

제초제 glufosinate-ammonium의 지렁이 및 토양 미생물과 작물에 미치는 영향

김용석¹ · 전용배¹ · 최해진² · 김성문² · 김성민^{3*}

¹한국화학시험연구원 안전성평가센터, ²강원대학교 농업생명과학대학 생물환경학부,

^{3*}바이엘 크롭 사이언스(주) 기술연구소

요약 : 비선택성 제초제인 glufosinate-ammonium(ammonium 4-[hydroxy-(methyl)phosphinoyl]-DL-homoalaninate, GLA, 상표명 : 바스타 액제)의 비표적생물에 대한 영향을 알아보기 위하여 지렁이와 토양미생물 및 작물에 대한 영향시험을 수행하였으며, 시험토양 중 GLA 및 그 대사산물인 3-MPP의 잔류성을 시험하였다. 토양 중 지렁이에 대한 영향시험 결과 GLA가 288 mg a.i. m² 약량으로 처리된 토양 중 지렁이의 치사체는 관찰되지 않았으며, 약제처리 후 시험기간 동안 지렁이 생체 중 또한 무처리에서 9.076±0.55 g에 비해 토양 표면처리구는 8.046±0.37 g, 토양혼화처리에서 8.349±0.785 g 으로서 체중증가율에서 GLA의 영향은 없는 것으로 판단된다. 그리고 토양 미생물에 대한 영향시험 결과 진균, 세균 및 방선균의 균수는 무처리구에서 각각 3.7×10⁴, 3.7×10⁵, 3.7×10⁴이었으며 144 mg a.i. m²의 약량으로 처리된 시험구에서 진균은 6.2×10⁴, 세균은 1.5×10⁶, 방선균은 5.7×10⁴으로 무처리구와 같이 약제처리 후 시간의 경과에 따른 미생물수의 변화정도가 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 토양에 처리된 GLA와 3-MPP의 잔류분석결과 검출한계는 두 화합물 모두 0.02 mg kg⁻¹이었으며 반감기는 사질식양토에서 30일 간격으로 2회 처리 시 15일이었다. 한편 감자밭과 배추밭의 고랑에 GLA를 처리한 후 두 작물의 생엽 중 카로티노이드 등의 생리생화학적 성분은 손제초구를 100%로 하여 비교해 본 결과 감자에서 90.00~104.33%이었으며 배추에서는 99.0~112.67%로 약제처리구에서 두드러진 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과에서 GLA는 지렁이와 토양 미생물에 아무런 영향을 미치지 않았고 토양 중 반감기도 15일 이내로 토양 중에 노출 시 매우 신속하게 분해 소실되어 그 위해성은 매우 낮은 수준인 것으로 판단되며, 작물 재배지에서 밭고랑의 잡초 방제를 위해 비산방지 기구를 이용하여 살포할 경우에는 재배 작물에 안전한 것으로 판단되었다. (2006년 4월 10일 접수, 2006년 6월 20일 수리)

색인어 : 글루포시네이트 암모니움, 지렁이, 토양미생물, 제초제 약효

서론

농작물 재배에 있어 농약의 사용은 유해 병해충이나 잡초로부터 농작물을 보호함으로써 농업생산성을 향상시키고 우리들에게 고품질의 먹거리를 안정적으로 생산, 공급하기 위하여 사용되는 가장 중요한 농자재로 인식되어오고 있다. 그러나 이러한 생물학적 활성을 가진 농약성분은 다양한 경로를 통하여 토양 환경에 노출됨으로써 비표적 토양생물에 악영향을 미칠 가능성을 배제할 수 없는 실정이다(한국환경농학회, 2001). 특히 경엽 살포를 목적으로 하는 농약의 경우에도 살포시 혹은 그 이후에 많은 양이 토양에

노출되기 때문에 토양에 서식하는 생물에 대한 농약 성분의 위해성을 평가하는 것은 농약사용에 있어 환경에 대한 안전성을 확보하기위해 매우 중요한 과제이다.

토양서식생물에 대한 농약의 위해성을 평가하는데 있어 중요한 지표생물로 이용되고 있는 지렁이는 토양의 유기물을 섭취, 분해하는 등 토양오염을 정화하는 능력이 큰 생물로 알려져 있다(Sheppard 등, 1997). 따라서 OECD에서도 지렁이에 대한 독성성적을 기초로 비표적 생물에 대한 위해성 평가를 권고하고 있다(OECD, 2001). 지렁이에 대한 위해성평가는 해당농약의 지렁이에 대한 급성독성 시험결과를 농약의 살포량에 근거하여 산출한 환경추정농도(predicted environmental concentration)와 비교하여 농약살포지에서 지렁

*연락저자

이에 대한 토양잔류농약의 위해성 정도를 평가하는 시험방법으로 국내에서도 이미 체계적인 위해성 평가를 시작하였다(박 등, 2003). 지렁이에 대한 급성독성이 높은 농약에 대해서는 지렁이 번식독성시험과 야외 포장실험을 통하여 그 위해성을 평가하게 되는데 6개월 이상의 시험기간과 시험포장 관리의 어려움으로 인해 폭넓은 시험이 어려운 실정이다. 따라서 실제 포장의 토양을 이용하여 실내에서 지렁이에 대한 농약의 영향을 단기적으로 구명하는 방법이 자주 활용되고 있다. 또한 토양 생태계에서 생산자와 소비자로 이어지는 물질의 흐름에 있어 그 분해자로서의 역할을 수행함으로써 물질의 순환과 생태계내의 한정적인 물질자원의 이용을 극대화시키고 유기물질을 합성하는데 있어 중요한 역할을 하는 토양 미생물상의 변화를 검정하는 것은 농약의 토양생태계에 대한 위해성을 평가하는데 있어 매우 중요하다(Yun과 Jung, 2003). 한편 이 등(2001)의 보고에 의하면 비선택성 제조제가 밭작물 재배지 사용이 제한되고 있음에도 불구하고 병해충의 서식처를 구제하고 손제초나 친환경자재와 농법을 이용한 잡초방제에 소요되는 노동력의 한계와 불안정한 방제효과 등의 이유로 전체 사용량의 67%에 달하는 많은 양이 밭 작물재배지에 사용되고 있는 실정을 감안하면 비선택성 제조제가 밭고랑 처리 시 비표적 재배작물의 생육에 미치는 영향을 재배중인 작물의 잎 중 카로티노이드, 클로로필, 단백질, 당 함량을 분석하여 무처리구와 비교해 보는 것은 농업 환경의 현실적 측면에서 약제 살포시 비산이나 강우에 의한 토양유실 및 표면이동 등으로 인한 농약성분의 농작물오염 혹은 약해 검정 측면에서도 매우 의미 있는 일이라고 생각된다.

Glufosinate-ammonium(GLA)은 토양세균인 *Streptomyces viridochromogenes*의 배양체로부터 추출되어 그 제조활성이 보고된 이후 1984년에 독일의 Hoechst사(현 바이엘크롭사이언스(주))에 의해 최초로 합성과정을 거쳐 상품화된 비선택성 경엽처리용 제조제로서 국내에는 1989년에 바스타 액제로 등록되어 과수원 및 비농경지 잡초방제용으로 널리 사용되어져오고 있으며 방제대상 식물에 살포시 식물체내 글루타민합성효소의 활성을 저해함으로써 그 제조활성을 나타낸다

(BCPC, 2003).

본 실험에서는 glufosinate-ammonium의 토양생태계에 대한 영향을 알아보기 위하여 유효성분이 18% 함유된 제품농약을 사용하여 토양처리 시 토양서식 지렁이에 대한 영향을 구명하고 또한 토양 미생물상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 토양 중 GLA와 그 대사산물에 대한 잔류특성을 구명하고 또한 실제 작물재배지에서 GLA를 밭고랑에 처리한 다음 주변에서 재배되고 있는 비표적 작물의 생육에 미치는 영향을 생엽의 생리생화학적 성분 분석을 통하여 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

시험 생물

본 시험에 사용된 지렁이는 농업과학기술원의 환경생태독성연구실에서 분양받아 한국화학시험연구원 안전성평가센터 환경독성실에서 사육중인 국내종 줄지렁이(*Eisenia fetida*)로서 2개월 이상 성숙한 무게가 300~600 mg 정도의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다.

시험 농약 및 토양

본 실험에 사용된 약제는 glufosinate-ammonium(순도 99.2%) 표준품 및 제품농약(18% SL, 상표명 : 바스타 액제)과 그 대사산물인 3-(methyl) phosphinoyl propionic acid(3-MPP, 순도 97.9%)이며 바이엘크롭사이언스(주)로부터 공급받아 사용하였다. 그리고 실험에 사용된 토양은 경기도 김포시 월곶면 소재 밭 토양으로 표층 10 cm 깊이로 채취하여 음건한 다음 2 mm체를 통과시킨 후 사용하였고 그 이화학적 특성은 표 1에 나타내었다.

시약 및 분석기기

시험토양 중 GLA와 3-MPP의 잔류량 분석을 위하여 사용한 시약은 glacial acetic acid(99%, Sigma Co., USA)와 trimethylorthoacetic acid(99%, Aldrich Co. USA)이고 추출용 용매류는 HPLC용으로서 J&T Baker 사(USA)의 제품을 사용하였으며 기기 분석조건은 표

Table 1. Physico-chemical properties of the soil used

pH (1:5, H ₂ O)	Organic matter(%)	CEC (cmol ⁺ kg ⁻¹)	Particle size (%)			Texture
			Sand	Silt	Clay	
5.86	1.01	9.1	70.6	10.1	19.3	Sandy clay loam

Table 2. Gas chromatographic conditions for the analysis of GLA and 3-MPP

Instrument	HP6890N gas chromatograph
Detector	Nitrogen phosphorus detector(NPD)
Column	DB-WAX, capillary (320 μ m I.D. \times 30 m L., 0.25 μ m film thickness)
Gas flow rate	Hydrogen : 3 mL min ⁻¹ . Air : 60 mL min ⁻¹ . Nitrogen: 1 mL min ⁻¹ (inlet) & 10 mL min ⁻¹ (make up)
Temperature	Oven : 140°C, 2 min \rightarrow 10°C min ⁻¹ , 240°C, 5 min Inlet : 200°C (splitless mode) Detector : 280°C
Injection volume	1 μ L
Retention time	12.2 min for GLA, 5.1 min for 3-MPP

2에 나타내었다.

지렁이에 대한 영향

GLA의 지렁이에 대한 영향시험은 농약의 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청, 2001) 및 OECD test guideline(1984)을 근거로 하여 가로, 세로, 높이가 각각 0.55 m, 0.35 m, 0.15 m이고 면적이 0.2 m²인 플라스틱 사각 시험구 상자를 제작 하여 상기 시험토양 17 kg을 넣고 우분 0.24 kg을 첨가한 다음 수분함량을 최대용수량의 15%로 조절한 다음 고르게 혼합한 후 시험 약제를 비농경지 사용기준량의 2배에 해당하는 1,600 mL 10 a⁻¹(288 g a.i. 10 a⁻¹)에 해당하는 320 μ L(57.6 mg a.i.)을 증류수 24 mL에 희석하여 처리하였으며 최종 수분함량을 최대용수량의 40%로 보정하였다(농약공업협회, 2005a). 시험약제의 처리는 토양표면처리와 토양혼화처리 방법으로 각각 처리하였는데 토양표면처리는 표토 5 cm를 제거한 후 시험토양에서 10일간 순화된 지렁이 30마리를 투입한 후 표토를 덮고 약제를 처리하였고, 토양혼화처리는 약제를 처리하고 토양을 골고루 혼합한 후 시험용 지렁이를 투입하였다. 시험구 상자에 지렁이를 투입한 다음 각각 14일 및 30일이 경과한 후 지렁이의 형태이상, 행동 변화, 치사수 및 생체중을 측정하여 GLA의 지렁이에 대한 영향정도를 평가하였다.

토양미생물에 대한 영향

GLA의 토양미생물에 대한 영향을 알아보기 위하여 상기 토양시료채취 지역의 밭 포장에 가로 1 m, 세로 1 m의 시험구를 설치하고 비농경지 사용기준량인 800 mL(144 g a.i.) 10 a⁻¹에 해당하는 약량을 30일 간격으로 2회 처리하였다. 최종 약제처리 후 1, 3, 7, 15, 30, 60, 90일에 표층에서 10 cm 깊이로 토양시료를 채취하고 각각의 선택배지를 이용하여 채취한 토

양 중 진균, 세균, 방선균을 분리하여 각각의 균이 형성하는 colony의 수를 측정한 후 무처리구를 대조로 시험약제의 토양 미생물에 대한 영향을 알아보았다(Research Association of Soil Microbiology, 1992). 진균의 경우 채취한 토양시료 10 g을 멸균 생리식염수에 넣고 혼합한 후 단계적으로 희석한 용액을 10% tartaric acid 18 mL가 첨가된 potato dextrose agar(PDA, Difco Co., Germany)배지에 100 μ L를 도말하여 25°C에서 48시간이상 배양하여 생성된 colony수를 측정하였으며 세균은 표준평판천배지(plate count agar)를 이용하여 상기와 동일한 방법으로 희석한 후 도말하여 35°C에서 24시간 이상 배양한 다음 생성된 colony수를 측정하였다. 또한 방선균은 세균 및 곰팡이류의 생육을 저지하기 위하여 asparagine과 sodium propionate가 첨가된 고체배지를 사용하여 상기와 동일한 방법으로 희석한 후 30°C에서 48시간 이상 배양하여 생성된 colony수를 측정하였다(Yun과 Joung, 2001).

토양 잔류성

GLA의 토양생물에 대한 영향을 평가하는데 중요한 기초자료로서 토양 중 잔류특성을 구명하고자 상기 토양시료가 채취된 지역의 밭 포장에 가로 4 m, 세로 2.5 m인 10 m²면적의 시험포장을 설치한 후 시험농약을 비농경지 표준사용량인 800 mL(144 g a.i.) 10 a⁻¹에 해당되는 약량을 30일 간격으로 2회 토양에 표면 처리하였다. 시료채취는 최종약제 처리 후 0, 1, 3, 6, 15, 31, 60일 경과한 다음 표토 10 cm 깊이로 5지점에서 토양을 채취한 다음 골고루 섞고 음건한 후 2 mm체를 통과시키고 수분함량을 측정한 후 농촌진흥청 농약잔류성시험법(1992)을 근거로 하여, 토양시료 중 50 g을 증류수 100 mL를 가하여 1시간동안 진탕한 다음 60°C 수조에서 감압 농축한 후 ethyl acetate 10 mL를 가하고 다시 60°C 수조에서 감압 농축한 다

음 농축잔사에 glacial acetic acid 2 mL를 가한 후 10 분간 초음파를 이용하여 충분히 섞은 다음 8 mL의 trimethylorthoacetic acid를 가하여 100°C 수조 상에서 4시간동안 환류 시킨 후 실온에서 냉각한 다음 1 mL 이하로 감압 농축하였다. 농축 잔사에서 반응시약을 완전히 제거하기 위하여 톨루엔 15 mL를 가한 후 40°C 수조에서 다시 1 mL 이하로 감압 농축한 다음 volumetric flask를 이용하여 정용한 다음 GLC-NPD의 분석시료로 사용하였다.

시료추출 전 유도체 수율 및 분석법에 대한 회수율 실험은 GLA와 3-MPP 각각의 표준품을 이용하여 GLA는 10 ppm, 50 ppm 그리고 3-MPP는 2 ppm, 10 ppm의 표준용액 1 mL를 무처리 토양시료 50 g에 처리하고 균일하게 혼합한 다음 30분간 정지한 후 상기 추출 및 분석방법으로 회수율을 구하였다.

비표적 작물에 대한 생리·생화학 분석

작물이 재배중인 포장의 밭고랑에 GLA를 처리할 경우 비표적 작물에 대한 생리생화학적 영향을 구명하기 위하여 강원도 춘천시 소재 강원도 농업기술원 포장에서 감자와 배추가 재배중인 밭고랑(골간 간격, 감자 : 40 cm, 배추 : 50 cm)에 GLA 18% 액제(상표명 : 바스타 액제)를 800 mL 10 a⁻¹ 기준으로 Flat-type, 8002-노즐이 장착된 CO₂-분무기를 이용하여 40 psi 압력으로 잡초 경엽 및 토양표면에 골고루 살포한 후 10일 간격으로 3회에 걸쳐 감자와 배추엽을 채취하였다. 채취한 시료는 마쇄하여 엽 중 카로테노이드, 클로로필, 당, 단백질함량 및 총 아미노산 함량을 측정하여 손제초구에서의 분석 결과를 대조로 그 차이를 비교하였다. 카로티노이드 함량은 UV-spectrophotometer(HP8452A, Diode array spectrophotometer, Hewlett Packard, USA)의 흡광도 448 nm에서 β-carotene을 표준으로 정량하였고(김, 1997), 클로로필 함량은 642.5 nm와 660 nm에서 각각 측정하여 환산하였으며(White 등, 1997), 단백질함량은 595 nm에서(Bradford, 1976), 총 아미노산 함량은 leucine을 표준으로 570 nm에서 각각 흡광도를 측정한 다음 손제초구

시료의 함량을 기준으로 하여 평균 증감율을 백분율로 표시하였으며(Moore, 1968), 당 함량은 HPLC (LC-10AD, SPD-10AV uv/vis detector, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 fructose, sucrose, glucose를 표준으로 분석한 다음 손제초구 시료의 함량을 기준으로 평균 증감율을 백분율로 나타내었다(Spiro, 1966).

결과 및 고찰

지령이에 대한 영향

토양에 처리한 GLA의 지령이에 대한 영향을 조사한 결과는 표 3과 같다.

밭 포장에서 채취한 토양을 이용하여 실내에서 화학물질의 토양서식생물에 대한 위해성을 평가하는 지표생물로 이용되고 있는 지령이를 GLA 살포 후 30일 동안 노출시켰을 경우 시험용기에 투입된 지령이의 치사가 전혀 일어나지 않아 토양표면과 토양 혼합 처리 시 GLA의 토양서식 지령이에 대한 독성학적인 영향은 무시할 수 있는 수준인 것으로 판단되었다. 또한 처리 농도를 환경추정농도(predicted environmental concentration, PEC)로 환산하면 4.11 mg kg⁻¹ soil으로써 인공토양을 이용하여 산출된 지령이에 대한 급성반수치치농도 >1000 mg kg⁻¹ soil(BCPC, 2003)에 비하면 극히 소량이며 독성노출비(toxicity exposure ratio, TER)는 244.3으로, TER이 100 이상일 경우에는 환경에 대한 위해성이 낮은 것으로 간주하여 더 이상의 평가는 생략하는 것이 통상적이므로 GLA의 경우는 그 위해성이 무시할 수 있는 수준으로 평가되어진다. 본 실험에서의 처리농도는 국내에서 비농경지 표준사용량에 비해 배양에 해당되는 약량으로(농약공업협회, 2005a) GLA를 작물재배기간 동안 잡초 생육기에 수회 반복 살포하여 주성분 전량이 고사 식물과 더불어 재배토양에 투입된다하더라도 본 실험결과로 미루어 볼 때 비표적 토양생물인 지령이의 생육에 대한 영향은 우려할 만한 수준이 아닌 것으로 판단되었다. 그리고 GLA의 지령이에 대한 영향시험을 수행하는 동안 생존한 지령이의 생체중을 조사한 결과는 표 4에

Table 3. Mortality of earthworm in the soil treated with GLA

Elapsed days after application	Mortality of earthworm (%)		
	Control	Treatment of GLA on soil surface	Soil-incorporated treatment of GLA
14	0	0	0
30	0	0	0

Table 4. Change of the bodyweight of earthworm at 30 days after treatment of GLA

Treatment	Bodyweight of earthworm		
	Before treatment (g)	Elapsed 30days (g)	Increasing rate (%)
Untreated control	8.591±0.211	9.076±0.555	5.645±3.900
Soil-surface treatment	7.354±0.317	8.046±0.367	9.410±5.761
Soil incorporation	7.481±0.335	8.349±0.785	11.603±7.652

Table 5. Soil microbial populations in the soil applied GLA

Micro-organism	Microbial population (cfu ^{a)} g ⁻¹ soil)						
	1 day ^{b)}	3 days	7 days	15 days	30 days	60 days	90 days
Control	4.3×10 ⁴	3.8×10 ⁴	2.6×10 ⁴	3.9×10 ⁴	4.0×10 ⁴	2.6×10 ⁴	3.7×10 ⁴
Fungi	6.8×10 ⁴	5.2×10 ⁴	9.8×10 ⁴	5.5×10 ⁴	5.8×10 ⁴	5.2×10 ⁴	6.2×10 ⁴
Control	3.4×10 ⁵	6.2×10 ⁵	8.5×10 ⁵	5.3×10 ⁵	4.5×10 ⁵	1.8×10 ⁵	3.7×10 ⁵
Bacteria	1.7×10 ⁶	1.7×10 ⁶	2.0×10 ⁶	1.9×10 ⁶	2.4×10 ⁶	8.9×10 ⁵	1.5×10 ⁶
Control	3.5×10 ⁴	2.9×10 ⁴	2.0×10 ⁴	3.1×10 ⁴	3.1×10 ⁴	2.8×10 ⁴	3.7×10 ⁴
Actinomycetes	5.3×10 ⁴	5.1×10 ⁴	1.0×10 ⁵	5.6×10 ⁴	5.6×10 ⁴	4.3×10 ⁴	5.7×10 ⁴

^{a)}Colony forming units.

^{b)}The elapsed day after application of GLA.

나타낸 바와 같이 무처리구에서의 증가율은 5.645%, 토양표면 처리구에서 9.410%, 토양혼화 처리구에서 11.603%로 나타났다. 따라서 GLA를 처리한 시험구에서 생존한 지렁이의 체중증가량이 무처리구에 비해 다소 높게 나타남으로써 오히려 생육이 촉진되는 결과를 보였으나 독성학적으로 악영향은 없는 것으로 판단되며 지렁이체내 생리적 혹은 동물학적인 영향에 대한 추가적 실험이 필요하다고 판단되었다.

토양미생물에 대한 영향

GLA의 토양미생물에 대한 영향을 알아보기 위하여 30일 간격으로 2회 약제처리 후 시기별로 채취한 토양 중 진균(fungi), 세균(bacteria) 및 방선균(actinomycetes) 수를 측정해본 결과는 표 5에 나타낸 바와 같이 무처리구에 비해서 진균, 세균 및 방선균의 균수는 큰 차이가 없었으며, 채취시기에 따른 균수의 변화도 큰 차이를 보이지 않았다. 결과적으로 토양에 처리된 GLA는 토양 미생물상에는 아무런 영향을 미치지 않았음을 알 수 있었다.

토양 잔류성

시험토양 중 GLA의 잔류분석 시 분석기기의 최소 검출량은 0.1 ng이었고 검출한계는 0.02 mg kg⁻¹이었으며 분석법의 회수율은 0.2 ppm에서 84.63%이었고 1.0 ppm에서 74.89%이었다. GLA의 대사산물인 3-MPP의 최소검출량과 검출한계는 GLA와 동일하였

으며, 회수율은 0.04 ppm에서 101.83%이었고 0.2 ppm에서는 95.1%이었다. 시기별로 채취된 토양시료 중 GLA의 총 잔류량은 표 6에서 보는 바와 같으며 각 시기별 총 잔류량으로 산출된 GLA의 토양 반감기는 15일이었다.

Bartsch와 Tebbe(1989)는 GLA의 토양 중 분해는 미생물에 의한 영향이 가장 크다고 보고하였으며 Galina와 Stephenson(1992)과 Behrendt 등(1990)도 사양토에서 GLA의 반감기가 1~10일 이내로 보고하였다. Smith(1989)는 식양토에서 GLA의 반감기가 15~20일이었다고 보고하여 GLA의 토양 중 분해는 토양 중 유기물과 점토함량에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있으나 반감기가 최장 20일 이내로 매우 신속하게 분해되는 것으로 판단되었다.

비표적 작물에 대한 영향

비선택성 제초제인 GLA의 작물 재배 중 밭고랑 처리에 따른 비표적 작물인 감자와 배추 잎에서의 생리생화학적 성분 분석결과는 표 7에 나타내었다.

손제초구에서 채취한 감자와 배추 잎을 분석한 결과를 기준으로 GLA를 처리한 시험구에서 채취한 잎 중 카로테노이드 색소의 함량은 각각 104.33%, 112.67%로 높게 나타났으며 클로로필색소 함량은 104%, 106%로 손제초구보다 높게 나타남으로써 작물이 재배 중인 밭포장의 고랑에 처리된 GLA는 주변 작물의 색소형성에 전혀 영향을 주지 않았다. 그리고

Table 6. Concentration and half-life of GLA in soil

Elapsed days after treatment	Concentration (mg kg ⁻¹)			Regression equation	Half-life, DT ₅₀ (day)
	GLA	3-MPP	Total ^{a)}		
0	1.21±0.12	0.05±0.01	1.28	R=0.9699e ^{-0.0481t} (r ² =0.9672)	15
1	0.66±0.06	0.21±0.01	0.93		
3	0.44±0.00	0.22±0.01	0.73		
6	0.27±0.01	0.23±0.01	0.57		
15	0.14±0.01	0.23±0.02	0.44		
31	0.10±0.00	0.14±0.08	0.28		
60	<0.02	0.04±0.01	0.05		

^{a)}Total residue of GLA = (Concentration of 3-MPPA × 1.3) +Concentration of GLA

$$1.3 = \frac{198.2(\text{Molecular weight of GLA})}{152.1(\text{Molecular weight of 3-MPP})}$$

Table 7. The amounts of physiological and biochemical components in the leaves of crops grown in test field with inter-furrow treatment of GLA

Crop	Content (% of control) ^{a)}				
	Carotenoid	Chlorophyll	Amino acid	Protein	Sugar
Potato	104.33±4.51	104.00±1.73	90.00±3.79	95.33±3.79	96.14±6.38
C. cabbage	112.67±10.21	106.00±13.00	99.00±7.21	99.67±11.72	106.28±4.65

^{a)}Relative content was calculated on the basis of 100% of its amounts in hand-weeded plots.

아미노산과 단백질, 당 함량 분석결과에서도 최소 90% 이상으로 손제초구 시료의 함량에 근접한 결과를 나타냄으로써 약제 살포시 비산 방지용 자재를 이용하여 밭고랑에 살포할 경우에 GLA는 주변 작물의 생육에 아무런 영향을 주지 않음을 알 수 있었다. 비록 약제의 특성상 작물에 직접 처리하지 않고 밭고랑에 살포하여 주변 작물에 대한 생화학적 영향을 분석하였으나 이 등(2001)의 조사보고에서 실제 농업현장에서 많은 량의 비선택성 제초제가 채소재배지의 밭고랑에 투입되고 있는 현실을 감안하면 비표적 작물에 대한 안전성과 더불어 농약성분의 토양 중 다양한 이동경로에 의한 간접적 영향을 연구하는 것이 매우 의미있는 일이라 판단된다.

이상의 결과에서 비선택적으로 잡초를 방제하기 위해 사용되는 GLA는 실제 살포량의 많은 부분이 토양에 투입되어 강우 등에 의해 표면이동하거나 토양에 흡착되어 미생물에 의해 분해되거나 용탈 혹은 대류 이동 등에 의해 이동될 가능성을 배제할 수 없다. 그러나 Marvin 등(1997)은 토양 중 GLA의 최고 용탈가능 깊이는 10 cm 이내라고 보고하였으며 Gallina와 Stephenson(1992)은 GLA의 높은 수용해도(1,370 g L⁻¹, BCPC, 2003)로 인해 토양 중 용탈이 일어날 가능성이 있으나 토양에 노출될 경우 토양성분에 흡착된 후 매

우 신속하게 분해되기 때문에 우려할 수준이 아니라고 보고하였다. 본 시험결과에서도 표준 살포량의 배량을 살포한 토양에서 토양생물의 생육에 전혀 영향을 주지 않은 것은 토양에 노출된 GLA가 매우 신속히 분해 소실되기 때문인 것으로 판단되며, GLA가 토양 중에서 주로 토양 미생물에 의해 분해된다는 Bartsch와 Tebbe(1989)의 보고에 근거하면 본 실험의 결과도 토양 미생물이 GLA를 신속히 분해하였기 때문인 것으로 추측되었다. 또한 GLA는 토양 중 분해과정에서 인산화된 다음 이산화탄소로 무기화되는 것으로 알려져 있다(Bayer Crop Science, 1999). 미생물 대사는 외래 화합물에 대한 미생물 자신의 생존전략으로서 환경적응력을 반영하고, 화합물 분해에 대한 효소적 수용능력에 의해 좌우된다고 한 Matsumura 등(1982b)의 미생물 분해경로에 대한 분류에서 GLA는 유효성분이 토양 미생물의 영양원으로 이용되는 catabolism적 분해과정을 거치는 것으로 추측되었다. 그리고 GLA를 밭고랑에 안전하게 처리할 경우 주변 작물의 생육에 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 나타남으로써 이 등(2001)의 보고에서 현재 국내에 등록되어 사용 중인 비선택성 제초제가 밭작물 재배지에는 사용이 제한되어있으나 실제로 많은 양이 노동력 절감 등의 절박한 농작업상의 이유로 밭작물 재배지로

투입되고 있는 현실을 감안하면 국내에 등록되어 사용 중인 비선택성 제초제의 비표적 농작물에 대한 안전성과 위해성평가에 관한 과학적이고 지속적인 그리고 체계적인 연구가 절실한 것으로 판단되었다.

인용문헌

- Bartsch, K. and C. C. Tebbe (1989) Initial steps in the degradation of phosphinothricin (glufosinate) by soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:711~716.
- Bayer Crop Science (1999) Documents of technical information; Non-selective herbicide, glufosinate-ammonium.
- British Crop Protection Council (2003) The pesticide manual, 13th ed.
- Behrendt, H., M. Matthies, H. Gildemeister and G. Grolitz (1990) Leaching and transformation of glufosinate-ammonium and its main metabolite in a layered soil column. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:541~549.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248~256.
- Gallina, M. A. and G. R. Stephenson (1992) Dissipation of [¹⁴C]glufosinate-ammonium on two Ontario soils, *J. Agric. Food Chem.* 40:165~168.
- Marvin J. F., R. S. Gerald and G. T. Thompson (1997) Persistence and leachability of glufosinate-ammonium in a northern Ontario terrestrial environment. *J. Agric. Food Chem.* 45:3672~3676.
- Matsumura, F. and C. R. K. Murti (1982) Factors influencing persistence of pesticides. *In Biodegradation of pesticides.* Plenum Press, New York, USA, p.103.
- Moore, S. (1968) Amino acid analysis; aqueous dimethyl sulfoxide as solvent for the ninhydrin reaction. *J. Biol. Chem.* 243:6218~6283
- OECD (1984) Guideline for testing of chemicals No. 207. Earthworm, acute toxicity tests. Organization for Economic Cooperation and Development. Paris.
- Research Association of Soil Microbiology (1992) Laboratory methods of soil microorganism. pp.379~399
- Sheppard, S., J. Bembridge, M. Holmstrup and L. Posthuma (1997) Advances in earthworm ecotoxicology. VIII, SETAC.
- Smith, A. E. (1989) Transformation of the herbicide [¹⁴C]glufosinate-ammonium in soils, *J. Agric. Food Chem.* 37:267~271.
- Spiro, R. G. (1966) Analysis of sugars found in glycoproteins, *Methods Enzymol.* 8:3~26.
- White, R. C., I. D. Jones, G. Eleanor (1997) Determination of chlorophylls, pheophytins and pheophorbides in plant material, *J. Food Sci.* 28:431~439.
- Yun, S. Y. and D. D. Joung (2001) Effects of TLB microbial fertilizer application on soil chemical properties, microbial flora and growth of Chinese cabbage (*Brassica campestris* subsp. *napus* var. *pekinensis* MAKINO). *Korean J. Soil Fert.* 34(1):8~16.
- 김중배 (1997) 두충잎의 성장 시기에 따른 주요성분의 변화 및 생리활성 작용에 관한 연구. 영남대학교 박사학위 논문.
- 농약공업협회 (2005a) 농약사용지침서.
- 농약공업협회 (2005b) 농약연보.
- 농촌진흥청 (1992) 농약잔류성시험법. 농약연구총설-3. pp.251~254.
- 농촌진흥청 (2001) 농약관리법령고시에규집. pp.237~239.
- 박경훈, 박연기, 주진복, 경기성, 신진섭, 김찬섭, 박병준, 엄재열 (2003) 농약의 지렁이에 대한 위해성 평가. *농약과학회지* 7(4):280~287.
- 이인용, 박재읍, 박태선, 임순택, 문병철 (2001) 논, 밭 및 과원 제초제의 농가사용 실태. *한국잡초학회지* 21(1):58~64.
- 한국환경농학회 (2001) 농업환경. pp.190~196.

Effects of Glufosinate-Ammonium to Earthworms, Soil Microorganisms and Crops.

Yong Seog Kim¹, Yong Bae Jeon¹, Hae Jin Choi², Songmun Kim² and Sung Min Kim^{3*} (¹*Safety Assessment Center, Korea Testing and Research Institute for Chemical Industry, Gimpo-Si, Gyonggi-Do, Korea*, ²*Division of Biological Environment, College of Agriculture and Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do, Korea*, ^{3*}*Research Center, Bayer Crop Science Korea, Pyeongtaek-Si, Gyonggi-Do, Korea*)

Abstract : In order to investigate the impacts of non-selective herbicide, glufosinate-ammonium (ammonium 4-[hydroxy(methyl)phosphinoyl]-DL-homoalaninate, GLA) to the non-target organisms, earthworm was exposed to GLA in the field soil for a month, and microbial populations in the soil were investigated after application of GLA. Simultaneously, the residues of GLA and its metabolite, 3-MPP were analyzed in the same soil. Meanwhile, to elucidate the influence of GLA to the growth of non-target crops incase of inter-furrow application, the amounts of carotenoid, chlorophyll, amino acid, proteins and sugars in the leaves of potato and chinese cabbage grown in the same field were investigated. In result, the dead earthworm was not observed during the test period, and the increasing rates of bodyweight were 9.410~11.603% in GLA-treated plots and 5.645% in GLA-untreated plots. The populations of fungi, bacteria and actinomycetes in the GLA-treated soils were 6.2×10^4 , 1.5×10^6 and 5.7×10^4 , respectively. They maintained relatively similar levels to the control which were 3.7×10^4 , 3.7×10^5 and 3.7×10^4 , respectively. In residue analysis, the limit of detection of GLA was 0.02 mg kg^{-1} , that of 3-MPP was the same level, and the half-life of GLA was 15 days in sandy clay loam soil. This result indicates that GLA was degraded very quickly in field soil. On the other hand, the amounts of physiological, biochemical components such as carotenoid, amino acid, chlorophyll, protein and sugar were ranged from 90.0 to 104.3% in potato and from 99.0 to 112.7% in chinese cabbage. Comparing with hand-weeded plots, it is indicated that GLA had not affected to the growth of non-target crops when applied at inter-furrow in crops-growing field.

Key words : glufosinate-ammonium, earthworm, soil microorganism, herbicidal activity

*Corresponding author (Tel : +82-31-610-7762, E-mail : sungmin.kim@bayercropscience.com)