한국토양비료학회지 제 39권 5호
Korean J. Soil Sci. Fert. Vol. 39, No. 5, 280-284 (2006)

연구보문

살균제가 줄지렁이 치사에 미치는 영향

나영은* · 방혜선 · 한민수 · 안용준[1] · 윤성탁[2]

농촌진흥청 농업과학기술원, [1]서울대학교 농생명공학부, [2]단국대학교 환경조경과

Effects of Some Fungicides on Mortality of Earthworm, *Eisenia fetida*

Young-Eun Na*, Hae-Son Bang, Min-Su Han, Young-Joon Ahn[1] and Seong-Tak Yoon[2]

National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea
[1]School of Agricultural Biotechnology Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
[2]Department of Environment and Landscape Architecture, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

The toxic effects of 14 commercially available fungicides on the earthworm, *Eisenia fetida* (Savigny), were evaluated using surface sprayed soil, immersion and contact filter tests. At recommended dose, the earthworm mortality is 4% on mancozeb, carbendazim, propineb and captan in the surface sprayed soil test, 4% on mancozeb, 6% on propineb and 10% on captan in the immersion test, and no effect on all used chemicals in contact filter test.

Key Words: Earthworm, *Eisenia fetida*, Fungicide, Toxicity

서 언

농경지에 도달하여 지렁이에게 해를 줄 수 있는 독성물질들로는 농약, 중금속, 산성비, 각종 유기화합물 등을 들 수 있다. 이들 독성물질들이 지렁이에게 미치는 위해성은 물질 자체의 특성, 토양특성, 기상조건, 지렁이의 종, 종의 생태 등 다양한 요인들에 따라 다르다고 알려져 있다(Edwards and Bohlen, 1992). 특히 작물의 병을 방제하기 위하여 사용된 살균제는 생태계내에서 이동하면서 어디에 어떠한 형태로 얼마나 많은 양이 존재하는가하는 것은 농약 자체의 이화학적 특성, 농약의 형태(제형), 사용방법과 농약이 이동하는 장소의 기상조건과 토양특성 등에 따라서 다르므로 지렁이에게 미치는 독성도 다르다고 van Gestel(1992)은 보고하였다 .

오늘날 사용되고 있는 살균제는 근래 30여 년 사이에 개발되어 농업생산성의 향상에 눈부신 이바지를 해 왔고 대부분 지렁이 치사에 대해 실제적 무독성(relatively nontoxic)을 나타낸다고 보고되어있다(Leemput *et al.*, 1989; Anton *et al.*, 1990). 그러나 일부 연구자들은 벤지미다졸 살균제인 benomyl 등이 지렁이에 대한 독성을 가지고 있다고 기술된 바 있다(Stringer and Wright, 1973; Stringer and Lyons, 1974, 1977; Black and Neely, 1975; Heimbach and Edwards, 1983).

따라서 이 연구는 농경지에 사용되었거나, 사용 중인 14종의 살균제를 대상으로 이들 농약이 실제 농경지에 뿌려지는 사용량을 기준으로 토양표토 처리법, 침지법, 여지 접촉법으로 줄지렁이에 대한 영향을 비교 평가하였다.

접 수 : 2006. 8. 17 수 리 : 2006. 9. 30
*연락저자 : Phone: +82302900236,
E-mail: yena0315@rda.go.kr

재료 및 방법

실험생물과 실험에 사용된 살균제 종류 실험에 사용된 지렁이 종류는 줄지렁이(*Eisenia fetida*)이며 비닐하우스에서 우분을 먹이로 사육되었으며 비닐하우스의 크기와 환경조건은 Na *et al.* (2000)이 개발한 방법으로 설치되었으며 20～28℃가 유지되도록 하였다. 사육되는 지렁이 중에서 환대가 형성되어 있고 체중이 300～600 mg인 지렁이를 선별하여 토양배지에 이동시켜 2주 동안 항온실(20±2℃)에서 적응시킨 다음 독성실험에 사용하였다. 실험에 사용된 살균제는 14종이며, 이들 농약들의 품목명, 일반명 및 계통은 Table 1에 제시하였다.

지렁이에 대한 독성 실험 토양표토처리법(surface sprayed soil test) 1 *l* 유리비이커에 국내 토양배지 750 g을 채우고, 줄지렁이 10마리를 이곳에 방사하여 7일 동안 서식케 한 후 표면에 농약을 살포하였다. 배

Table 1. List of fungicides to be tested.

Item name	Common name	Chemical name	Recommended dose	Class
Mancozi 75% WP	Mancozeb	A coordination product of zinc ion and manganese ethylene bis dithiocarbamate	33 g/20 ℓ	Organosulfur
Thalonil 75% WP	Chlorothalonil	Tetrachloro isophthalo nitrile	25 ㎖/20 ℓ	Organochlorine
Carbenda 60% WP	Carbendazim	Methyl benzimidazole-2-yl-carbamate	20 ㎖/20 ℓ	Benzimidazole
Propi 70% WP	Propineb	Polymeric zinc propylene *bis*(dithiocarbamate)	33 ㎖/20 ℓ	Organosulfur
Captan 50% WP	Captan	1, 2, 3, 6-Tetrahydro-N-(trichloromethylthio) phthalimide	40 g/20 ℓ	Others
Saprol 17% EC	Triforine	1, 4-bis(2, 2, 2-trichloro-1-formamido ethy)-piperazine	20 ㎖/20 ℓ	Organochlorine
Pyrazo 30% EC	Pyrazophos	*O*-6-ethoxycarbonyl-5 methyl pyrazolo[1-5-a] pyrimidin-2-yl-*O*, *O*-diethyl phosphorothioate	33 g/20 ℓ	Organophosphate
Thiopan 70% WP	Thiophanate-methyl	Dimethyl-4, 4′ -(*O*-phenylene)bis(3-thioallophanate)	13 g/20 ℓ	Benzimidazole
Fenari 12.5% EC	Fenarimol	(±)2, 4′ -Dichloro- -(pyrimidin-5-yl)benzhydryl alcohol	5 ㎖/20 ℓ	Pyrimidine
Benomyl 50% WP	Benomyl	Methyl-1-(butyl carbamoyl)-benzimidazol-2-yl carbamate	10 g/20 ℓ	Benzimidazole
Nongyongcin 20% WP	Streptomycin	2,4-diguanidino-3,5,6-trihydroxy cyclohexyl-5-deoxy-2-*O*-(2-deoxy-2-methylamino-*α*-L-glucopyranosyl)-3-c-formyl-*β*-L-lyxopentenofuranoside	20 g/20 ℓ	Antibiotics
Polyoxin 10% WP	Polyoxin B	5-(2-Amino-5-*O*-carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido) 1, 5-dideoxy-1-(1, 2, 3, 4-tetrahydro-5-hydroxymethyl-2,4-dioxopyrimidin-1-yl)-*β*-D-allofuranuronic acid	20 g/20 ℓ	Antibiotics
Tolos 10% WP	Tolclofos-methyl	*O*-2, 6-dichloro-p- tolyl *O*, *O*-dimethyl phosphorothioate	20 g/20 ℓ	Organophosphate
Thalodong 40% +20%WP	Chlorothalonil +Oxine-copper	Tetrachloro isopthalonitrile *Bis*(8-quinolinolato)copper	40 g/20 ℓ	Organochlorine + Organocopper

WP, wettable powder and EC, emulsifiable concentrate

지로 사용한 밭토양은 작물을 재배하는 밭토양(모래 63%, 미사 18%, 점토 9%)에서 토양을 채취하여 2 mm 체로 선별한 후 밭토양 90%에 피트모스 10%를 혼합하여 섞고, 증류수를 부어 토양수분 함량이 50%가 되게 만들었으며, pH는 탄산칼슘($CaCO_3$)을 첨가하여 6.0±0.5 범위가 되도록 조절하여 밭토양 배지를 만들었다. 피트모스는 지렁이가 먹이로 이용하도록 하기위하여 토양에 혼합하였다. 실험구는 각 농도당 5반복으로 하였으며 20℃에서 14일간 유지시켰다. 14일 동안 광 조건은 낮과 밤(12:12 시간)을 구분하여 낮은 600±200 lux을 유지시켜 주었고, 밤은 어둡게 해주었다. 이 후 줄지렁이를 손으로 토양에서 분리시키고 치사율을 조사하였다. 각 처리구에 대한 유의성은 Scheffe's test로 검정하였다.

침지법(immersion test) 농약 농도별(추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량)로 줄지렁이 10 마리를 30초 동안 침지했다가 농약이 처리되지 않은 깨끗한 인공조제토양에 옮겼다. 인공조제토양배지는 고운모래(fine silica sand) 70%, 카오리나이트 점토(kaolinite clay) 20%, 피트모스(peat moss) 10%를 혼합하여 섞고, 증류수를 부어 토양수분 함량이 50%로 하여 pH가 6.0±0.5 범위가 되도록 하였다. 실험구는 각 농도당 5반복으로 하였으며, 20℃에서 7일간 유지시켰다. 7일 동안 광조건은 낮과 밤(12:12 시간)을 구분하여 낮은 600±200 lux을 유지시켜 주었고, 밤은 어둡게 해주었다. 이 후 줄지렁이를 손으로 토양에서 분리시키고 처리 7일 후에 치사율을 조사하였다. 각 처리구에 대한 유의성은 Scheffe's test로 검정하였다.

여지 접촉법(contact filter paper test) 페트리디쉬(*ψ* 8.5 cm)에 여지(Whatman No. 6 *ψ* 110 mm)을 깔고 피펫으로 물에 용해한 각 농약 희석액 1 ㎖를 주입한 후 1마리의 줄지렁이를 넣고, 탈출을 방지하기 위하여 뚜껑을 덮었다. 각 농도(추천사용량과 추천사용량의 0.5배, 2배, 4배량)별로 대해 10반복으로 처리하였고 광이 없는 20℃ 항온실에 옮기고 24시간 후에 치사율을 조사하였다. 줄지렁이의 치사유무는 바늘로 머리부분을 자극하여 움직이면 살아있는 것으로 판단하였고, 3번 이상 자극하여도 움직이지 않으면 죽은 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

토양표토처리법에 의한 지렁이 치사율 토양표토처리법에 따라 14종의 살균제에 대한 줄지렁이의 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량을 처리하여 줄지렁이 치사율을 조사하였다(Table 2). 추천사용량에서 mancozi WP, carbenda WP, propi WP, captan WP는 4%의 치사율로 무처리와 통계적인 유의성이 없었다. 추천량의 4배 처리에서는 carbenda WP가 14%, captan WP가 6%, fenari EC가 6%, propi WP가 4%, saprol EC가 4%의 치사율을 나타내어 통계적인 유의성이 있었다.

침지법에 의한 지렁이 치사율 침지법에 따라 14종의 살균제에 대한 줄지렁이의 치사율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 추천사용량과 추천사용량의 0.5, 2, 4배량을 처리하여 줄지렁이 치사율을 조사하였다(Table 3). 추천량의 0.5배 처리량에서 thalonil WP는 6%, captan WP는 4%로 무처리와 통계적인 유의성이 없었다. 추천량에서는 mancozi WP는 4%, propi WP는 6%, captan WP는 10%의 치사율을 나타냈으나 무처리와 통계적으로 유의차가 없었다. 또한 2배와 4배량에서도 무처리와 통계적으로 유의차가 없었다.

Table 2. Toxicity of fungicides to *E. fetida* using the surface sprayed soil test.

Fungicides	Mortality (mean±SE, %)†			
	0.5-fold Appl.	Recommended dose Appl.	2-fold Appl.	4-fold Appl.
Mancozi 75% WP	0 a	4±2 a	4±2 a	0 b
Thalonil 75% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Carbenda 60% WP	0 a	4±2 a	0 a	14±5 a
Propi 70% WP	0 a	4±2 a	0 a	4±2 ab
Captan 50% WP	0 a	4±2 a	4±2 a	6±2 ab
Saprol 17% EC	0 a	0 a	0 a	4±2 ab
Pyrazo 30% EC	0 a	0 a	0 a	0 b
Thiopan 70% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Fenari 12.5% EC	0 a	0 a	4±2 a	6±2 ab
Benomyl 50% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Nongyongcin 20% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Polyoxin 10% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Tolos 10% WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Thalodong 40%+20%WP	0 a	0 a	0 a	0 b
Control	0 a	0 a	0 a	0 b

† Mean followed by the same letter in column is not significantly different (P = 0.05; Scheffe's test [SAS Institute 1986]).

Table 3. Toxicity of fungicides to *E. fetida* using the immersion test.

Fungicides	Mortality (mean±SE, %)†			
	0.5-fold Appl.	Recommended dose Appl.	2-fold Appl.	4-fold Appl.
Mancozi 75% WP	0 a	4±2 a	0 a	8±4 a
Thalonil 75% WP	6±2 a	0 a	0 a	0 a
Carbenda 60% WP	0 a	0 a	6±2 a	0 a
Propi 70% WP	0 a	6±2 a	0 a	6±2 a
Captan 50% WP	4±2 a	10±3 a	6±2 a	6±2 a
Saprol 17% EC	0 a	0 a	4±2 a	0 a
Pyrazo 30% EC	0 a	0 a	0 a	0 a
Thiopan 70% WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Fenari 12.5% EC	0 a	0 a	0 a	0 a
Benomyl 50% WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Nongyongcin 20% WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Polyoxin 10% WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Tolos 10% WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Thalodong 40%+20%WP	0 a	0 a	0 a	0 a
Control	0 a	0 a	0 a	0 a

† Mean followed by the same letter in column is not significantly different (*P* = 0.05; Scheffe's test [SAS Institute 1986]).

여지접촉법에 의한 지렁이 치사율 여지접촉법에 의한 평가는 추천량의 2배량에서는 saprol EC는 80%, pyrazo EC는 30%의 치사율을 보였다. 추천량의 4배량에서는 saprol EC는 80%, pyrazo EC는 40%, fenari EC는 40%, mancozi WP는 10%의 치사율을 보였다 (Table 4).

농약의 독성 평가방법들은 평가방법마다 장점과 단점을 가지고 있어 한가지 방법만 사용하게 되면 오류를 범할 가능성이 높다. 뿌려진 농약이 토양에 도달하면 3가지 형태로 지렁이에게 영향을 줄 수 있다. 첫째는 평평한 토양표면에 떨어진 농약에 대하여 토양 속에 있는 지렁이는 직접적인 접촉에 의한 영향은 받지 않고 간접적으로 영향을 받는다. 둘째는 움푹 들어간 곳에 떨어진 농약은 고이게 되며 이곳에 있는 지렁이는 농약에 일시적으로 침지된 형태로 영향을 받는다. 셋째는 토양표면 위에 기어다는 지렁이는 농약에 계속해서 접촉되어 영향을 받는다. 이런 특성을 고려하여 토양표토처리법, 침지법, 여지접촉법으로 실험을 수행하였다. 그 결과 추천사용량에서 14종의 농약이 무처리와 통계적으로 유의성이 없는 것으로 나타나, 이런 농약들은 줄지렁이 치사에 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다.

그러나 Stringer and Wright (1973)는 benomyl, Thiophanate-methyl, carbendazim 농약은 지렁이 치사에 독성이 있다고 보고하였다. 그 이후 많은 연구자들이 benomyl이 지렁이에게 맹독성(extremely toxic)을 나타낸다고 발표하였다(Stringer and Lyons, 1974, 1977; Black and Neely, 1975; Edwards and Brown, 1982; Lofs-Holmin, 1982). 이 농약은 식물체내에서 메칠-2-벤즈이미다졸카바메이트(methyl-2-benzimidazol, MBC)로 활성화되어 병원균을 저해하지만, 토양에 떨어지면 MBC 및 2-아미노벤즈이미다졸(2-aminobenzimidazole)로 분해되어 이동성은 없는 것으로 알려져 있다. Thiophanate-methyl은 베노밀과 마찬가지로 MBC를 거쳐 분해, 대사되나 C=S 결합이 산화되어 C=O 결합으로 대사되는 특성 때문에 지렁이에게 고독성(very toxic)을 나타낸다고 기술하였다(Stringer and Lyons, 1974; Cook and Swait, 1975; King and Dale, 1977; Roark and Dale, 1979; Roberts and Dorough, 1984). 또한 carbendazim도 상대적으로 고독성(very toxic) 나타낸다고 보고하였다 (Cook and Swait, 1975; Keogh and Whitehead, 1975). 따라서 benomyl, Thiophanate-methyl, Carbendazim가 줄지렁이 치사에 미치는 독성은 다른 독성평가 방법을 이용하여 추가적인 검토가 필요하다고 생각된다.

적 요

농경지에 과거에 사용했거나 사용중인 살균제 14종에 대하여 농경지에 뿌려지는 추천사용량을 기준으로 토양표토처리법, 침지법, 여지접촉법으로 실험을 수행하였다. 그 결과 추천사용량에서 14종의 농약이 무처리와 통계적으로 유의성이 없는 것으로 나타나, 이런 농약들은 줄지렁이 치사에 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다. 그러나 benomyl, Thiophanate-methyl, carbendazim 농약은 지렁이에게 독성이 높은 것으로 보고되어 있어 추가적인 검토가 필요하다고 생각된다.

인 용 문 헌

Anton, F., E. Laborda, and P. Laborda. 1990. Acute toxicity of the fungicide captan to the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny). Bull.

Table 4. Toxicity of fungicides to *E. fetida* using the direct contact-filter paper application

Fungicides	Mortality (%)			
	0.5-fold Appl.	Recommended dose Appl.	2-fold Appl.	4-fold Appl.
Mancozi 75% WP	0	0	0	10
Thalonil 75% WP	0	0	0	0
Carbenda 60% WP	0	0	0	0
Propi 70% WP	0	0	0	0
Captan 50% WP	0	0	0	0
Saprol 17% EC	0	0	80	80
Pyrazo 30% EC	0	0	30	40
Thiopan 70% WP	0	0	0	0
Fenari 12.5% EC	0	0	0	40
Benomyl 50% WP	0	0	0	0
Nongyongcin 20% WP	0	0	0	0
Polyoxin 10% WP	0	0	0	0
Tolos 10% WP	0	0	0	0
Thalodong 40%+20%WP	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

Environ. Contam. Toxicol. 45:82-87.

Black, W.M., and D. Neely. 1975. Effect of soil-injected benomyl on resident earthworm populations. Pestic. Sci. 6:543-545.

Cook, M.E., and A.A.J. Swait. 1975. Effects of some fungicide treatments on earthworm populations and leaf removal in apple orchards. J. Hortic. Sci. 50:495-499.

Edwards, P.J., and P.J. Bohlen. 1992. The effects of toxic chemical on earthworms. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 125:23-99.

Edwards, P.J., and S.M. Brown. 1982. Use grassland plots to study the effect of pesticides on earthworms. Pedobiologia 24:145-50.

Keogh, R.G., and P.H. Whitehead. 1975. Observations on some effects of pasture spraying with benomyl and carbendazim on earthworm activity and litter removal from pasture. N. Z. J. Exp. Agric. 3:103-104.

King, J.W., and J.L. Dale. 1977. Reduction of earthworm activity by fungicides applied to putting green turf. Ark. Farm. Res. 26:12.

Leemput, L., E. van Swysen, and R. Woestenborghs. 1989. On the terrestrial toxicity of the fungicide imazalil to the earthworm species *Eisenia fetida*. Ecotoxicol. Environ. Safety 18:313-320.

Lofs-Holmin, A. 1982. Measuring cocoon production of the earthworm *Allolobophora caliginosa* (Sav.) as a method of testing sublethal toxicity of pesticides; an experiment with benomyl. Swed. J. Agric. Res. 12:117-119.

Na, Y.E., M.S. Han, S.B. Lee, S.G. Kim, and H.M. Park. 2000. Establishment of disposing method for dairy cow manure by vermiculture. Korean J. soil zoology 5:125-131.

Roark, J.H., and J.L. Dale. 1979. The effect of turf fungicides on earthworms. Ark. Acad. Sci. Proc. 33:71-74.

Roberts, B.L. and H.W. Dorough. 1984. Relative toxicties of chemicals to the earthworm *Eisenia fetida*. Environ. Toxicol. Biochem. 3:67-78.

Stringer, A., and C.H. Lyons. 1974. The effect of benomyl and thiophanate-methyl on earthworm populations in apple orchards. Pestic. Sci. 5:189-196.

Stringer, A., and C.H. Lyons. 1977. The effect on earthworm populations of methods of spraying benomyl in an apple orchard. Pestic. Sci. 8:647-650.

Stringer, A., and M.A. Wright. 1973. The effect of benomyl and some related compounds on Lumbricus and other earthworms. Pestic. Sci. 4:165-170.

Van Gestel, C.A.M., 1992. The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: a review In: Ecotoxicology of Earthworms(H. Becker *et al*., eds) pp.44-54, Intercept, Hants, UK.