

살균제 hexaconazole 토양잔류물의 벼 재배 microecosystem(pot)중 행적

경기성* · 이병무 · 이재구¹

농업과학기술원 농산물안전성부 유해물질과, ¹충북대학교 농과대학 농화학과

요약 : 살균제 hexaconazole의 벼 및 토양 중 행적을 구명하기 위하여 [¹⁴C]hexaconazole의 신생 및 숙성 토양 잔류물을 함유한 microecosystem(pot)에서 42일간 벼를 재배하였다. 28일간의 숙성기간중 방출된 ¹⁴CO₂의 양은 총처리방사능의 0.11%이고 주당 평균분해율은 0.03%이었다. 42일간의 벼 재배기간중 방출된 ¹⁴CO₂의 양은 숙성토양에 벼를 재배하지 않은 처리구와 벼를 재배한 처리구에서 각각 총처리방사능의 0.67%와 1.17%인 반면 숙성하지 않은 신생토양의 경우는 각각 1.25%와 1.72%로서 숙성토양보다는 신생토양에서, 벼를 재배하지 않은 경우보다는 재배한 경우에 무기화율이 더 높은 것으로 나타났으며, 휘발율은 미미하였다. 벼 재배 후 방사능은 주로 토양에 분포하였으며, 벼에 흡수된 방사능은 벼 지상부의 선단으로 집적되었다. 토양중 추출불가 결합잔류물의 양은 벼를 재배할 경우 증가하였으며, 그 분포양은 humin>fulvic acid>humic acid순이었다. 후작물인 배추에 흡수이행된 ¹⁴C는 hexaconazole의 신생 및 숙성잔류물을 함유한 벼 재배토양에서 각각 총처리 방사능의 2.36%와 3.69%로써 소량이 흡수이행되었으며, 신생잔류물보다 숙성잔류물의 이용률이 더 높았다.(2004년 9월 6일 접수, 2004년 9월 23일 수리)

서 론

오늘날의 농업에서 농약은 안전성에 대한 논란과 우려에도 불구하고 농산물의 증산, 작부체계 및 재배 방법의 개선, 품질과 저장성의 향상 및 노동력 절감 등 여러 면에서 매우 중요한 농용 필수자재이다. 그러나 현재 사용되고 있는 농약은 대부분 합성 유기화합물이므로 독성을 가지게 되어 생태계에 일부 악영향(adverse effects)을 끼치게 된다. 가장 이상적인 농약은 대상 병해충 및 잡초를 방제하고 신속히 분해되는 특성이 있어야 하나 살포지 주변에 서식하는 비표적 생물에 영향을 줄 뿐만 아니라 본래의 목적을 달성한 후 농산물과 토양 및 수계 등에 잔류하면서 생태계의 균형에 악영향을 주어 항상 논란의 대상이 되고 있다.

이러한 우려를 해결하기 위해서는 약효가 확실하면서 인간을 비롯하여 생태계에 안전한 농약을 개발하

는 것이 가장 바람직하지만 현실적으로 매우 어려운 일이므로 농약의 환경중 행적을 정확히 구명하여 생태계 내에서 농약의 위해성을 최소화하는 것이 중요하다.

Hexaconazole은 영국의 Zeneca에서 개발된 triazole계 침투성 농약으로 *ascomycetes*와 *basidiomycetes*의 예방과 치료효과가 뛰어나 국내에서는 벼 잎집무늬마름병 등 여러 작물에 사용되고 있다(Chen 등, 1996; 농약사용 지침서, 2004). 급성경구독성은 LD₅₀이 2,189 mg/kg 이상이고 경피 및 안구독성이 경미하며, 쥐에 대한 흡입독성은 5.9 mg/L 이상이다. 생태계 생물에 대한 LC₅₀는 물벼룩 2.9 mg/kg, 무지개 송어 3.4 mg/kg으로 알려져 있으며, 1일섭취허용량(ADI)이 0.005 mg/kg b.w.로써 독성분류에 있어 EPA IV급으로 분류된 살균제이다(The Pesticide Manual, 2003).

토양중 hexaconazole의 주 분해경로는 *n*-butyl chain의 탈알킬화작용(dealkylation)이며, 이 경로에 의해 (RS)-1-(2,4-dichloro-phenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)ethanol이 총처리 ¹⁴C의 18% 이상 생성되었

*연락저자

Table 1. Physicochemical properties of the soil used

pH	Organic matter (%)	C.E.C (cmol ⁺ /kg)	Sand	Silt(%)	Clay	Texture
5.3	2.0	9.1	53.9	29.6	16.5	Sandy loam

으며, [¹⁴C-phenyl]hexaconazole을 처리한 토양으로부터 40주간의 배양기간 동안 총처리 ¹⁴C의 약 40% 이상이 ¹⁴CO₂로 방출된 것으로 보아 dichlorophenyl환의 개열이 다른 분해경로이며, 이 반응으로 (1*H*)-1,2,4-triazol과 2-(1,2,4-triazolyl-1-yl)acetic acid가 각각 총처리 ¹⁴C의 30%와 2% 이하로 생성되었고 이 대사산물들이 40주간에 약 29%의 ¹⁴CO₂로 무기화 되었다고 보고하였다. 동일한 토양에 동일 농도로 hexaconazole을 처리하고 담수상태와 배양온도를 30°C로 하였을 때의 반감기는 20주로 같았다고 보고하였으며, 멸균토양에서는 ¹⁴CO₂가 방출되지 않은 것으로 보아 hexaconazole은 화학적인 요인보다는 미생물에 의해 분해된다고 보고하였다(Weissler, 1988).

Kumar와 Mithyantha의 보고(1990)에 따르면 토양 200 g에 hexaconazole을 50 ppm되게 처리하고 25°C에서 14일간 숙성시킨 결과 산화작용(oxidation)에 의하여 생성된 2,5-diol hexaconazole이 주대사산물이었으며, 소량의 2,4-diol hexaconazole과 2,6-diol hexaconazole이 미량 대사산물로 검출되었다고 하였다. 또한 14일간의 숙성기간 동안 alkyl chain의 산화작용(oxidation)에 의해 2,6-diol, 2,5-diol, 2,4-diol hexaconazole이 토양중 대사산물로 확인되었다고 보고하였다.

또한 hexaconazole은 토양흡착성 시험 결과 Kf값은

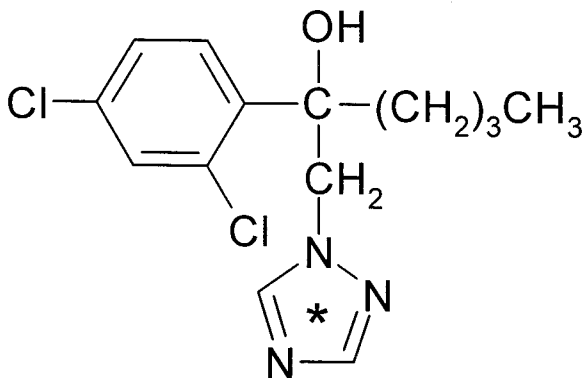


Fig. 1. Structural formula and ¹⁴C-labelled position (*) of hexaconazole ((*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol). Specific activity : 18.5 MBq/mg

10.1-18.0으로 토양 용탈성이 낮을 것으로 예측되었으며, 실제로 토양컬럼을 이용한 용탈시험 결과 토양컬럼의 표토에 처리한 방사능의 대부분이 표토로부터 5 cm 부위에 분포하여 토양중 이동성이 낮았다고 보고되었다(경 등, 2004).

그러나 적용 범위가 매우 넓어 전세계적으로 많이 사용되고 있는 triazole계 살균제인 hexaconazole의 작물체중 행적 구명과 관련된 연구보고는 거의 없다.

따라서 살균제 hexaconazole 토양잔류물의 벼에 의한 흡수 이행행적을 구명하기 위하여 벼를 재배중인 micro-ecosystem(pot)에 [¹⁴C]hexaconazole을 처리하고 벼를 재배하면서 벼 및 토양중 행적을 조사하였다.

재료 및 방법

시험토양

시험토양은 경기도 안산시 팔곡동에 위치한 벼 재배지 논에서 표토를 걷어내고 토심 10 cm 깊이의 토양을 채취하여 음건하고 2 mm 체를 통과시켜 사용하였으며, 각 토양의 물리화학적 특성은 표 1에 제시하였다.

시험화합물

시험에 사용한 [¹⁴C]hexaconazole (triazole환-¹⁴C 표지, 비방사능 18.5 MBq/mg, 순도 99.3%)과 비표지 hexaconazole(순도 98.0%)은 Zeneca Agrochemicals에서 분양 받아 사용하였으며, 그 화학구조와 표지 위치는 그림 1에서 보는 바와 같다.

토양 숙성 잔류물(soil-aged residues)의 형성

Hexaconazole의 토양결합 잔류물(soil-bound residues)을 형성하기 위하여 토양에 처리한 hexaconazole의 농도는 벼 잎집무늬마름병 방제용으로 시판중인 헥사코나졸 10% 유제의 사용량(160 mL/10a)을 기준으로 하였으나 실제 처리농도는 미량의 대사산물 검출을 위하여 표준사용량의 1.5배량을 사용한 경우를 가정하여 산출하였다. 토양결합 잔류물 형성을 위하여 토양

을 stainless steel 숙성용기(내경 31.5 cm, 높이 19.5 cm)에 건물중 기준으로 토양 10 kg을 담고 예비실험에서 얻은 hexaconazole의 분해율을 기준으로 하여 숙성후의 전체 농도가 0.2 ppm이 되도록 ^{14}C -표지(185 MBq/kg) 및 비표지 hexaconazole을 처리하고 최대용수량의 90%에 상당하는 증류수를 가한 다음 $22\pm 1^\circ\text{C}$ 의 수조상에서 soda lime으로 CO_2 를 제거한 공기를 펌프로 공급하면서 호기적으로 28일간 숙성하였으며, 이 기간 동안 손실된 수분은 매주 증류수로 보충하였다. 숙성기간 동안 발생하는 $^{14}\text{CO}_2$ 와 휘발물질은 각각 1N NaOH와 0.1N H_2SO_4 에 흡수시켜 액체섬광계수기(liquid scintillation counter, LSC, Tri-Carb 1600 TR, Packard, U.S.A.)로 방사능을 측정하였다.

벼 재배와 시료 채취

숙성이 끝난 토양은 음건하여 잔류 방사능을 측정 한 후 벼 재배 시험 토양으로 사용하였다. 또한 벼 재배 직전 토양에 총처리농도가 0.2 ppm이 되도록 표지(185 kBq/kg) 및 비표지 hexaconazole을 처리한 신생(fresh) 잔류물과 28일간 숙성된 토양잔류물을 함유한 토양 1.5 kg(건물중 기준)을 stainless steel pot(내경 17.5 cm, 높이 10 cm)에 옮기고 N-P-K를 각각 15-9-11 kg/10a의 비율로 시비한 후 최대용수량의 90%에 상당하는 증류수를 가하고 38일 자란 추청벼(*Oryza sativa* cv. Akibare) 2주씩을 4 지점에 이앙하였으며, 이를 통풍이 양호한 유리온실에서 soda lime으로 CO_2 를 제거한 공기를 펌프로 공급하면서 42일간 재배하였다. 벼 재배 기간중 토양의 수분은 매일 1~2회씩 보충하여 무게를 기준으로 최대용수량의 약 90%가 되도록 유지시켰으며, 이 기간중 발생한 $^{14}\text{CO}_2$ 와 휘발물질은 1N NaOH와 0.1N H_2SO_4 에 흡수시켜 LSC로 그 방사능을 측정하였다.

벼 재배가 끝난 pot를 해체하여 벼를 지상부와 지하부로 나누어 수확한 후 뿌리의 흙을 수돗물로 씻어 제거하였으며, 각각의 건조전 생체중을 측정하고 40°C 의 열풍건조기(KSD-1000, Koscience)로 건조한 후 건물중을 측정하였다. 또한 벼 재배 후 토양은 -70°C 의 deep freezer(Forma Scientific, U.S.A.)에 냉동 보관하면서 후작물 재배 시험에 사용하였다.

식물체내 경시적 흡수 · 이행

시험농약의 벼에 의한 경시적 흡수 · 이행 특성을

알아보기 위하여 전체 농도가 0.2 ppm이 되도록 53.6 kBq의 ^{14}C -표지 및 비표지 hexaconazole을 처리한 신생(fresh) 잔류물을 함유한 토양 300 g(건물중 기준)을 stainless steel pot(높이 7.5 cm × 지름 11 cm)에 담고 최대용수량의 90%에 상당하는 수분을 가한 후 38일 자란 추청벼를 2주씩 이앙하고 통풍이 양호한 유리온실에서 soda lime으로 CO_2 를 제거한 공기를 펌프로 공급하면서 30일간 재배하였으며, 이앙 후 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 7, 15, 30일에 시료를 채취하여 경시적 흡수이행 양상을 알아보기 위한 autoradiography를 행하였다.

잎을 통한 흡수이행

경엽에 살포된 hexaconazole의 이동 특성을 알아보기 위하여 시험약제를 처리하지 않은 시험토양 800 g(건물중 기준)을 plastic pot에 담고 5엽기 벼(*Oryza sativa* cv. Akibare)를 정식하여 7일 후에 약제를 처리하였다. 처리용액(1 mL)은 전체 농도가 0.2 mg/kg이 되도록 약 100,000 dpm/ μL 의 ^{14}C -표지 및 비표지 hexaconazole을 0.2% Triton X-100에 용해하여 조제한 후 microsyringe를 이용하여 벼의 하단부 3엽에 5 μL 씩 처리하고 처리약제가 마른 후 0.5, 1, 3, 5, 7, 15일 간격으로 포트를 해체하여 시료를 채취하였다. 토양으로부터 분리한 식물체는 수돗물로 뿌리에 부착된 토양을 제거한 후 autoradiography를 위하여 40°C 의 열풍건조기를 이용하여 건조시킨 후 X-ray film에 10일간 노출시켜 작물체중 hexaconazole의 이동성을 조사하였다.

후작물 재배시험

벼 재배과정 중 살포한 hexaconazole의 토양잔류물을 함유한 토양에 후작물을 재배하였을 때 어느 정도 후작물에 흡수 및 이행되는지를 알아보기 위하여 ① 신생(fresh) 및 숙성잔류물을 함유한 토양에 벼를 42일간 재배한 토양, ②신생 및 숙성 잔류물 함유 토양에 벼를 재배하지 않은 ①의 벼를 재배하지 않은 대조구 토양, ③배추 재배 직전 ^{14}C -표지 및 비표지 hexaconazole을 처리한 신생잔류물 함유 토양을 시험토양으로 사용하였다. 신생 잔류물 함유 토양은 후작물 이식 직전에 전체농도가 0.2 mg/kg이 되도록 164.7 kBq의 ^{14}C 표지 및 비표지 hexaconazole을 처리하여 준비하였으며, 숙성 잔류물 함유 토양은 벼 재배를

위하여 28일간 숙성한 후 -70℃에서 냉동 보관한 토양을 사용하였다.

후작물 재배를 위하여 상기 토양 800 g(건물중 기준)을 포트에 담고 파종 후 30일간 자란 배추(쌈노랑, *Brassica campestris* L. ssp *pekinensis*(Lour.) Rupr)를 포트당 1주씩 이상하여 통풍이 양호한 유리온실에서 30일간 표준재배법에 준하여 재배하면서 경시적으로 시료를 채취하여 배추의 autoradiography 및 ^{14}C 잔류량을 조사하였다.

토양과 식물체의 추출

음건한 토양 각 100 g에 acetone 100 mL를 넣고 1시간 동안 격렬히 진탕한 후 27,000 g에서 15분 동안 원심분리하여 상정액을 취하는 방법으로 추출액의 방사능이 자연방사능 수준이 될 때까지 반복 추출하였으며, 추출 토양은 음건한 후 biological oxidizer (Model 407, Packard, U.S.A.)로 연소시켜 토양중 결합 잔류물의 양을 산출하였다.

식물체 시료 5 g이 담긴 원통여지(thimble filter, 33 × 80 mm, Advantec Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Japan)에 담아 Soxhlet 추출장치(Soxtherm 2000 automatic, Gerhardt, Germany)에 연결하고 acetone 140 mL를 가한 후 170℃의 hot plate 상에서 40분간 열탕추출하고 1시간 동안 재차 연속 추출하였다. 이를 추출장치에서 15 mL 정도까지 농축한 후 감압농축기(Rotavapor R-124, Büchi, Switzerland)로 용매를 완전히 증발시켰으며, 건고시료를 1~2 mL methanol에 용해한 후 poly pure filter(직경 4 mm, 공극내경 4.5 μm , Alltech, U.S.A.)를 통과시켜 high performance liquid chromatography(HPLC) 분석용 시료로 하였다.

대사산물의 분석

식물체와 토양 추출액 중 hexaconazole의 대사산물은 HPLC-RAM(radioactivity monitor)를 이용하여 분석하였으며, HPLC 분석 조건은 다음과 같다. 즉 분석기 기인 HPLC는 HP Series 1050(Hewlett Packard, U.S.A.), 검출기는 radioactivity monitor(RAM, LB506 C-1, Berthold, Germany), 분리관은 SupelcosilTM LC-18(250 mm L.×4.6 mm ID×5 μm particle size, Supelco, U.S.A.), 분리관 온도는 35℃, 이동상은 acetonitrile-water(50:50, v/v), 유속은 1 mL/min., 분석시료 주입량은 30 μL 이었다.

토양 추출액중 방사능의 수상과 유기상으로의 분배

^{14}C Hexaconazole을 처리한 토양과 식물체중 ^{14}C 가 벼 재배 및 숙성(aging) 유무에 따라 경시적으로 어느 정도 극성화합물로 변환되었는지를 구명하기 위하여 5 mL의 acetone 추출액은 capped-tube에 넣고 질소가스로 농축한 후 증류수 5 mL에 용해하였다. 여기에 5 mL의 dichloromethane을 넣고 격렬히 진탕한 후 층이 분리되면 수상과 유기상에서 3 mL를 취하여 각각의 방사능을 계측하였다.

토양중 추출불가 결합잔류물의 분석

유기용매로 추출액의 방사능이 자연방사능 수준까지 추출된 토양의 유기물 분획 중 추출불가 결합잔류물의 분포를 확인하기 위하여 Lee 등(1988)의 방법에 따라 토양 2 g에 5 mL의 0.1M sodium pyrophosphate 용액을 넣고 20분간 초음파로 추출한 다음 16,000 g에서 10분 동안 원심분리하여 불용성 humin을 분리하고 상정액을 모두 합하였다. 이 조작은 추출액의 방사능이 자연방사능 수준이 될 때까지 계속하였다. 합한 상정액에 더 이상의 침전이 없을 때까지 진한 HCl을 첨가하고 16,000 g에서 10분간 원심분리하여 fulvic acid(상정액)와 humic acid(침전물)를 분리한 후 침전물을 0.1N NaOH로 용해하였다. Fulvic acid와 humic acid는 Aquasol(DuPont, NEN Research Products, U.S.A.)을 사용하여 방사능을 계측하였으며, 추출 토양은 biological oxidizer로 연소하여 humin을 정량하였다.

Autoradiography

벼와 후작물(배추)에 흡수 이행된 방사능의 분포를 알아보기 위한 autoradiography는 건조한 식물체를 X-ray film(X-OMAT, 20.3 × 25.4 cm, Kodak, Japan)에 직접 노출시켜 현상기(Fuji Medical Film Processor, FPM 1200, Japan)로 현상하여 autoradiogram을 얻었다.

방사능 계측

토양과 식물체중 방사능은 토양 0.3 g과 식물체 0.2 g을 biological oxidizer로 2분간 연소시켜 발생한 $^{14}\text{CO}_2$ 를 7 mL의 Carbo-sorb[®]E(Packard, U.S.A.)에 흡수시킨 후 8 mL의 Permafluor[®]E(Packard, U.S.A.)를 첨가하여 LSC로 방사능을 계측하였다. 유기용매에 녹아 있는 시료의 방사능은 유기용매를 완전히 휘발시키고 Ready-organic(Packard, U.S.A.) 15 mL를 첨가한 후

LSC로 방사능을 측정하였다. 1N NaOH 및 1N H₂SO₄에 포집된 ¹⁴CO₂와 휘발물질은 시료 5 mL에 15 mL의 Aquasol을 첨가한 후 4℃의 암소에서 24시간 안정시킨 후 방사능을 측정하였다.

결과 및 고찰

숙성기간중 무기화(mineralization) 및 휘발(volatilization)

Hexaconazole의 토양숙성 잔류물(soil-aged residues)을 형성하기 위한 28일간의 숙성기간중 토양으로부터 방출된 ¹⁴CO₂의 양은 그림 2에서 보는 바와 같이 총처리 방사능의 0.11%이었으며, 주당 평균 분해율은 약 0.03%이었다. 또한 숙성기간동안 포집한 휘발물질의 양이 자연방사능 수준으로 토양 중에서 hexaconazole과 그 대사산물의 휘발성은 매우 낮았다.

토양으로부터 방출된 ¹⁴CO₂의 양으로 고려해 볼 때 hexaconazole은 토양 중에서 안정한 화합물로 판단되었으나 ¹⁴CO₂의 방출량은 화합물의 분해 양상과 ¹⁴C-표지 위치에 따라 현저히 달라지는 것으로 보고되었다. 즉 Weissler 등(1988)은 표지 위치가 다른 [¹⁴C-triazole]hexaconazole과 [¹⁴C-phenyl]hexaconazole을 20 g의 sandy loam 토양에 100 g ai/ha로 처리하고 최대용수량의 40%에 상당하는 수분을 가한 후 20℃에서 40주간 항온 처리하였을 때 40주간 발생한 ¹⁴CO₂의 양은 [¹⁴C-triazole] hexaconazole과 [¹⁴C-phenyl]hexaconazole 처리한 토양에서 각각 15.7과 39.4%로써 [¹⁴C-phenyl] hexaconazole 처리 토양에서 2.5배 높았다고 보고하였다. 또한 40주간의 시험기간 중 5주간 방출된 ¹⁴CO₂의

양이 [¹⁴C-triazole]hexaconazole과 [¹⁴C-phenyl]hexaconazole 처리한 토양에서 각각 1.0과 9.6%로써 [¹⁴C-phenyl]hexaconazole 처리 토양에서 9.6배 높았다고 보고하였다. 이 시험에 사용한 hexaconazole의 ¹⁴C-표지 위치가 triazole환이므로 Weissler 등의 연구결과 중 [¹⁴C-triazole]hexaconazole의 경우와 비교하면 ¹⁴CO₂의 방출량은 약 10배 정도 차이가 나지만 시험조건 및 토양 특성을 감안하면 유사한 경향으로 판단되었다.

벼 재배기간중 무기화 및 휘발

42일간의 벼 재배기간 중 방출된 ¹⁴CO₂의 양은 그림 3에서 보는 바와 같이 숙성토양의 경우 벼를 재배하지 않은 토양에서 총처리 방사능의 0.67%, 벼 재배 토양에서 1.17%이었으며, 신생잔류물을 함유한 토양에서 방출된 양은 벼를 재배하지 않은 토양에서 1.25%, 벼 재배 토양에서 1.72%로서 벼 재배 여부에 관계없이 42일간 숙성 잔류물 함유 토양보다 신생 잔류물 함유 토양에서 ¹⁴CO₂의 방출량이 많았으며, 벼를 재배하지 않은 시험구보다 벼를 재배한 시험구에서 그 방출량이 많았으나 총 방출량은 총처리 방사능의 0.67~1.72%이었다.

일반적으로 숙성잔류물을 함유한 토양은 숙성기간 동안 화학적인 반응 및 토양 미생물에 의한 작용으로 이미 대사가 진행되어 신생잔류물 함유 토양에서 보다 ¹⁴CO₂의 방출량이 많았다고 보고(이 등, 1989; Lee 등, 1991; 안 등, 1998)되었으나 이 실험에서 숙성잔류물 함유 토양에서 방출된 ¹⁴CO₂의 양이 신생 잔류물 함유 토양보다 적은 것은 숙성기간 동안 토양 중에서 미생물 분해 등의 여러 작용에 의하여 극성화합물로 대사된 후 이 극성 대사산물이 토양에 흡착되어 ¹⁴CO₂로의 완전 분해까지는 대사가 진행되지 않았기 때문인 것으로 보인다.

또한 Kumar와 Mithyantha의 보고(1990)에 따르면 토양 200 g에 hexaconazole을 50 ppm되게 처리하고 25℃에서 14일간 숙성시켰을 때 산화작용(oxidation)에 의하여 생성된 2,5-diol hexaconazole이 주대사산물이었으며, 소량의 2,4-diol hexaconazole과 2,6-diol hexaconazole이 미량 대사산물로 검출되었다고 하였다. 이 결과를 근거로 할 때 숙성기간중 생성된 hexaconazole의 대사산물이 토양에 결합되어 ¹⁴CO₂의 방출량이 낮은 것으로 추정되었다.

일반적으로 토양에 처리된 농약으로부터 무기화되

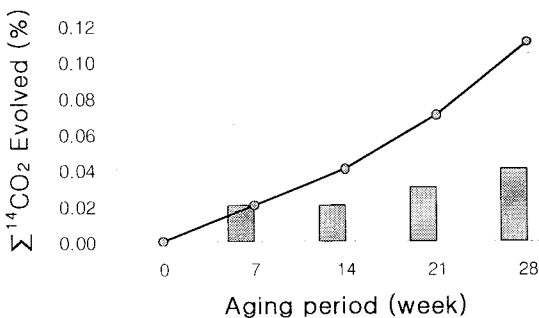


Fig. 2. Cumulative (line) and weekly (bar) amounts of ¹⁴CO₂ evolved from soil during the aging period of 28 days for the formation of bound residues of [¹⁴C]hexaconazole.

어 방출된 $^{14}\text{CO}_2$ 의 양은 토양의 특성, 숙성여부 및 작물 재배 유무에 따라 영향을 받을 수 있는데 이 시험에 사용된 시험토양이 동일 토양임을 고려하면 hexaconazole의 무기화에 토양의 숙성과 작물재배 여부가 중요한 요인임을 시사하였다.

벼 재배 여부가 토양 중 hexaconazole의 무기화에 미치는 영향을 살펴보면 그림 3에서 보는 바와 같이 벼를 재배한 처리구에서 $^{14}\text{CO}_2$ 의 방출량이 많았는데 이는 근권영향(rhizosphere effects) 때문인 것으로 보인다. 토양중 농약 잔류물은 일반적으로 작물을 재배하는 조건에서 근권영향으로 분해가 촉진된다고 보고되었다. 즉 이 등(1988)은 [^{14}C]bentazon의 추출불가 토양 결합잔류물(non-extractable bound residues)을 함유한 토양에 콩과 무를 재배하였을 때 작물의 생육이 유기용매로 추출이 불가능한 토양결합잔류물의 분해를 촉진한다고 하였으며, Lee 등(1991)도 carbofuran 잔류물을 함유한 토양에 벼를 재배하였을 때 무기화가 촉진되었다고 보고하였다.

Venkateswarlu와 Sethunathan의 연구보고(1978)에 따르면 carbofuran을 처리한 토양에 벼를 재배하였을 때 근권(rhizosphere)에 존재하는 bacteria의 수가 carbofuran을 처리하지 않은 대조구 토양에 비해 약 4배 많았다고 하였으며, 이들 미생물들이 carbofuran의 분해

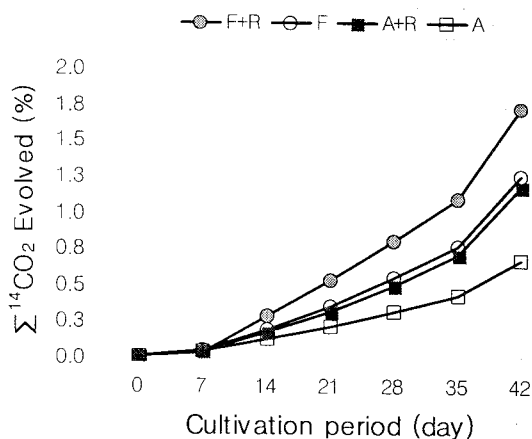


Fig. 3. Cumulative amounts of $^{14}\text{CO}_2$ evolved from the soils which had fresh and aged residues of [^{14}C]hexaconazole and cultivated with and without rice plants during the 42 days of cultivation. F, Fresh soil without rice plants; F+R, fresh soil with rice plants; A, aged soil without rice plants; and A+R, aged soil with rice plants.

에 관여했을 것으로 보인다고 하였다.

Kimura 등(1977)의 보고에 의하면 벼가 여러 종류의 당, 아미노산, 유기산(organic acid) 등을 분비하며, 이 물질들이 근권 주변에 축적된다고 하였다. 근권은 탄수화물, 아미노산, vitamin 그리고 그 외의 다른 생육촉진물질들이 고농도로 축적되어 있기 때문에 미생물의 활성이 큰 부분이라는 Nicholas 등(1965)의 보고를 근거로 할 때 이 시험에서도 벼를 재배한 시험구에서 벼를 재배하지 않은 처리구보다 $^{14}\text{CO}_2$ 의 방출량이 많은 것은 벼를 재배함으로써 근권영향에 의하여 토양중 미생물의 활성이 커지게 되어 토양에 처리된 hexaconazole과 그 대사산물이 $^{14}\text{CO}_2$ 로 무기화되는데 큰 기여를 했기 때문인 것으로 보인다.

한편 벼 재배기간 동안 포집한 휘발물질의 양은 숙성기간과 마찬가지로 자연방사능 수준으로 hexaconazole과 토양중 대사산물의 휘발성은 매우 낮은 것으로 판단되었다.

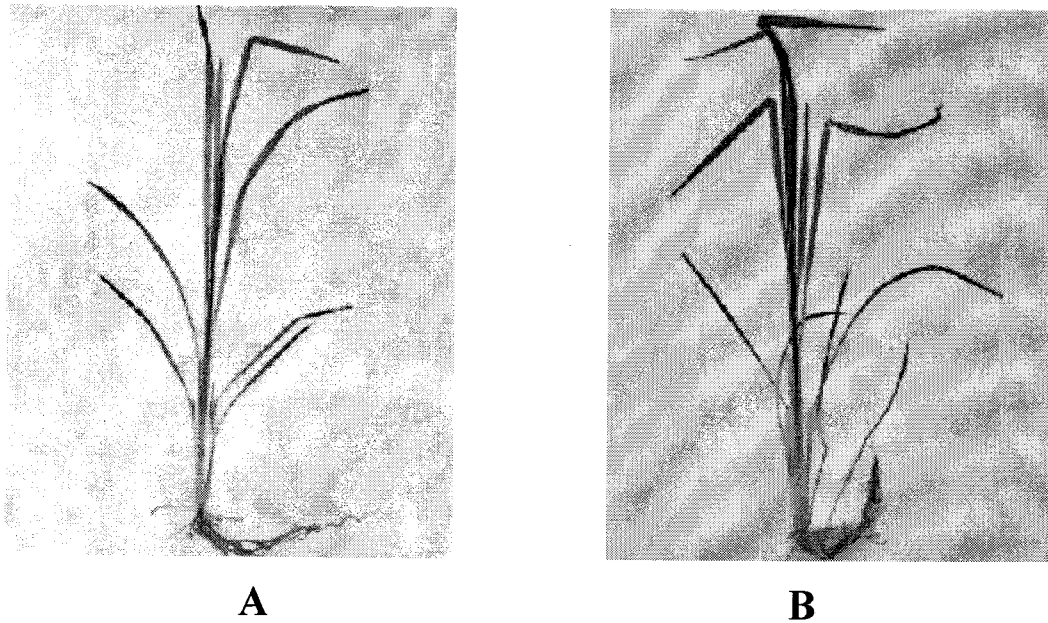
벼에 의한 ^{14}C 방사능의 흡수 이행

42일간의 벼 재배기간 동안 토양에 처리한 hexaconazole이 뿌리에 의해 흡수되어 지상부로 이행된 후 잔류하는 벼 중 ^{14}C 방사능은 표 2에서 보는 바와 같이 현저한 차이는 아니지만 숙성잔류물 함유토양의 경우보다 신생 잔류물 함유토양에서 재배한 경우에 흡수량이 많았는데 이는 숙성 잔류물 함유토양은 숙성기간 중에 이미 어느 정도 극성 화합물로 대사가 진행되어 토양 중 결합잔류물을 형성하였으므로 벼에 대한 흡수이용도(bioavailability)가 감소하였기 때문인 것으로 판단되었다. 또한 지하부(뿌리)와 지상부중 ^{14}C 의 분포량을 보면 숙성 여부에 관계없이 지상부에 많았으나 벼 체내 총흡수량 대비 지상부로의 이행을은 비슷하였다. 벼 체내에 분포하는 ^{14}C 의 양이 뿌리보다 지상부에 더 많이 분포하는 것은 hexaconazole의 침투성에 기인한 것으로 보이는데 이는 Lee 등(1991)이 [^{14}C]carbofuran의 신생 및 숙성 토양잔류물을 함유한 토양에 벼를 재배하였을 때 벼의 뿌리보다 지상부에 더 많은 ^{14}C 가 분포하였는데 이는 [^{14}C]carbofuran의 침투성 때문이라는 연구 결과와 유사하였다.

신생 및 숙성잔류물 함유 토양에서 42일간 재배한 벼의 autoradiogram은 그림 4에서 보는 바와 같이 벼로 흡수 이행된 ^{14}C 는 벼 전체에 분포되어 있으나 ^{14}C 의 분포량은 뿌리나 지상부의 하단부보다 지상부의

Table 2. Behavior of [^{14}C]hexaconazole in soil during the 42 days of rice plant growth

Residue type	Rice plant	$^{14}\text{CO}_2$ Evolved (%)	^{14}C (%) in			^{14}C Remaining in soil (%)	Recovery (%)
			Root	Shoot	Total		
Fresh	Yes	0.33	0.51	1.19	1.70	96.29	98.32
	No	0.25	-	-	-	93.39	93.64
Aged	Yes	0.26	0.31	0.70	1.01	101.55	102.82
	No	0.14	-	-	-	100.77	100.91

Fig. 4. Autoradiograms of rice plants grown for 42 days in soils containing fresh (A) and aged (B) residues of [^{14}C]hexaconazole.

선단 즉 잎 끝에 더 많았다. 이 연구결과는 침투성 농약을 토양에 처리한 후 재배한 작물중 ^{14}C 의 분포는 뿌리에서 흡수되어 지상부의 선단으로 먼저 이동한 후 전체 식물체로 이행한다는 연구보고(Archer 등, 1977; Fuhremann과 Lichtenstein, 1980; Lee 등, 1991)와 일치하였다.

한편 벼 추출액을 HPLC-RAD로 분석한 결과 대사산물은 검출되지 않았는데 이는 hexaconazole이 극소량의 분해산물로 대사되었거나 대사산물이 벼체내에서 추출이 불가능한 결합잔류물을 형성하여 추출이 되지 않았기 때문인 것으로 추측되었다.

벼에 의한 hexaconazole의 경시적 흡수 이행

Hexaconazole을 처리한 토양에 벼를 재배하였을 때 벼의 뿌리를 통한 hexaconazole의 경시적 흡수 이행을 구명하기 위하여 시험한 결과는 표 3에서 보는 바

와 같다. 30일간의 벼 재배기간중 $^{14}\text{CO}_2$ 로 무기화된 양은 지속적으로 증가하여 총처리 방사능의 3.09%이었으며, 특히 약제처리 후 7일후부터 무기화율이 급속히 증가하였다. 지상부와 뿌리에 흡수 이행된 ^{14}C 의 양은 약제처리 15일 후부터 증가하였으며, 뿌리에 흡수된 양보다 지상부에 이행된 양이 더 많았다. 그러나 토양중 ^{14}C 의 양은 무기화율이 낮고 벼에 의한 흡수이행량이 적어 경시적으로 일정한 경향을 보이지는 않았다.

30일간의 벼 재배 기간중 토양중 hexaconazole의 행적을 살펴보면 벼에 의한 흡수이행량과 무기화율이 낮고 총처리 방사능의 90% 이상이 토양에 잔류하여 토양에 처리한 hexaconazole은 벼에 의한 흡수이행성은 낮고 토양중 무기화 과정도 느리게 진행되는 것으로 나타났다.

Hexaconazole의 경시적인 흡수이행성을 확인하기 위

Table 3. Time-course behavior of [¹⁴C]hexaconazole treated freshly to soil during 30 days of rice plant cultivation

Days after treatment	¹⁴ CO ₂ Evolved (%)	¹⁴ C (%) in			Recovery (%)
		Shoot	Root	Soil	
0.25	0	0.01	0.01	94.93	94.95
0.5	0.07	0.01	0.01	98.16	98.25
1	0.12	0.01	0.01	94.07	94.21
2	0.27	0.02	0.01	95.04	95.34
3	0.55	0.02	0.02	97.07	97.96
7	1.32	0.07	0.06	93.53	94.98
15	1.89	0.47	0.08	95.54	97.98
30	3.09	1.51	0.36	90.91	95.87

하여 경시적으로 수확하여 건조한 벼를 X-ray film에 노출시켜 얻은 autoradiogram은 그림 5에서 보는 바와 같이 약제처리 6시간 후에는 뿌리에 일부 흡수되었으나 12시간 경과 시료부터는 지상부로 이행하여 지상부 전체에 분포하는 것을 알 수 있었으며, 시간이 경과할수록 지상부의 선단부분에 집적되었다.

토양의 추출과 추출불가 토양결합 잔류물의 분포

[¹⁴C]Hexaconazole의 신생 및 숙성 잔류물을 함유한

토양에 42일간 벼를 재배한 토양과 재배하지 않은 토양을 acetone으로 추출한 결과는 표 4에서 보는 바와 같이 acetone으로 추출되는 ¹⁴C는 총잔류방사능의 27~31%에 불과하고 대부분의 잔류물은 추출불가 결합 잔류물이었으며, 신생잔류물 함유토양보다 숙성잔류물 함유토양에서 현저한 차이는 아니지만 추출불가 토양결합잔류물의 양이 증가하는 경향이였다.

또한 벼를 재배한 시험구가 벼를 재배하지 않은 시험구보다 추출불가 토양결합잔류물의 양이 많았는데

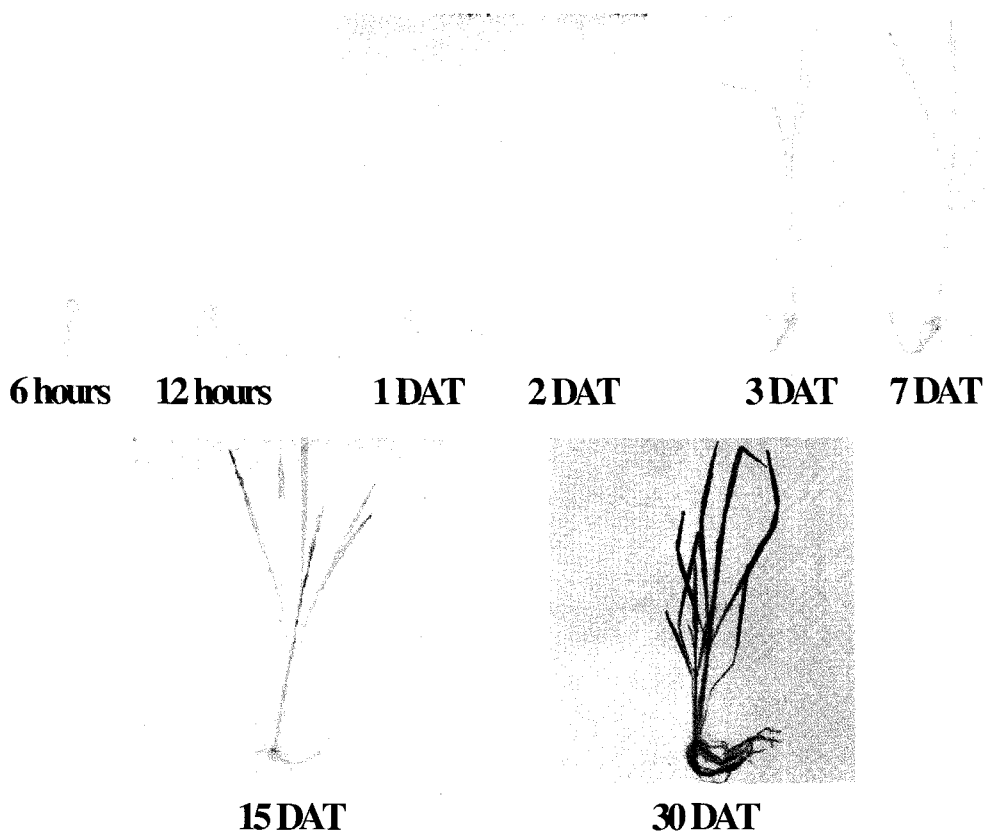


Fig. 5. Autoradiograms of rice plants grown in soils treated freshly with [¹⁴C]hexaconazole.

Table 4. Change in the non-extractable ¹⁴C after applied to soil as [¹⁴C]hexaconazole in the absence and presence of rice plants (Fulvic acid + humic acid + humine = 100%)

Residue type	Rice plant	Non-extractable bound residue(%)	Fulvic acid (%)	Humic acid (%)	Humin (%)
Fresh	Yes	71.94	41.18	1.60	57.22
	No	68.57	44.74	1.71	53.55
Aged	Yes	73.46	40.92	2.03	57.05
	No	70.87	44.29	1.91	53.80

이 결과는 뿌리로부터 방출되는 삼출물(exudate)이 토양 중에서 추출불가 잔류물의 형성을 크게 향상시킨다는 보고(Nicholas, 1965; Curl과 Truelove, 1986)를 근거로 할 때 벼 재배에 기인된 것으로 보인다. Lee 등(1991)의 연구에 의하면 각각 숙성 정도가 다른 carbofuran 잔류물을 함유한 토양을 methanol로 추출하였을 때 추출불가 토양결합 잔류물의 양이 벼를 재배한 토양에서 현저히 증가하였다고 하여 이 실험의 결과와 일치하였는데 이는 토양에 처리된 carbofuran이 작물체로 신속하게 흡수이행하는 침투성 농약이기 때문인 것으로 추측된다. 그러나 이 등(1989)은 각각 숙성 정도가 다른 비침투성 bentazon 잔류물을 함유한 벼 재배 전후 토양을 methanol로 추출하였을 때 벼를

재배한 토양에서 토양결합 잔류물의 양이 증가하였는데 이는 작물을 재배한 토양의 경우 토양 중에 벼가 이용가능한 ¹⁴C를 이미 벼에 흡수하였기 때문에 결과적으로 토양에 잔류하는 추출불가 토양결합잔류물의 양이 상대적으로 많아지게 된 것이라고 하였다.

토양 중 [¹⁴C]hexaconazole의 추출불가 토양결합잔류물의 분포는 작물재배 여부와 관계없이 humin>fulvic acid>humic acid 순으로 분포하였으며, 벼를 재배하면 fulvic acid는 감소하고 humin으로의 혼입은 증가하는 경향이였다.

한편 토양추출액을 HPLC-RAD로 분석한 결과 대사산물은 검출되지 않았는데 이는 Kumar와 Mithyantha의 보고(1990)와 같은 diol형의 대사산물이 소량 생성

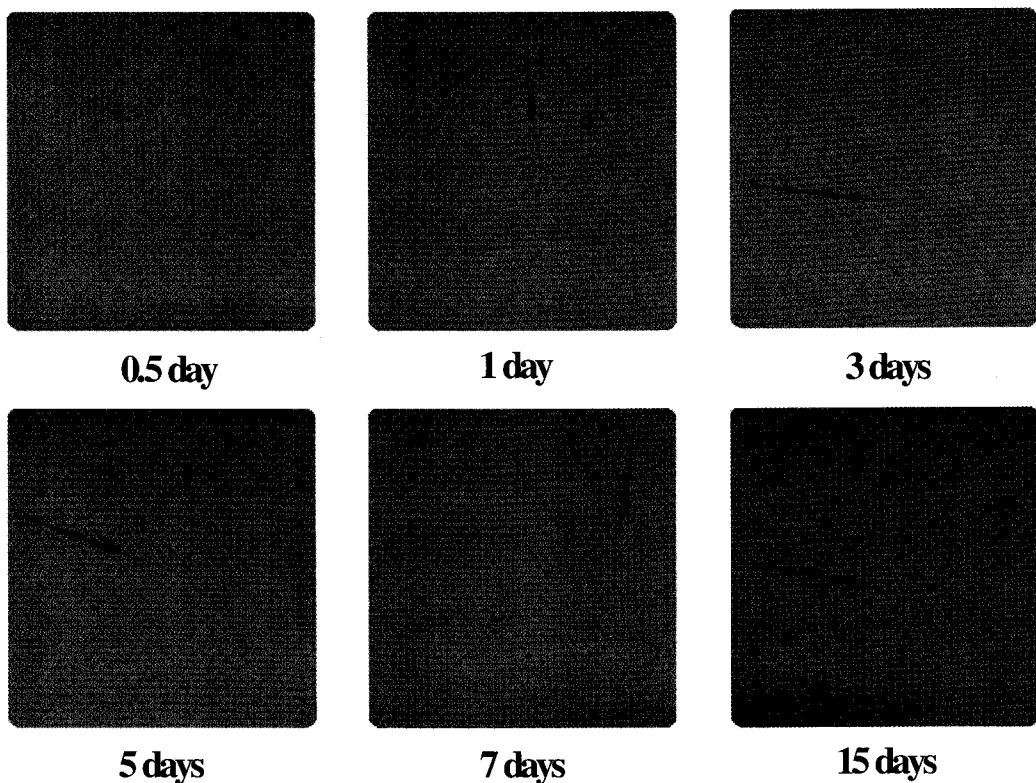


Fig. 6. Autoradiograms of rice plants treated with [¹⁴C]hexaconazole on leaf surface.

Table 5. Uptake of ¹⁴C residues from the rice plant-grown soils by Chinese cabbage during the growth period of 30 days.

Aging	Rice plant	¹⁴ C in Chinese cabbage (%)	¹⁴ C in soil (%)	Recovery (%)
No	No-F ^{a)}	4.32	93.53	97.85
No	Yes	2.36	95.92	98.28
No	No-O ^{b)}	2.14	96.38	98.52
Yes	Yes	3.69	94.25	97.94
Yes	No-O ^{b)}	3.41	95.37	97.78

^{a)}Freshly treated with [¹⁴C]hexaconazole to soil just before transplanting of Chinese cabbage, ^{b)}Not previously cultivated with rice plants (control pot soil)

되었거나 식물체내에서와 같이 대사산물이 벼체내에서 추출이 불가능한 결합잔류물을 형성하여 추출이 되지 않았기 때문인 것으로 추측되었다.

경엽에 처리한 hexaconazole의 행적

벼 잎에 경엽살포한 hexaconazole의 이동성을 구명하기 위하여 ¹⁴C 표지 및 비표지 hexaconazole를 0.2%

Triton X-100에 0.2 ppm되게 용해한 처리용액 5 μL를 벼의 하단부 3엽에 처리한 후 처리 당일부터 15일까지 경시적으로 시료를 채취하여 얻은 autoradiogram은 그림 6에서 보는 바와 같이 잎에 처리된 hexaconazole은 처리 후 12시간 경과 시에 주로 벼 잎의 선단 방향으로 이동하였으나 반대 방향으로 이동한 양은 매우 적었으며, 처리 1일 후부터 처리한 잎과 연결된

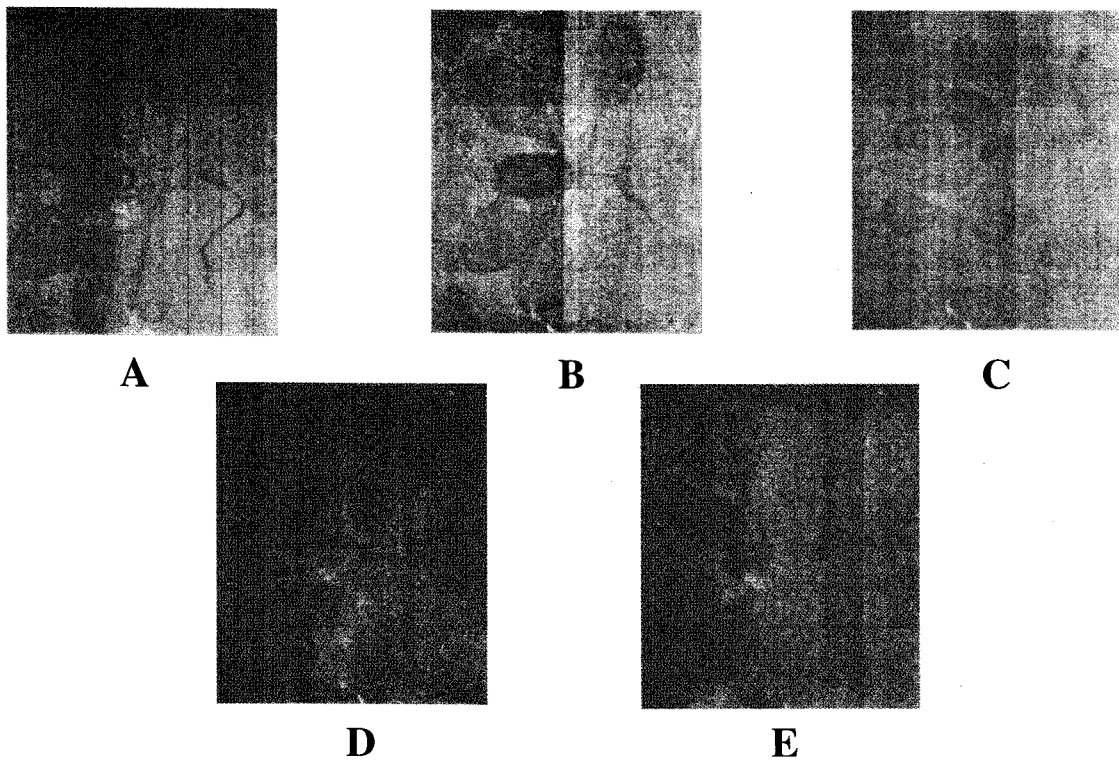


Fig. 7. Autoradiograms of Chinese cabbage grown for 30 days in soils containing [¹⁴C]hexaconazole residues. A, fresh soil previously cultivated with rice plants; B, fresh soil not previously cultivated with rice plants; C, freshly treated soil with [¹⁴C]hexaconazole just before transplanting of Chinese cabbage; D, aged soil previously cultivated with rice plants; and E, aged soil not previously cultivated with rice plants.

주변 잎으로 이동하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과를 토양으로부터 흡수이행성과 관련하여 볼 때 토양에 처리한 hexaconazole은 작물체로 쉽게 흡수이행될 정도로 침투성은 높지 않으나 잎 표면에서 체내로는 충분히 침투하는 quasi-systemic한 특성이 있는 것으로 나타났다.

Hexaconazole의 후작물중 행적

벼 재배 후 토양에 잔류하는 hexaconazole이 후작물에 미치는 영향을 조사하기 위하여 벼 재배가 끝난 토양에 배추를 재배한 후 분석한 결과는 표 5에서 보는 바와 같이 hexaconazole을 처리 후 벼를 재배한 토양에 후작물로 배추를 재배하였을 때 숙성잔류물 함유 토양에 벼를 재배한 토양에서 배추를 재배한 경우가 신생잔류물 함유토양에 배추를 재배한 경우보다 배추로의 흡수율이 높았다. [¹⁴C]Hexaconazole을 처리한 벼 재배 전후 토양에 배추를 재배했을 때 총처리 방사능의 대부분인 약 93~96%가 토양에 잔류하였고 배추에 흡수이행된 ¹⁴C는 총처리방사능의 4% 미만이었지만 이 결과로부터 작물재배시 살포한 hexaconazole의 토양잔류물이 후작물로 전이(carry-over)됨을 알 수 있었다.

또한 후작물 재배 후 배추에 흡수이행된 [¹⁴C]hexaconazole과 그 대사산물의 분포는 그림 7에서 보는 바와 같이 식물체 전체에 분포하지만 특히 잎의 선단에 어느 정도 집적되는 것을 확인할 수 있었다.

인용문헌

- Archer, T. E., J. D. Stockes, and R. S. Bringham (1977) Persistence and biodegradation of carbofuran in flooded soils. *J. Agric. Food Chem.* 25:536-541.
- Chen, T., C. Dwyre-Gygax, S. T. Hadfield, C. Willetts, and C. Breuil (1996) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for a broad spectrum triazole fungicide: hexaconazole. *J. Agric. Food Chem.* 44(5):1352-1356.
- Curl, E. A. and B. Truelove (1986) Root Exudates, *In* The Rhizosphere, Springer-Verlag, Berlin, pp. 55-62.
- Fuhremann, T. W. and E. P. Lichtenstein (1980) A comparative study of the persistence, movement and metabolism of six carbon-14 insecticides in soil and plants. *J. Agric. Food Chem.* 28:446-452.
- Kimura, M., H. Wade and Y. Takai (1977) Studies on the rhizosphere of paddy rice (part 4), Physical and chemical features of rhizosphere(II), *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.* 48(11):540-548.
- Kumar, Y. and M. S. Mithyantha (1990) Metabolism of hexaconazole in sandy loam soil, Company report, Rallis India LTD.
- Lee, J. K., K. S. Kyung and W. B. Wheeler (1991) Rice plant uptake of fresh and aged residues of carbofuran from soil. *J. Agric. Food Chem.* 39:588~593.
- Lee, J. K., F. Führ, and W. Mittelstaedt (1988) Formation and bioavailability of bentazon residues in a German and Korean agricultural soil. *Chemosphere* 17:441-450.
- Nicholas, D. J. D., K. F. Baker and W. C. Snyder (eds) (1965) Ecology of soil-borne plant pathogens, Univ. Calif. Press, Berkely, pp.210-218.
- The Pesticide Manual (2003) British Crop Protection Council, Thirteenth edition, pp. 533-534.
- Venkateswarlu, K and N. Sethumathan (1978) Degradation of carbofuran in rice soils as influenced by repeated applications and exposure to aerobic conditions following anaerobiosis. *J. Agric. Food Chem.* 26(5):1148-1151.
- Weissler, M. S., R. Mistry and I. R. Hill (1988) Hexaconazole : Degradation in aerobic and anaerobic soils, Compony report, Plant Protection Division, ICI.
- 경기성, 이병무, 임양빈, 이영득, 한성수, 최주현, 김진화, 류갑희, 이재구 (2004) 살균제 hexaconazole의 흡착 및 용탈 특성. *농약과학회지* 8(1):46-53.
- 농약사용지침서 (2004) 농약공업협회. pp. 296-297.
- 안기창, 경기성, 이재구 (1998) Micro-ecosystem(pot)중 제초제 quinclorac 토양잔류물의 행적. *한국환경농학회지* 2(3):76~83.
- 이재구, 경기성, F. Führ (1989) 토양중 신생 및 숙성 bentazon 잔류물의 벼에 의한 흡수. *한국농화학회지* 32:393~400.
- 이재구, 천삼영, 경기성 (1988) 토양 중 제초제 bentazon 잔류물의 콩과 무에 의한 흡수. *한국환경농학회지* 7(1):1~7.

Behavior of the soil residues of the fungicide hexaconazole in a rice plants-grown microecosystem (pot)

Kee Sung Kyung*, Byung Moo Lee and Jae Koo Lee¹(*Hazardous Substances Division, Department of Crop Life Safety, National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon 441-707 and ¹Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea*)

Abstract : In order to elucidate the behavior of the fungicide hexaconazole in soil and rice plants, rice plants were grown for 42 days in a microecosystem (pot) containing fresh and 28 day-aged soil residues of [¹⁴C]hexaconazole. The amount of ¹⁴CO₂ evolved during 28 days of aging was 0.11% of total ¹⁴C-radioactivity treated and the averaged weekly degradation rate was 0.03%. Mineralization rates for 42 days of rice cultivation on fresh and aged paddy soils were 0.67% of the total ¹⁴C in case of non-rice planting on aged soil and 1.17% in case of rice planting on aged soil, whereas 1.25% in non-rice planting on fresh soil and 1.72% in case of rice planting on fresh soil, suggesting that the amounts of ¹⁴CO₂ were evolved higher from fresh soils than aged ones and from rice-planting soils than non-planting ones. The amounts of volatiles collected were very low as background levels. Most of ¹⁴C-Radioactivity was remained in soil after 42 days of rice cultivation and ¹⁴C absorbed through rice roots was distributed more in shoots than roots and translocated into the edge of shoots of rice plants. Amounts of non-extractable ¹⁴C in soils were higher in rice planted soil than in non-planting soil. The distribution of non-extractable ¹⁴C was increased in the order of humin>fulvic acid>humic acid. The amounts of ¹⁴C translocated into rotational crop Chinese cabbage were 2.36 and 3.69% of the total ¹⁴C in case of rice planted soil containing fresh and aged residues, respectively, suggesting that small amounts of [¹⁴C]hexaconazole and its metabolite(s) were absorbed and their bound residues were more available than their fresh ones to Chinese cabbage.

Key words : [¹⁴C]hexaconazole, microecosystem (pot), behavior, rice plant, Chinese cabbage, rotational crop, mineralization.

*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0506, E-mail : kskyung@rda.go.kr)