00      |
| 100            |                       | 0.33 | 0.67 | 0.33 | 0.67 | 0.33      |
| 50             |                       | 0.03 | 1.00 | 1.67 | 1.00 | 1.00      |
| Simazine 200   |                       | 0.03 | 0.67 | 0.33 | 0.03 | 0.03      |
| 150            |                       | 0.66 | 1.00 | 1.67 | 0.03 | 0.03      |
| 100            |                       | 0.66 | 0.33 | 0.33 | 0.03 | 0.33      |
| 50             |                       | 0.03 | 2.33 | 0.67 | 0.67 | 0.67      |
| Chonju-Control |                       | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.03 | 0.67      |
| Metalaxyl 200  |                       | 0.67 | 0.67 | 1.00 | 0.67 | 1.00      |
| 150            |                       | 1.67 | 0.03 | 0.33 | 0.03 | 0.67      |
| 100            |                       | 0.03 | 0.03 | 0.33 | 0.33 | 0.33      |
| 50             |                       | 0.33 | 1.00 | 0.03 | 0.03 | 0.03      |
| Cabofuran 200  | 0.6 X 10 <sup>6</sup> | 1.67 | 1.00 | 2.00 | 4.33 | 0.67      |
| 150            |                       | 0.33 | 0.33 | 0.67 | 0.33 | 0.33      |
| 100            |                       | 1.33 | 0.67 | 1.33 | 7.67 | 5.67      |
| 50             |                       | 1.00 | 0.33 | 0.67 | 0.33 | 0.67      |
| Simazine 200   |                       | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.06 | 0.03      |
| 150            |                       | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.33      |
| 100            |                       | 2.33 | 0.67 | 0.33 | 0.03 | 0.03      |
| 50             |                       | 0.67 | 0.33 | 0.33 | 0.06 | 0.03      |

유기물 함량은 전주 토양보다 배 이상 높았으며, 인산의 함량 역시 약 3배정도 많았으나 양이온 치환 성분은 전주 토양이 높았다. 토양 산도는 6.1과 6.3으로 매우 비슷한 조건이었다. 이들 토양은 작물을 재배하지 않는 나지 토양이었다.

포장에서의 미생물의 분포 변화 양상

포장 조건에서의 각 배지에서 출현한 미생물의 분포는 Table 3~6와 같이 다양하였고, 포장조건에서 형광 *Pseudomonas* 수는 10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup>cfu/g까지 분포하였다(Table 3). 그 중에서도 살충제 처리구에서 두 토양 모두 많은 균이 출현하였다. 익산 토양의 경우 약제 처리 7일 후에는 감소

Table 4. Effect of pesticides on general fungi number between Iksan and Chonju field soil

| Treatment      | 0                    | 7     | 14   | 28  | 56    | 112 DAT |
|----------------|----------------------|-------|------|-----|-------|---------|
| Iksan-Control  |                      | 16.67 | 7.0  | 3.0 | 16.67 | 21.67   |
| Metalaxyl 200  |                      | 4.3   | 8.3  | 0.3 | 14.0  | 3.0     |
| 150            |                      | 1.0   | 16.6 | 2.0 | 5.6   | 5.3     |
| 100*           |                      | 0.67  | 10.6 | 3.6 | 9.0   | 7.3     |
| 50             |                      | 0.33  | 8.6  | 5.3 | 9.6   | 12.3    |
| Cabofuran 200  | 11 X 10 <sup>4</sup> | 3.6   | 7.0  | 1.0 | 6.0   | 7.3     |
| 150            | cfu/g                | 2.6   | 3.3  | 1.3 | 3.3   | 3.3     |
| 100            |                      | 1.3   | 4.3  | 2.3 | 3.0   | 7.0     |
| 50             |                      | 8.0   | 6.3  | 3.3 | 8.6   | 7.6     |
| Simazine 200   |                      | 5.6   | 3.0  | 1.0 | 10.3  | 4.0     |
| 150            |                      | 3.0   | 2.6  | 5.0 | 7.3   | 7.3     |
| 100            |                      | 1.3   | 8.6  | 2.0 | 5.0   | 10.6    |
| 50             |                      | 2.6   | 6.3  | 3.0 | 4.3   | 13.3    |
| Chonju-Control |                      | 3.6   | 6.0  | 3.6 | 7.6   | 9.3     |
| Metalaxyl 200  |                      | 4.0   | 2.3  | 2.0 | 15.3  | 13.6    |
| 150            |                      | 2.3   | 3.3  | 3.0 | 10.0  | 12.0    |
| 100            |                      | 6.3   | 3.3  | 3.6 | 5.3   | 10.3    |
| 50             |                      | 10.6  | 2.3  | 1.6 | 32.6  | 9.6     |
| Cabofuran 200  | 15.67                | 6.6   | 4.0  | 6.6 | 9.0   | 20.3    |
| 150            | X10 <sup>4</sup>     | 9.0   | 4.6  | 4.3 | 7.6   | 13.3    |
| 100            |                      | 5.6   | 1.6  | 3.3 | 5.3   | 15.3    |
| 50             |                      | 4.3   | 3.3  | 3.0 | 15.0  | 13.6    |
| Simazine 200   |                      | 1.0   | 3.0  | 4.3 | 8.0   | 1.6     |
| 150            |                      | 3.0   | 2.0  | 1.3 | 4.3   | 1.6     |
| 100            |                      | 4.6   | 4.0  | 3.0 | 4.3   | 6.3     |
| 50             |                      | 1.6   | 4.0  | 6.7 | 1.0   | 12.3    |

하는 경향이었으나, 14일째에 살균제 및 제초제 처리구에서 최고치를 나타냈다. 또 살균제의 경우에는 112일 후에 다시 증가하였다. 그러나 살충제 처리구는 처리 28일 후에 최고치를 나타냈다. 전주 토양에서는 살균제 및 제초제 처리 7일 후에 최고치를 나타냈고, 살충제 처리구는 꾸준히 증가하여 56일 후에 최고치를 나타냈다. 제초제 처리구는 시간 경과와 함께 서서히 감소하는 경향을 나타냈다.

이 등<sup>16)</sup>은 제초제를 많이 사용하던 토양에서는 제초제를 분해하고 유일 탄소 원으로 이용하는 세균이 많이 발견됨을 보고한바 있으며, 분리균 중의 우점종은 세균에서는 *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinomyces*로 나타난다고 하였다. 1996년과 1997년의 4월부터 9월까지의 조사에서 무처리구에 비해 판넬처리구, 골판지 처리구 및 보온 덮개 처리구의 세균 수나 곰팡이의 수가 월등히 많았다. 즉 96년의 무처리구의 세균 수는 2.7 ~ 11.6 × 10<sup>7</sup>개였고, 곰팡이의 수는 0.7 ~ 2.3 × 10<sup>5</sup>개였으며, 반면에 처리구는 2.7 ~ 18.3 × 10<sup>7</sup>개로 처리구가 일반적으로 높은 경향이었던음을 보고하였다. 곰팡이수도 0.7 ~ 4.3 × 10<sup>5</sup>개였다. 1997년의 무처리구의 세균 수는 3.3 ~ 10.3 × 10<sup>8</sup>개였으며 곰팡이 수는 1.8 ~ 3.3 × 10<sup>6</sup>개

Table 5. Effect of pesticides on general bacteria number between Iksan and Chonju field soil

| Treatment      | 0                    | 7    | 14   | 28   | 56   | 112 DAT |
|----------------|----------------------|------|------|------|------|---------|
| Iksan-Control  |                      | 13.3 | 12.0 | 15.3 | 28.3 | 15.3    |
| Metalaxyl 200  |                      | 5.0  | 4.0  | 13.6 | 24.3 | 1.7     |
| 150            |                      | 5.0  | 4.0  | 20.6 | 13.0 | 9.3     |
| 100*           |                      | 1.6  | 3.6  | 25.3 | 32.7 | 10.0    |
| 50             |                      | 2.6  | 10.6 | 30.6 | 28.3 | 7.3     |
| Cabofuran 200  | 26.6X10 <sup>6</sup> | 1.0  | 11.3 | 30.6 | 47.7 | 8.0     |
| 150            | cfu/g                | 3.6  | 4.6  | 9.3  | 19.3 | 5.0     |
| 100            |                      | 4.3  | 5.0  | 10.3 | 2.3  | 10.3    |
| 50             |                      | 3.0  | 3.6  | 13.6 | 1.0  | 16.3    |
| Simazine 200   |                      | 1.0  | 4.6  | 18.3 | 40.7 | 11.0    |
| 150            |                      | 2.3  | 3.6  | 20.3 | 31.0 | 7.0     |
| 100            |                      | 5.3  | 9.0  | 24.6 | 29.3 | 6.0     |
| 50             |                      | 5.3  | 13.0 | 19.7 | 47.0 | 13.6    |
| Chonju-Control |                      | 15.7 | 9.0  | 20.0 | 32.0 | 15.0    |
| Metalaxyl 200  |                      | 6.0  | 8.6  | 23.0 | 36.0 | 6.0     |
| 150            |                      | 6.3  | 7.6  | 6.7  | 28.7 | 17.0    |
| 100            |                      | 13.0 | 7.3  | 10.3 | 69.3 | 12.3    |
| 50             |                      | 3.0  | 9.0  | 6.3  | 37.7 | 5.7     |
| Cabofuran 200  | 29.6X10 <sup>6</sup> | 3.0  | 4.6  | 14.7 | 41.0 | 12.0    |
| 150            |                      | 12.6 | 10.6 | 13.3 | 36.3 | 9.3     |
| 100            |                      | 5.0  | 7.0  | 27.7 | 21.7 | 15.3    |
| 50             |                      | 3.3  | 6.0  | 11.7 | 36.3 | 9.0     |
| Simazine 200   |                      | 11.0 | 7.6  | 13.7 | 36.7 | 11.3    |
| 150            |                      | 4.6  | 8.3  | 11.0 | 39.0 | 7.3     |
| 100            |                      | 11.6 | 9.6  | 20.7 | 27.0 | 8.7     |
| 50             |                      | 7.6  | 7.0  | 36.7 | 39.0 | 12.7    |

Table 6. Effect of pesticides on general actinomycetes number between Iksan and Chonju field soil

| Treatment      | 0                    | 7    | 14   | 28  | 56  | 112 DAT |
|----------------|----------------------|------|------|-----|-----|---------|
| Iksan-Control  |                      | 27.0 | 10.0 | 9.3 | 7.0 | 8.3     |
| Metalaxyl 200  |                      | 9.3  | 3.3  | 1.0 | 1.3 | 6.3     |
| 150            |                      | 3.7  | 1.7  | 1.3 | 1.0 | 10.3    |
| 100*           |                      | 6.3  | 3.0  | 1.0 | 0.3 | 9.3     |
| 50             |                      | 8.0  | 1.0  | 1.0 | 1.0 | 10.0    |
| Cabofuran 200  | 80 X 10 <sup>6</sup> | 8.0  | 6.0  | 0.7 | 1.0 | 7.0     |
| 150            | cfu/g                | 6.0  | 4.7  | 1.3 | 1.3 | 21.3    |
| 100            |                      | 6.3  | 6.0  | 0.3 | 5.7 | 5.0     |
| 50             |                      | 4.3  | 6.3  | 0.7 | 3.3 | 3.7     |
| Simazine 200   |                      | 4.7  | 1.0  | 1.7 | 0.7 | 4.3     |
| 150            |                      | 6.0  | 2.3  | 1.0 | 0.7 | 6.0     |
| 100            |                      | 2.0  | 7.3  | 2.0 | 0.7 | 6.7     |
| 50             |                      | 4.0  | 4.0  | 0.3 | 2.7 | 7.6     |
| Chonju-Control |                      | 14.0 | 10.7 | 7.6 | 5.3 | 7.7     |
| Metalaxyl 200  |                      | 7.3  | 3.3  | 0.3 | 0.7 | 5.7     |
| 150            |                      | 11.3 | 6.0  | 1.0 | 0.3 | 7.7     |
| 100            |                      | 1.7  | 5.0  | 0.3 | 0.3 | 5.7     |
| 50             |                      | 9.3  | 1.7  | 0.7 | 0.3 | 4.7     |
| Cabofuran 200  | 50 X 10 <sup>6</sup> | 10.3 | 8.7  | 0.7 | 2.0 | 5.3     |
| 150            |                      | 9.7  | 10.7 | 0.7 | 0.7 | 7.0     |
| 100            |                      | 5.0  | 3.3  | 0.7 | 0.7 | 3.7     |
| 50             |                      | 6.3  | 3.3  | 1.0 | 0.3 | 7.7     |
| Simazine 200   |                      | 9.0  | 3.7  | 1.6 | 0.3 | 4.0     |
| 150            |                      | 5.0  | 2.0  | 1.0 | 1.0 | 6.7     |
| 100            |                      | 9.0  | 5.7  | 1.7 | 0.3 | 7.0     |
| 50             |                      | 4.0  | 8.0  | 3.3 | 2.0 | 7.7     |

었다. 한편 처리구의 세균 수는  $6.5 \sim 21.7 \times 10^6$ 개, 곰팡이 수는  $2.3 \sim 8.3 \times 10^5$ 개였다<sup>16)</sup>.

Katol 등<sup>17)</sup>은 형광 *Pseudomonas*는 토양 1그램당 화학비료 구에서  $10^6$ /g로 연간 변화는 없었으며, *P. putida*는 연간  $10^4 \sim 10^5$ 개였고 *P. fluorescens*는 연간  $10^{3-4}$ 개로 보고한 바 있다.

일반 곰팡이는 전주 토양에서 약제 처리전에  $15.67 \times 10^4$ /g로 약간 많았으나 약제 처리 후 그 변화는 크지 않았다. 살균제를 처리한 경우 변화 양상이 약제간 약간씩 달라지는 경향이 있었다.

익산 토양에서의 균수는 대조구에서도 약간의 변화가 있었는데, 약제 처리 14일 후 살균제 1.5배 및 표준 처리에서 증가하는 경향이었고, 다른 구는 대조구보다 적었다. 약제별 효과를 보면 전주의 제초제 처리구가 가장 낮은 수치를 보였다(Table 4).

일반 세균의 분포는 Table 5와 같이 살포전 익산 토양과 전주 토양간의 미생물 수에는 큰 차이는 없었다. 반면에 각각의 약제 처리 7일 후 익산 토양에서는 큰 감소를 나타냈으나 전주 토양에서는 일정한 경향을 보이지 않았다. 14일 후에는 미생물 수가 회복되는 경향이었고, 28일 후에는

약제 처리구가 무처리구보다 급증하였다. 살충제 배량 처리구, 제초제 처리구에서는 28일과 56일 후에 급증하였다. 한편 전주 토양에서는 처리 7일 후에 살균제 기준량, 살충제 1.5배량 처리구에서 다른 구보다 월등히 많았으나, 28일 후에는 살충제 기본량, 제초제 반량 처리구는 급증하는 상황이었고, 56일 후에는 무처리구의 수와 비슷하여 졌다. 112일 후에는 수적으로 감소하여 무처리구보다 적어지는 구도 많았다.

일반 방선균 수는 Table 6과 같이 익산 토양이 약간 많았다( $8 \times 10^6$ /g). 약제처리 7일 후에는 약간 감소하였으나 점차 증가하여 112일 후에는 회복되는 경향을 나타냈다. 전주 토양에서는 방선균 수의 감소 폭이 크지 않았는데, 처리 14일째에 회복되는 구(살충제 1.5배량구)도 있었으나 대부분 낮았고, 112일 후 익산 토양에서처럼 회복되는 경향이 있었다. 위의 결과와 같이 포장에서의 미생물의 변화는 다양하게 나타났다. 본 실험과 같이 농약처리에 의한 미생물의 분포양상을 광범위하게 조사하여 얻어진 결과를 통해 농약 처리후 생존하는 미생물은 농약의 대사과정과 상호 관련이 있을 것으로 판단된다. 특히 본 실험에서도 조사된 형광 *Pseudomonas*는 토양중 농약분해와 밀접한 관련이 있

는 것으로 추정되는데 이와 대한 연구는 제초제의 단일 또는 2~3종의 서로 다른 약제를 이용한 분해 등 소수 약제에 대한 특정 미생물의 영향에 관하여 보고되고 있다.

Ozaki 와 Kuwatsuka<sup>18)</sup>는 *P. putida*를 5% yeast extract 배지에 정치 배양하므로써 약 1주일 후에 제초제 Isouron이 완전히 분해됨을 보고하였다. 이처럼 *P. putida*가 농약 분해에 관여하는 것으로 미루어, 본 실험에서 분리된 형광 pseudomonads를 이용한다면 가능성은 있다고 생각된다.

또 Alexander<sup>19)</sup>는 이와 유사한 연구로 농약 또는 합성약품을 변화시키는 세균으로 *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*를 보고하였으며, *Pseudomonas*는 각 계통의 농약을 분해하는 것으로 보고한 바 있다. 이는 *Pseudomonas*의 유용성을 시사하고 있어 본 실험의 결과와 일치하였다.

Ozaki 와 Kuwatsuka<sup>20)</sup>는 *P. aeruginosa* (#48)가 처리 3일만에 Isouron을 분해하여 분해능이 현저한 것으로 보고한 바 있다. 또 *P. putida*, *P. fluorescens*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *S. aureus*, *E. coli* 및 토양세균 7균주도 배양 후 10일전후에 분해력이 있는 것으로 보고된 바 있다.

Imai 와 Kuwatsuka<sup>21)</sup>는 표식(label) 및 비표식 제초제 Molinate를 이용하여 환류토양의 분해균 양상을 보고한 바 있다. 토양을 환류하면 <sup>14</sup>C<sub>2</sub>가 발생하면서 출현한 수종의 분해미생물을 분리한 결과 사상균, 세균, 방선균이 공시약제를 분해하였다고 한다. 또 각각의 그룹에 대해서 조사한 바 환류전 미생물의 약 30%가 분해에 관여하고 환류를 하여도 그 분포는 변화하지 않아 토양 내에 미생물이 존재함을 나타내고 있다. 고분해능을 가진 세균으로는 *Mycobacterium* sp., *Flavobacterium* sp., 방선균인 *Streptomyces* sp., 곰팡이인 *Fusarium* sp.등을 보고하였다.

Imai 와 Kuwatsuka<sup>22)</sup>는 3종의 세균(*Mycobacterium* sp. B-1, *Flavobacterium* sp. B-2, *Streptomyces* sp. A-1)을 제초제 Molinate를 첨가한 3종류의 각 배지(40ppm)에서 조사한 결과 *Mycobacterium* sp.는 1/10희석 영양배지에서 Molinate를 7일 후에 거의 분해하는 것으로 보고된 바 있으며, Imai 와 Kuwatsuka<sup>23)</sup>도 *Mycobacterium* sp. B-1이 제초제 Molinate를 분해한 것으로 보고한 바 있다. Racke 와 Coats<sup>24)</sup>는 방사성 동위원소로 표식한 살충제 6약제를 처리한 토양에서 미생물 수를 조사하였는데, 5약제는 현저한 변화를 보이지 않은 반면, Isufenphos만 쉽게 분해되었고, 약제처리 토양에서 *Arthrobacter* sp.를 분리되었는데 이는 미생물이 분해에 관여하는 것으로 보고된 바 있다. Torstensson 과 Wessen<sup>25)</sup>은 살균제 benomyl을 78~81년까지 잔류량을 조사하여 여러 가지 부재료가 분해에 관여하는 요인을 찾았는데, 그들은 cellulose분해균이 벚짚보다 토양에서 더 많이 존재하였고 여기에 관여한 미생물은 주로

곰팡이로 동정된 바 있다.

본 실험과 동일한 살균제 Metalaxyl을 공시하여 실험한 예로 Bailey와 Coffey<sup>26)</sup>는 <sup>14</sup>C metalaxyl은 무처리와는 달리 살균제를 처리한 토양에서 빠르게 분해되었다고 한다. 그들은 약제 분해미생물을 분리하기 위하여 약제를 첨가한 배지에서 희석평판법을 이용하여 *St. albolongus*, *Bacillus cereus*, *P. acidovorans*, *P. delafiedii*, *Corynebacterium* sp. 등을 분리한 바 있다. 한 등<sup>27)</sup>은 살균제 Myclobutanil의 분해를 조사하기 위하여 NB배지에 10-100ppm농도로 첨가한 배지에서 분해 능력이 양호한 세균인 *Staphylococcus* 속 I, *Actinobacillus* 속 III 및 기타 속I로 보고한 바 있다. 이와 같은 보고는 본 실험에서 얻어진 결과인 농약처리에 따른 토양중 미생물상 변동은 토양중 미생물이 농약분해에 관여할 가능성을 암시해 준다.

### 미생물의 간이 동정 및 농약내성

형광 *Pseudomonas* 분리 배지에서 분리된 균의 동정을 위하여 Katoh와 Itoh<sup>14)</sup>의 배지를 이용하여 구분한 결과, 시기별 차이를 나타냈으며 104균주를 분리하였다. 분리된 104균주 중 *P. putida*는 10균주, *P. fluorescens*는 30균주가 확인되었으며, 농약내성 여부를 판단하기 위하여 분리균주를 각각의 공시농약 100ppm씩 첨가한 배지에 이식한 결과 모두 양성을 나타내 분리된 균주는 모두 처리된 농약 농도에 관계없이 생존하였다. 이것은 한 등<sup>28)</sup>이 살균제 myclobutanil의 경우 70ppm농도에서 이들 미생물들은 생육이 미약해지거나 불능이라고 보고한 결과와는 서로 다른 경향을 나타냈으나, Olson 등<sup>24)</sup>이 보고한 바에 의하면 토양에서 42개의 균주를 분리하여 순수 배양시 생육에 대한 Trifururalin의 영향은 16ppm에서는 공시한 모든 균주가 저해되지 않았고, 400-100,000 $\mu$ g/g에서는 저해되었다는 보고와 일치되는 경향이였다. 이러한 결과는 농약 연용 토양에서 미생물들이 농약분해에 관여하고 있으며, 특히 분리된 토양세균인 *P. putida*, *P. fluorescens*는 분해에 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다.

### 요 약

살균제 Metalaxyl 입제, 살충제 Carbofuran 입제, 및 제초제 Simazine수화제를 전주와 익산의 두 포장에서 각각 반량, 기준량, 1.5배량, 2배량을 처리한 결과, 포장에서의 형광 pseudomonads수는 10<sup>3</sup>-10<sup>6</sup>/g까지 분포하였다. 그 중에서도 두 토양의 살충제 처리구에서 많은 균이 출현하였다. 익산 토양의 경우는 처리 7일 후에는 감소하는 경향이 있으나 14일째에 살균제 및 제초제 처리구에서 최고치를 나타냈으며, 살균제의 경우는 112일 후에 다시 증가하였다. 전주 토양에서는 7일 후에 최고치를 나타냈고, 살충제 처

리구는 꾸준히 증가하여 56일 후에 최고치를 나타냈다. 제초제 처리구는 시간 경과와 함께 서서히 감소하는 경향이 있었다.

일반 곰팡이 수는 익산 토양에 살균제를 처리하므로서 7일 후에는 감소하였으나 14일 후 및 56일 후에 최고치를 나타냈다. 살충제 처리구는 28일 후에 약간 감소하였으나 그 외에는 7일 후와 비슷한 수준으로  $1.0-8.6 \times 10^6/g$ 이었고, 제초제 처리구는 마지막 조사 기간인 112일 후에 최고치를 나타냈다. 전주토양에 살균제를 첨가하면 7일 후에는 감소하였으나 56일 후부터는 증가하였다. 살충제 처리로 익산 토양과 마찬가지로 감소하였으나 56일 후에는 증가하기 시작하였다. 또 제초제 처리구는 점차적으로 증가되는 경향이 있었다.

일반 세균은 익산 포장과 전주포장간에 큰 차이는 없었다( $26.6-29.6 \times 10^6/g$ ). 그러나 살균제 처리구에서는 28일 후에 급증하여 56일 후에는 최고치를 나타냈다. 살충제 처리구는 서서히 증가하여 살균제 처리와 마찬가지로 56일 후에 최고치를 나타냈으며, 제초제 처리구는 56일 후까지 서서히 증가하였다. 전주토양에서는 3약제 처리구에서 서서히 증가하여 56일 후에 최고치를 나타냈다.

일반 방선균 수는 약제 처리 전에는 익산 포장이 많았고( $8 \times 10^6/g$ ), 두 포장 모두 약제 처리 7일 후에 최고치를 나타냈다가 112일 후 회복되는 경향이 있었다.

포장조건에서 분리한 형광pseudomonads 104균주 중 *P. putida*는 10균주, *P. fluorescens*는 30균주로 간이 동정되었으며, 공시한 104 균주 모두 각각의 농약 100ppm씩 첨가한 배지에서 모두 생육이 가능하여 모든 농약에 내성을 나타냈다.

## 감사의 글

본 연구비를 지원하여 준 학술진흥재단에 감사의 뜻을 전한다.

## 참고 문헌

1. Ichitani, T. and Nakasugi, F. (1987). Crop protection, Asakura Book center, pp172.
2. Lim, S. W. and Kang, K. Y.(1975). Effect of some pesticides on microfloral activity of paddy soil, Rept. Inst. Agr. Sci. , 399-408.
3. Itoh, K.(1991). Characteristics of microflora degrading insecticide salithion in soil, J. Pesticide Sci., 16:77-83.
4. Itoh, K.(1991). Stereoselective metabolism of insecticide salithion by *Agrobacterium* sp. and *Acinetobacter* sp. isolated from soil, J. Pesticide Sci., 16:85-91.
5. Imai, Y. and Kuwatsuka, S.(1986). Characteristics of microflora degrading the herbicide molinate in soil, J. Pesticide Sci., 11:57-63.
6. Imai, Y. and Kuwatsuka, S.(1986). The mode of metabolism of the herbicide molinate by four strains of microorganisms isolated from soil, J. Pesticide Sci., 11:111-117.
7. Imai, Y. and Kuwatsuka, S.(1986). Metabolic pathways of the herbicide molinate in four strains of isolated soil microorganisms, J. Pesticide Sci., 11:245-251.
8. Yang, C. S.(1985). Effects of pesticides on soil microflora, J. Kor. Soc. Soil Sci. Fert. 18:221-226.
9. Han, S. S.(1995). Isolation and characteristics of soil microorganism degrading herbicide, Kor. J. Weed Sci., 15(1):63-72.
10. Kim, Y. S.(1995). Influence of heavy metal and fertilizer on degradation of oxadixyl, diazinon and alachlor in soil, MS thesis of Chonbuk University , pp.39.
11. Sato, T.(1984). Studies on herbicide treatment and ecology of soil microflora -Changes of microflora, Rept. of Agr. Tohoku Univ., 36:13-20.
12. Korpraditskul, R., Katayama, A., and Kuwatsuka, S. (1993). Chemical and microbial degradation of Atrazin in Japanese and Thai soils. J. Pesticide Sci.,18:77-83.
13. Bailey, A. M. and Coffey, M. D(1986). Characterization of microorganisms involved in accelerated biodegradation of metolaxyl and metolachlor in soils, Can. J. Microbiol., 32:562-569.
14. Katoh, K. and Itoh, K.(1983). New selective media for *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment, Soil. Sci. Plant Nutri., 29:525-532.
15. Institute of Agr. Sci. (1988). Analytical methods of soil chemistry : soil, plant, soil microorganism., pp.451.
16. Lee, K. J., Chung, H. J., Lee, J. E.(1997). Studies on fertilization and weed control by pannel in orchard. Ministry of. Agr. and Forestry, 3th final report, 37-40.
17. Katoh, K., Ishigami, T., Inayama, M., Fujita, A. and Ushiro, T.(1987). Distribution of *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment and *Bacillus* strains on the roots of cucumber and in soils. Soil and Microorganism, 29:11-17.

18. Ozaki, M. and Kuwatsuka, S.(1986). Reductive degradation of the herbicide isouron by various bacteria, *J. Pesticide Sci.*, 11:479-481.
19. Alexander, M(1977). Introduction to soil microbiology (2nd ed.), John Wiley & Sons, pp467.
20. Ozaki, M. and Kuwatsuka, S.(1986). Reductive degradation of the herbicide isouron and its related compounds by *Pseudomonas putida*, *J. Pesticide Sci.*, 11:427-432.
21. Rack, K. D., Coats, J. R.(1988). Enhanced degradation and the comparative fate of carbamate insecticide in soil, *J. Agric. Food Chem.*, 36:1067~1072.
22. Torstensson, L. and Wessen, B.(1984). Interactions between the fungicide benomyl and soil microorganisms, *Soil Biol. Biochem.*, 16(5) 445-452.
23. Han, S. S., Park, P. J., Jeong, J. H. and Rim, Y. S.(1996). Degradation ability of fungicide Myclobutanil by several bacteria. *Kor. J. Environ. Agr.*, 15(1)25-36.
24. Olson, B. M., McKercher, R. B. and Germida, J. J.(1984). Microbial populations in trifluralin-treated soil, *Plant and Soil.*, 76:379-387.