

생분해성 멀칭필름 사용 이력이 토양 항온실험에서 생분해성 멀칭필름의 분해 속도에 미치는 영향

정준휘, 연제형, 최한석, 전유나, 안시현, 김다연, 고영준, 원항연, 안재형*

Effect of the Period of Exposure to Biodegradable Mulch Films on the Degradation Rate of Biodegradable Films in Soil Microcosms

Joon-hui Chung , Jehyung Yeon , Hanseok Choi , Yuna Jeon , Sihyun An , Da-Yeon Kim , Young-Joon Ko , Hang-Yeon Won  and Jae-Hyung Ahn 

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과

Agricultural Microbiology Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

* Correspondence: hyungz@korea.kr

<https://doi.org/10.5338/KJEA.2024.43.33>

Korean J. Environ. Agric. 2024, 43, 348-357

Received: December 2, 2024

Revised: December 9, 2024

Accepted: December 11, 2024

Published: December 18, 2024

Online ISSN: 2233-4173

Print ISSN: 1225-3537



Check for updates

© The Korean Society of Environmental Agriculture 2024



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Biodegradable mulch films (BDMs) are recognized as eco-friendly materials for sustainable agriculture. However, the degradation rate of the BDMs is known to be affected by various soil physicochemical and biological factors. In this study one LDPE mulch film and two Poly butylene adipate-co-terephthalate (PBAT)-based BDMs were buried in three agricultural soils (GS, JJ, and YW) with different period of exposure to BDMs and incubated at 28°C for 8 weeks. The two BDMs were degraded only in the soil YW, one with the longest period of exposure to BDMs, up to 80% and 31% of the initial areas of the films, respectively, for 8 weeks. The difference in soil physicochemical properties showed little correlation with the difference in the degradation rate among the soils. The analysis of the microbial communities during the degradation of one of the films showed that the structures of the bacterial and fungal communities on the biodegradable mulch film were dramatically different from those in the bulk soil and on the LDPE film. It also showed that the fungal genera *Paraphoma*, *Purpureocillium*, and *Setophoma* were significantly enriched on the biodegradable films. Strains of the genera of *Purpureocillium*, *Plectosphaerella*, and *Rhizobacter* forming a clear zone in the solid media with PBAT were isolated from the soil YW. This study suggested that longer exposure to BDMs can facilitate more rapid degradation of the BDMs in the soils due to the enrichment of the microorganisms degrading the main components of the films.

Keywords: Biodegradable mulch film, Microbial community, PBAT, Plastisphere, *Purpureocillium*

서 언

멀칭필름은 지온 및 토양 수분 유지, 잡초 예방 등의 목적으로 농업 현장에서

널리 사용되고 있다[1]. 특별히 폴리에틸렌(polyethylene, PE)이 주성분인 멀칭필름은 재배 기간 동안 보장되는 내구성으로 인하여 멀칭필름 소재로 가장 많이 사용되었다. 그러나 그 난분해성으로 토양 내에서 미세플라스틱을 발생시키거나 첨가제의 용출로 토양 생태계에 부정적인 영향을 주는 것으로 알려져 있다[2,3]. 국내 농업용 폐비닐 발생량은 2022년 기준 314,507톤으로 보고되었고, 이 중 멀칭용 LDPE 필름이 50%를 차지하고 있다. 발생한 폐비닐의 65%가 수거되었지만 수거되지 않은 영농 폐비닐은 농업환경에서 방치되거나 불법 소각되는 경우도 있다(KECO, 2022 Agricultural Waste Survey).

생분해성 멀칭필름(Biodegradable Mulch Films (BDMs))은 기존 난분해성 플라스틱 기반 멀칭필름의 단점을 극복하고자, 생분해가 용이한 소재로 만들어진 멀칭필름이다[4,5]. 생분해성 멀칭필름에 사용되는 생분해성 플라스틱으로는 PBAT (Polybutylene adipate-co-terephthalate), PLA (Poly Lactic acid), TPS (Thermoplastic starch), PHA (Polyhydroxy alkanates), PBS (Polybutylene succinate) 등이 있으며 사용 목적이나 물성에 따라 서로 다른 생분해성 수지를 조합하여 제작한다[4]. 생분해성 멀칭필름은 친환경적인 효과에도 불구하고, 실제 환경에서는 주변 물리화학적 및 생물학적 조건에 따라 분해 속도에 큰 차이가 있고 그로 인해 작물 및 토양 생태계에 악영향을 미칠 수 있다. 이전 연구 결과에서는 멀칭필름이 토양에 혼입 시, 토양 물성의 변화나 토양 미생물 군집변화에 대해 추적하였다[6]. 생분해성 멀칭필름의 토양 매립 시, 토양 밀도와 질소 순환에 영향을 주는 것으로 알려져 있다[7,8]. 또한 토양 내 미생물 생체량을 증가시키고, 효소 활성에도 영향을 주며, 미생물의 군집구조에도 변화가 발생하였음을 확인하였다[9,10].

생분해성 멀칭필름의 유럽 인증 기준인 EN 17033 (European Committee for Standardization, 2018)은 토양에서 2년 내 90% 이상 생분해를 제시하고 있지만, 실제 생분해 속도는 다양한 물리화학적·생물학적 인자에 의해 결정되는 것으로 알려져 있다. 따라서 작물 재배기간 중 내구성 유지와 토양 경운 후 적절한 생분해 속도 달성은 생분해성 멀칭필름의 상용화에 있어 매우 중요한 요소이다. 최근 국내 생분해성 멀칭필름을 사용한 일부 농가에서 필름 설치 후 길게는 1개월, 짧게는 수 주 이내 필름이 조기 붕괴되는 현상이 보고되었다. 필름의 조기 붕괴는 필름의 멀칭 기능을 약화시키고 필름 조각에 의한 작물 성장 저해 등 농업에 악영향을 주기 때문에 원인 구명 및 대책 마련이 시급하다.

본 연구에서는 멀칭필름 조기 붕괴 원인 구명을 위해 조기 붕괴가 발생한 생분해성 멀칭필름 장기 사용 농가와 생분해성 멀칭필름 사용 이력이 짧은 토양에 다양한 멀칭필름을 매립 후 필름의 분해 속도를 평가하고 분해 속도의 차이를 일으키는 인자를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

토양 시료 채취

토양의 물리·화학적 분석하기 위해, 생분해성 멀칭필름 연용 토양 중 세 곳의 토양을 채취하였다. 토양 시료 채취는 다음과 같다. PBAT-기반 생분해성 멀칭필름 설치로부터 3개월이 경과된 전라남도 곡성군(GS; N35.296211, E127.19333), 전라북도 전주시(JJ; N35.830045, E127.045922), 강원도 영월군(YW; N37.229860, E128.290879) 농경지 토양에서 0~5 cm 깊이의 토양을 제거한 후, 작토층(0-20 cm)에서 토양 시료를 채취하였다. 곡성과 전주 농경지는 생분해성 멀칭필름 시험용 포장으로서 2년간 작물 재배 없이 생분해성 멀칭필름을 설치·수거했던 포장이었으며 영월 농경지는 옥수수 재배농가로서 5년 이상 생분해성 멀칭필름을 사용하고 매몰하면서 생분해성 멀칭필름에 지속적으로 노출된 토양이었다. 특히 영월 토양은 2023년도부터 지속적으로 생분해성 멀칭필름의 조기 붕괴가 보고되고 있다.

토양 물리·화학적 분석

토양의 물리·화학적 측정하기 위해서 토양 pH는 토양 현탁액(1:5)을 조제하여 초자전극법으로 측정하였고, 수분 함량은 토양의 건조 전후의 중량을 측정하여 산출하였다. 전기 전도도(EC), 유기물 총량(Tyurin법), 유효 인산(Lancaster법), 전질소(Kjeldahl법), 치환성 양이온 분석(1M NH₄OAc법)은 농촌진흥청에 고시된 토양화학분석법에 의거하여 한국농업기술진흥원에 의뢰하여 분석하였다.

토양 마이크로코즘을 이용한 생분해성 멀칭필름의 면적 변화 분석

생분해성 멀칭필름의 토양 매몰 조건에서의 영향을 확인하기 위하여 다음과 같이 실험을 수행하였다. 슬라이드 프레임(외부 $5 \times 5 \text{ cm}^2$, 내부 $2.4 \times 3.6 \text{ cm}^2$, Matin ProSlide)에 3종의 상용 멀칭필름, 즉 저밀도폴리에틸렌 필름(LDPE), PBAT+PLA 기반 생분해성 멀칭필름(BDM-A), PBAT+TPS 기반 생분해성 멀칭필름(BDM-B) 각 1종을 $5 \times 5 \text{ cm}^2$ 로 잘라서 끼운 후, 마젠타 박스 (Incu tissue, SPL)에 건조된 토양 200 g을 넣고 필름이 끼워진 슬라이드를 4개씩 끼운 후 수분 함량을 14%로 맞추었다[11]. 이를 28°C 항온기에 넣어서 2주에 한 번씩 꺼내서 필름 면적 변화를 측정하였다.

멀칭필름 붕괴를 측정하기 위해서 0, 2, 4, 6, 8주 경과한 슬라이드 프레임을 꺼내서 가볍게 증류수로 세척한 후, 녹색 배경 위에 프레임을 놓고 사진을 촬영한 후, ImageJ 프로그램(NIH)을 이용하여 면적 변화를 계산하였다[12].

토양 미생물 군집분석

LDPE 필름과 BDM-A 필름에 부착된 토양(F), 필름 주변 토양(S) 500 mg을 FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP bio)를 이용해서 제조사의 방법에 따라 DNA를 추출하였다. 미생물 군집분석을 위해, 세균의 16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭하는 프라이머 Bakt_341F/Bakt_805와 진균 ITS 영역을 증폭하는 ITS3/ITS4 프라이머를 이용하여 해당하는 DNA 단편을 증폭하고, Illumina 사의 MiSeq™ 2000 플랫폼을 이용하여 마크로젠 (Macrogen, Inc.)사에 염기서열 분석을 의뢰하였다.

얻어진 염기서열의 분석은 USEARCH (v.9.1.13)[13]와 MOTHUR 플랫폼(v.1.39.5)[14]을 기반으로 한 파이프라인을 사용하였다. 시퀀싱 데이터는 예비 여과 과정을 통해 길이가 짧거나 프라이머 불일치가 있는 시퀀스를 제거한 후, 0.03의 cutoff를 기준으로 Operational Taxonomic Units (OTUs)으로 클러스터화하였고, 키메라 시퀀스는 제거되었다. OTU table은 MOTHUR 상에서 커스터마이징된 Perl 스크립트를 이용, .shared 형식의 파일로 전환되었다. MOTHUR의 명령어를 이용하여, 세균의 16S rRNA 유전자 서열 데이터베이스인 Ribosomal Database Project database (RDP version 18)[15]와 진균의 ITS 서열 데이터 베이스인 UNITE database (version 10)[16]를 사용하여 $\text{iters} = 1,000$, $\text{cutoff} = 60$ 조건을 바탕으로 OTU에 분류학적 할당을 수행하였다. 각 샘플의 서로 다른 read 수를 가장 작은 read 수를 기준으로 표준화한 후 Good's coverage, 종 풍부도 지수(Chao1, ACE), 종 다양성 지수(Shannon, inverse Simpson)를 산출하였다. 세균의 read는 SINA aligner [17]와 SILVA 16S rRNA database (SSURF-138.1)로 서열이 정렬되었고[18], 이를 바탕으로 FastTree 프로그램을 이용하여 phylogenetic tree를 구축하였다[19]. Weighted Fast UniFrac distances를 계통발생학적(phylogenetic) 결과와 상대적 풍부도(abundance) 결과를 조합해 군집 간의 거리를 산출한 후 Principal coordinate analysis (PCoA)를 수행하였다. 진균의 경우 MOTHUR 내의 명령어를 사용하여 군집 간의 상관관계를 산출하였고, 이를 바탕으로 Principal component analysis (PCA)를 수행하였다.

PBAT 분해 미생물 선발 및 분해능 검증

영양 토양에서 배양한 필름에 부착된 토양 1 g과 0.9% NaCl 10 mL를 50 mL 원심분리 튜브(SPL)에 넣고 cute mixer (Eyela, Japan)에서 30분 동안 교반한 후, 최소배지 성분에 PBAT 에멀전이 포함된 고체 배지에 도말 후 clear zone을 생성하는 미생물을 순수 분리하였다[20]. 세균 균주는 16S rRNA 유전자를 27F와 1492R 프라이머로 증폭 후 EzBioCloud에서 표준균주와 비교하여 동정하였으며[21], 진균 균주는 ITS 영역을 ITS1와 ITS4 프라이머로 양방향에서 시퀀싱하여 서열을 정리한 후, UNITE database에 BLAST를 시행하여 동정하였다[16].

통계 분석

토양 마이크로코즘 시험은 토양 3종, 필름 2종에 대하여 3반복씩 총 18개의 처리구로 구성하였으며 통계적으로 유의미한 차이를 분석하기 위해 스튜던트 t 검정이나 Duncan 검정에 기반한 ANOVA를 이용하였다. ANOVA 검정에서는 5% 수준에서 통계 검정을 수행하였다. 모든 통계적 분석은 R studio (v4.1.2)로 수행하였다(R studio team).

결과 및 고찰

토양 마이크로코즘을 이용한 생분해성 멀칭필름 분해 시험

곡성, 전주, 영월에서 채취한 농경지 토양 시료의 토양 물리·화학적 분석한 결과는 Table 1과 같다. 토양에 매립한 멀칭필름의 분해 양상을 항온조건에서 2주 간격으로 8주간 조사한 결과, LDPE 필름은 모든 토양에서 분해가 관찰되지 않았으며 영월 토양에서만 2종의 생분해성 멀칭필름의 분해가 관찰되었다(Table 2) 멀칭필름 매몰 4주 후에 곡성, 전주 토양에서는 분해가 일어나지 않았으나 영월 토양에서는 20.6%의 필름에서 분해가 일어났다. 곡성, 전주 토양에서는 8주 후에도 분해가 거의 일어나지 않았지만, 영월 토양에서는 6주 후 67.3%, 8주 후 80.1%까지 분해가 관찰되었다.

곡성, 전주, 영월 토양의 수분 함량과 pH는 각각 23~18%, 6.3~6.8 범위로 큰 차이가 없었고, 영월 토양의 전질소, 유기물, 가용성 인의 농도는 3종의 토양 중에서 2~3위에 위치하고 있어(Table 1), 토양 물리·화학적 성질이 영월 토양에서 생분해성 멀칭필름의 빠른 분해 속도의 원인은 아니라고 판단하였다[6].

Table 1. Physiochemical properties of the soils continuously using mulch films

Sampling sites	Water content (%)	pH (1:5)	EC (dS/m)	Ca (cmol _c /kg)	K (cmol _c /kg)	Mg (cmol _c /kg)	Na (cmol _c /kg)
GS	25.12	6.30	1.18	1.36	0.12	0.35	0.04
JJ	23.21	6.40	0.25	14.49	21.38	3.33	0.04
YW	27.52	6.80	3.05	2.69	0.33	0.48	0.10
Sampling sites	T-N (%)	Organic matter (g/kg)	Avail. P ₂ O ₅ (mg/kg)	Soil texture			
GS	0.27	8.90	81.19	Loam (sand 47.3%, silt 32.4%, clay 20.3%)			
JJ	0.23	60.31	1395.37	Sandy loam (sand 55.1%, silt 32.6%, clay 12.3%)			
YW	0.13	21.97	478.88	Sandy loam (sand: 67.4%, silt: 23.1%, clay: 9.5%)			

Table 2. Temporal variations of the relative areas degraded of various mulch films in different agricultural soils

Soil	Film type	Time (week)				
		0w	2w	4w	6w	8w
GS	LDPE	0	0	0	0	0
	BDM-A	0	0	0	0	0
	BDM-B	0	0	0	0	0
JJ	LDPE	0	0	0	0	0
	BDM-A	0	0	0	0	0
	BDM-B	0	0	0	1.45	0
YW	LDPE	0	0.52	0	0	0
	BDM-A	0	0	20.63	67.30	80.13
	BDM-B	0	0	3.210	21.10	30.64

Film sheets were collected every 2 weeks for 8 weeks.
GS=Goksung, JJ=Jeonju, YW=Youngweol.

생분해성 멀칭필름 분해에 따른 미생물 군집 변화 분석

영월 토양에서 생분해성 멀칭필름의 빠른 분해가 토양 미생물 군집의 변화와 관련이 있는지 구명하기 위해 4주가 경과한 시점의 영월 토양 내 LDPE 필름과 BDM-A 필름에 부착된 토양(F)과 그 주변 토양(S)으로부터 토양 시료를 채취하고 미생물 군집을 분석하였다(Fig. 1). BDM-A 필름에 부착된 토양(BDM-A_F)의 세균 및 진균 군집은 BDM-A 필름 주변 토양(BDM-A_S), 분해가 일어나지 않은 LDPE 필름에 부착된 토양(LDPE_F) 및 LDPE 필름 주변 토양(LDPE_S)의 세균 및 진균 군집과는 뚜렷한

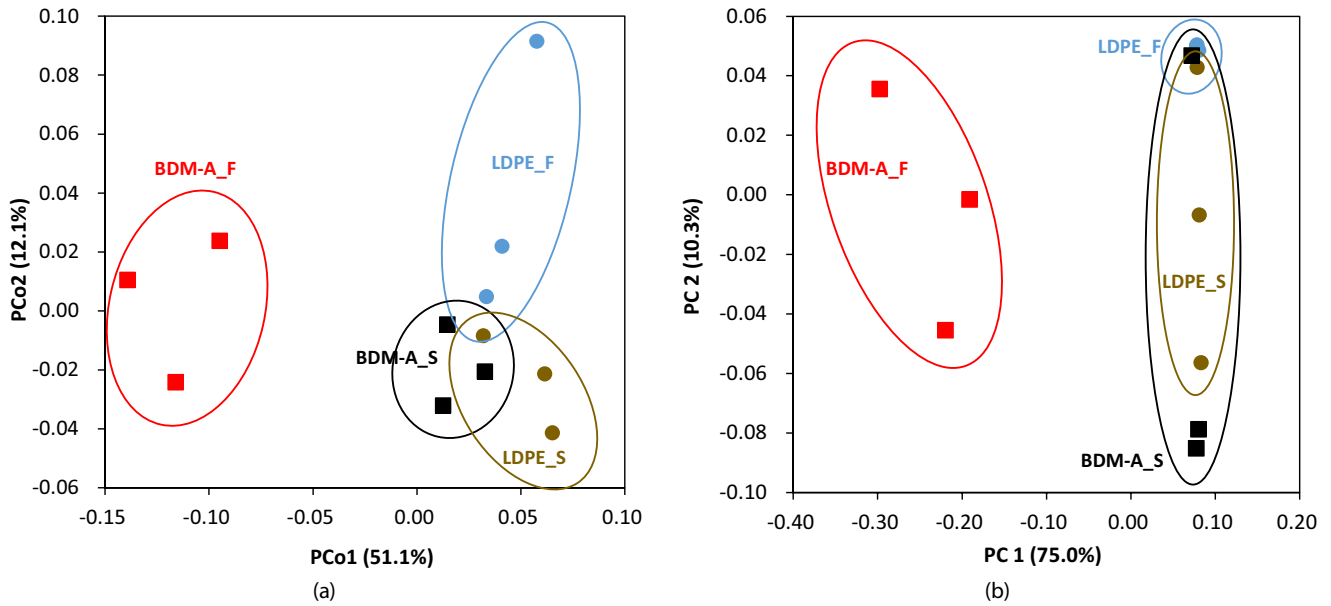


Fig. 1. The beta-diversity of bacterial (a) and fungal (b) communities on the LDPE and BDM-A films and in the respective surrounding soils.

The bacterial and fungal communities were analyzed using the principal coordinates analysis (PCoA) based on the Weighted UniFrac metric of the 16S rRNA genes and the principal component analysis (PCA) of ITS regions, respectively. Symbols: ●, LDPE; ■, BDM-A.

차이가 있는 것으로 나타났다. 이는 영월 토양에서 생분해성 멀칭필름의 분해에 세균 및 진균이 관여할 가능성이 높음을 나타낸다.

세균 문(phylum) 수준에서 분석 시, BDM-A_F에서 *Bacteroidetes*와 *Candidatus Saccharibacteria*의 비율이 각각 22.0%, 6.7%로 다른 처리구의 15.8~18.9%, 3.7~4.7%에 비해 증가하였으나, *Firmicutes*는 1.9%로 다른 처리구의 3.1~3.3%에 비해 감소하였다(Fig. 2a). *Proteobacteria*를 class 수준에서 분석하면, BDM-A_F 처리구에서 *Betaproteobacteria*의 비율이 7.0%로 다른 처리구의 3.4~3.5%에 비해 높은 것으로 나타났다. 일반적으로 생분해성 멀칭필름에서 증가한다고 알려진[22] *Actinobacteria*는 BDM-A_F에서 4.8%로 오히려 다른 처리구(5.1~7.4%)보다 감소하였다. 생분해성 멀칭필름에 부착된 토양에서 *Bacteroidetes* 문의 *Ohtaekwangia*와 *Terrimonas* 속, *Betaproteobacteria* 강의 *Comamonadaceae* 과와 *Hydrogenophaga* 속 등이 BDM-A에 부착된 토양에서 다른 처리구에 비해 유의하게 증가하여(Fig. 3a) 이 속에 속하는 세균들이 생분해성 멀칭필름의 분해에 관여하였을 것으로 추정된다. *Ohtaekwangia* 속은 PLA에 오염된 토양에서 상대적으로 증가하는 것이 이전 연구에서 보고되었다[23]. BDM-A에는 물성 개선을 위해 PBAT 외에 PLA도 포함되어 있어 이 미생물이 PLA 분해에 관여했을 가능성이 있다.

진균 문 수준에서 생분해성 멀칭필름 표면(BDM-A_F)의 토양 진균 군집은 *Ascomycota*가 49.9%로 다른 처리구에 비해(22.9~31.5%) 높은 것으로 나타났다(Fig. 2b). 진균 군집을 속 수준에서 분석하였을 때, BDM-A_F 군집에서 *Paraphoma*, *Purpureocillium*, *Setophoma* 속이 각각 30.7, 3.5, 3.6%로 다른 처리구에 비해(<0.8%) 크게 증가한 것으로 나타났다(Fig. 3b). *Paraphoma* 속에 속하는 진균은 PBS, PBSA, PBAT 등의 다양한 생분해성 플라스틱을 분해한다고 보고되었고[24], *Purpureocillium* 속은 PBAT를 비롯한 생분해성 플라스틱을 생분해하는 미생물로 다수 보고되었다[25,26].

알파 다양성 분석을 통해 멀칭필름 환경 하에서 세균과 진균 군집의 종 다양성, 종 풍부도를 확인하였다(Fig. 4). 세균의 경우 종 풍부도(Chao1 지수)는 생분해성 멀칭필름에 부착된 토양(BDM-A_F)과 다른 처리구가 유의미한 차이가 없었지만, 종 다양성(Shannon 지수)의 경우 다른 처리구에 비해 종 풍부도가 유의하게 감소하여 생분해성 멀칭필름에서 특정 미생물의 우점도가 증가하였음을 나타내었다. 진균의 경우에도 생분해성 멀칭필름 부착 토양의 Chao 1 및 Shannon 지수가 다른 토양에 비해 감소하여 생분해성 멀칭필름에서 특정 진균의 우점도 증가와 함께 종 수도 감소하였음을 나타내었다.

본 연구 결과는 토양에서 생분해성 멀칭필름의 분해가 토양 미생물 군집의 급격한 변화를 동반하며 이는 특히 진균 군집에서 크다는 것을 보여준다. 이는 생분해성 멀칭필름의 토양 매립이 특히 진균 군집구조와 활성에 영향을 준다는 이전 연구 결과와 일치한다[6,27].

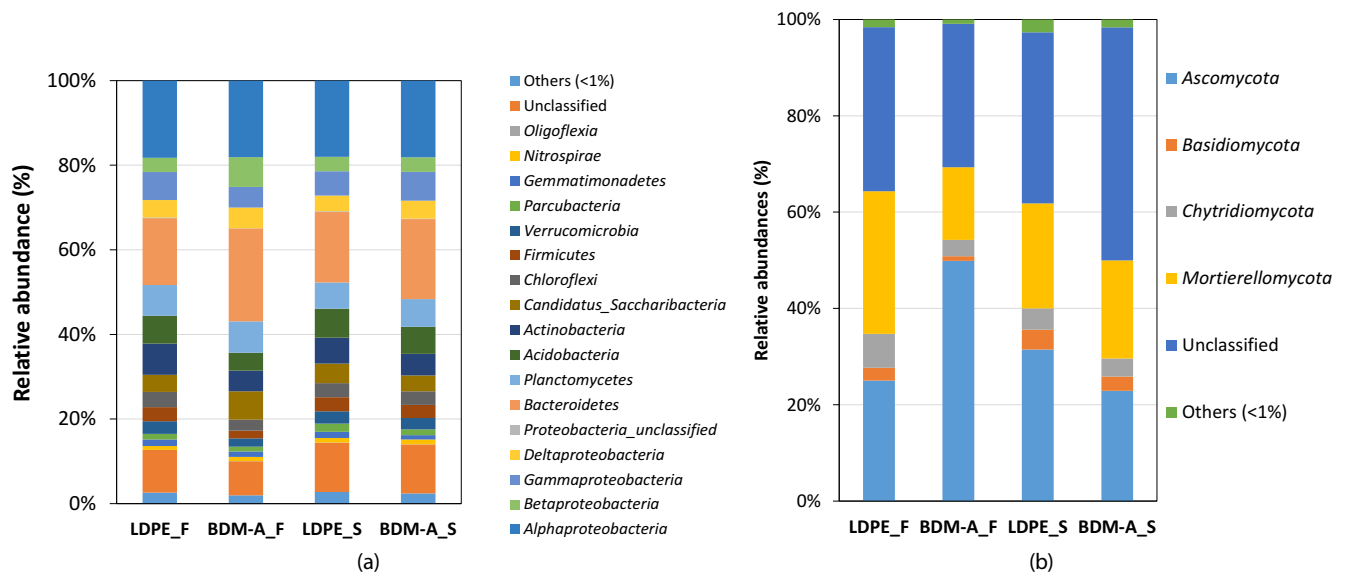


Fig. 2. The relative abundances of bacterial (a) and fungal (b) phyla on the LDPE and BDM-A films (LDPE_F and BDM-A_F, respectively) and in the respective surrounding soils (LDPE_S and BDM-A_S, respectively) in the Youngweol soil (average, $n=3$).

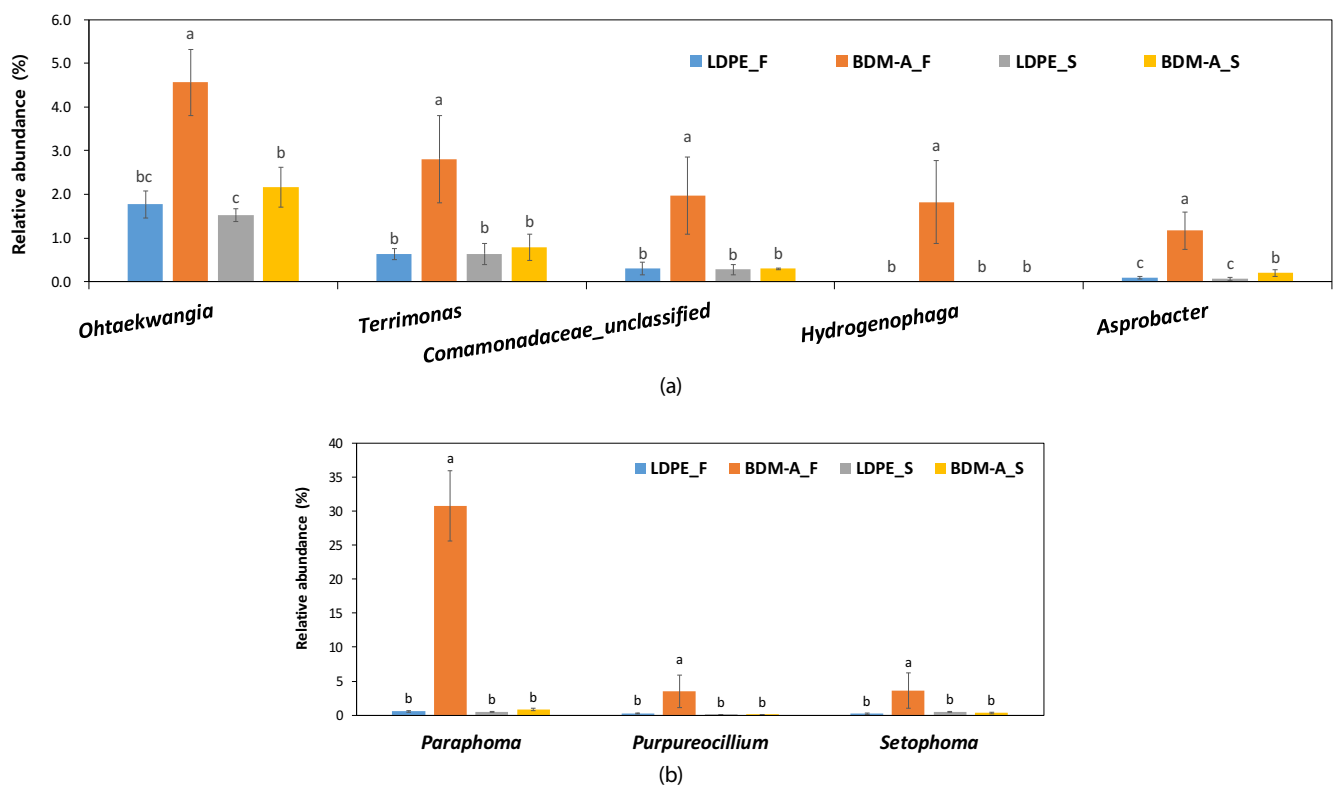


Fig. 3. The relative abundances of bacterial (a) and fungal (b) genera with relative abundances significantly higher on the BDM-A film (BDM-A_F) than those in the surrounding soils (BDM-A_S), and those on the LDPE film (LDPE_F) and in the surrounding soils (LDPE-S) in the Youngweol soil.

The values sharing the same letter indicate no significant difference (average $\pm$ standard deviation, $n=3$, $p<0.05$).

PBAT 분해 미생물 선발 및 분해능 검정

군집구조 결과를 바탕으로 영월 필름에 부착된 토양으로부터 PBAT를 분해하는 미생물 균주를 분리하여 동정한 결과, 세균

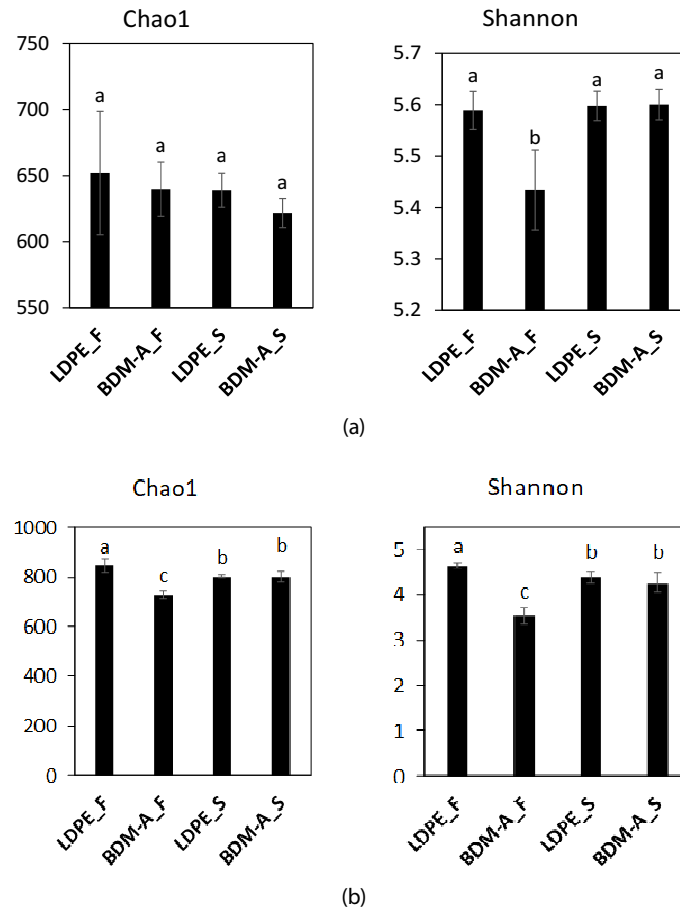


Fig. 4 Alpha diversities on the LDPE and BDM-A films and in the respective surrounding soils.

Chao1 and Shannon indices of bacterial (a) and fungal (b) communities, respectively. The values sharing the same letter indicate no significant difference (average $\pm$ standard deviation, $n=3$, $p<0.05$).

1균주와 진균 2균주가 분리되었으며 각각 *Rhizobacter* sp. 55-2, *Purpureocillium* sp. 1112-3, *Plectosphaerella* sp. B-2로 동정되었다. 선발된 세 균주를 PBAT 에멀전을 포함하는 고체 배지에 접종하고 투명한 지름을 측정하여 생분해 속도를 비교하였다(Fig. 5). 두 진균의 투명한 생성 속도가 세균 균주에 비해 빠른 것으로 나타났는데 이는 진균의 경우 세균과 달리 고체 배지 위에서 균사를 통해 계속 확장할 수 있기 때문으로 생각된다. 이전 연구 결과를 통해 *Purpureocillium* 속의 균주에서 PBAT 분해 활성이 보고되었고[25,26], *Rhizobacter* 속 역시 PBAT 생분해 활성에 대한 보고가 확인되었다[28]. 특히 *Purpureocillium* 속은 본 연구에서 생분해성 멀칭필름 부착 토양에서 특이적으로 증가한 진균 속으로(Fig. 3b) 이 속이 증가한 이유가 시험 필름의 주성분인 PBAT 분해 활성을 갖고 있기 때문이라는 추정을 가능하게 한다. 생분해성 멀칭필름에서 상대풍부도가 증가한 많은 미생물, 특히 세균들이 PBAT 분해 미생물로 선발되지 않았는데 이는 이들 중 일부가 PBAT 가수분해능 없이 PBAT의 단량체인 butane-diol, adipic acid, terephthalic acid만을 이용하기 때문일 것으로 추정된다.

위 연구 결과로부터 생분해성 멀칭필름 조기 붕괴의 원인 중 한 가지는 생분해성 멀칭필름 장기 사용에 따라 생분해성 멀칭필름 분해 미생물의 풍부도 및 분해 활성이 증가했기 때문으로 추정된다. 이는 생분해성 멀칭필름 사용 초기에 비해 사용 기간이 길어질수록 생분해성 멀칭필름의 생분해 속도가 증가할 것임을 나타내며 향후 멀칭필름 제조 시 적절한 생분해 속도 조절이 필요할 것으로 판단된다[29].

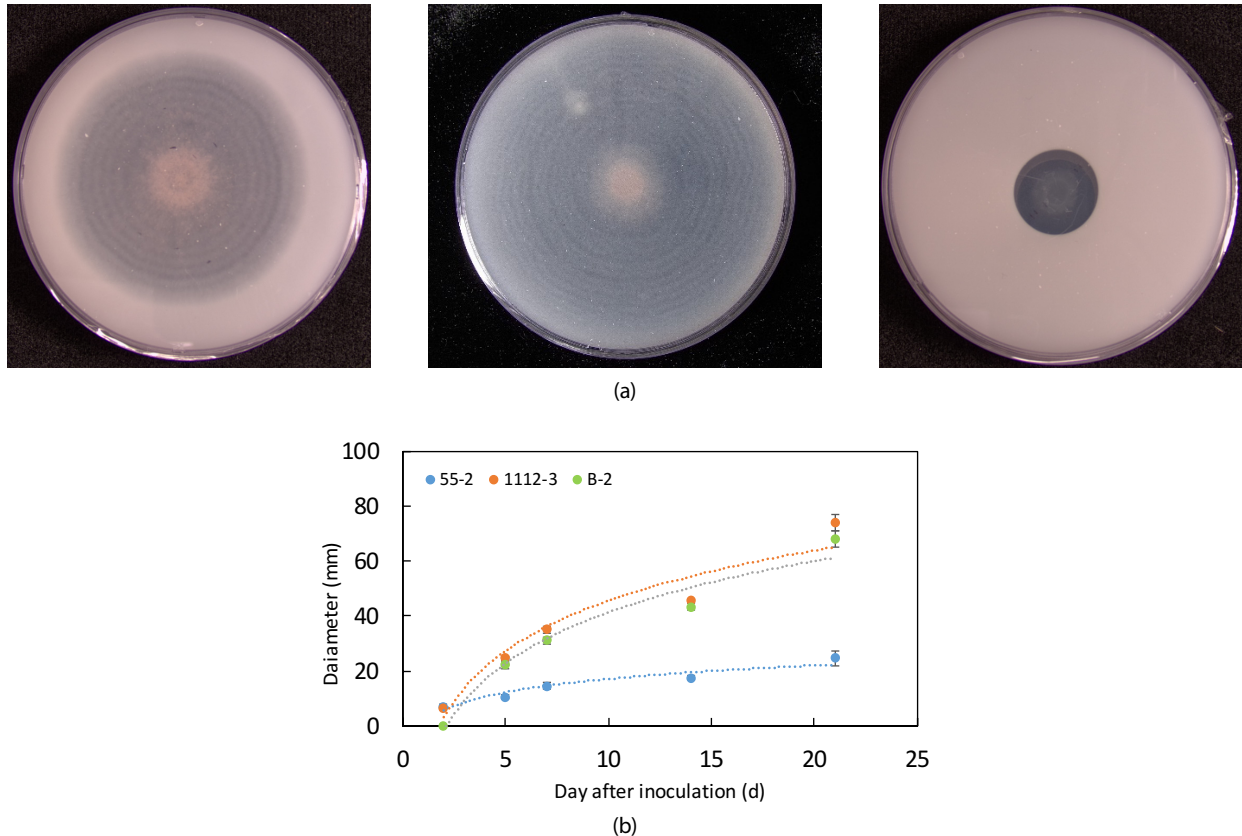


Fig. 5. Confirmation of PBAT biodegradability of fungal and bacterial strains.

The formation of clear zone by *Pureureocillium* sp. 1112-3 (left), *Plectosphaerella* sp. B2 (middle), and *Rhizobacter* sp. 55-2 (right) on PBAT emulsion media (a). The temporal variations of the diameter of the clear zone by the two strains (b).

결론

본 연구에서는 서로 다른 생분해성 멀칭필름 사용 이력을 갖는 토양에 생분해성 멀칭필름을 매립하고 필름의 분해 속도를 측정한 결과 생분해성 멀칭필름을 5년 이상 사용한 토양에서만 분해가 일어났다. 생분해가 일어난 필름에서 세균과 진균 군집 구조의 급격한 변화가 일어났으며 생분해가 일어난 필름에서 특이적으로 증가한 미생물 중 일부는 필름의 주성분인 PBAT 분해 활성을 갖는 것으로 나타났다.

Data Availability: All data are available in the main text or in the Supplementary Information.

Author Contributions: J.-h.C., H.-Y.W. and J.-H.A. conceived and designed the research; J.-h.C., J.Y., H.C. and J.Y. prepared the samples and carried out the experiments and analysis; J.-h.C. and J.-H.A. wrote the first manuscript, S.A. and D.-Y.K., Y.-J.K. provide critical feedback and revised the manuscript.

Notes: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: This research was supported by the National Institute of Agricultural Sciences (project no. RS-2022-RD010276).

Additional Information:

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.5338/KJEA.2024.43.33>

Correspondence and requests for materials should be addressed to Jae-Hyung Ahn.

Peer review information Korean Journal of Environmental Agriculture thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Reprints and permissions information is available at <http://www.korseaj.org>

References

1. Kader MA, Senge M, Mojid MA, Ito K (2017) Recent advances in mulching materials and methods for modifying soil environment. *Soil and Tillage Research*, 168, 155-166. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.01.001>.
2. Somanathan H, Sathasivam R, Sivaram S, Mariappan Kumaresan S, Muthuraman MS, Park SU (2022) An update on polyethylene and biodegradable plastic mulch films and their impact on the environment. *Chemosphere*, 307, 135839. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135839>.
3. Park HH, Kim YG, Woo YH, Lee DJ, Kuk YI (2024) Effects of biodegradable mulching films on maize growth, yield, and soil environment auto-comp. *Korean Journal of Crop Science*, 69(3), 170-180. <https://doi.org/10.7740/KJCS.2024.69.3.170>.
4. Campanale C, Galafassi S, Di Pippo F, Pojar I, Massarelli C, Uricchio VF (2024) A critical review of biodegradable plastic mulch films in agriculture: Definitions, scientific background and potential impacts. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 170, 117391. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117391>.
5. Steinmetz Z, Wollmann C, Schaefer M, Buchmann C, David J, Tröger J, Katherine Muñoz K, Frör O, Schaumann GE (2016) Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation?. *Science of The Total Environment*, 550, 690-705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.153>.
6. Bandopadhyay S, Martin-Closas L, Pelacho AM, DeBruyn JM (2018) Biodegradable plastic mulch films: impacts on soil microbial communities and ecosystem functions. *Frontiers in Microbiology*, 9, 819. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00819>.
7. Bandopadhyay S, Sintim HY, DeBruyn JM. (2020) Effects of biodegradable plastic film mulching on soil microbial communities in two agroecosystems. *PeerJ*, 8, e9015. <https://doi.org/10.7717/peerj.9015>.
8. Zhang M, Xue Y, Jin T, Zhang K, Li Z, Sun C, Mi Q, Li Q (2022) Effect of Long-Term Biodegradable Film Mulch on Soil Physicochemical and Microbial Properties. *Toxics*, 10(3), 129. <https://doi.org/10.3390/toxics10030129>.
9. Muroi F, Tachibana Y, Kobayashi Y, Sakurai T, Kasuya K-i (2016) Influences of poly(butylene adipate-co-terephthalate) on soil microbiota and plant growth. *Polymer Degradation and Stability*, 129, 338-346. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.05.018>.
10. Yamamoto-Tamura K, Hiradate S, Watanabe T, Koitabashi M, Sameshima-Yamashita Y, Yarimizu T, Kitamoto H (2015) Contribution of soil esterase to biodegradation of aliphatic polyester agricultural mulch film in cultivated soils. *AMB Express*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0088-x>.
11. Yeon JH, Chung JH, Choi HS, Ko YJ, Kim DY, An SH, Ahn JH, Han JH, Weon HY (2023) Enhanced degradation of residual cadusafos in soils by the microbial agent of cadusafos-degrading *Sphingobium* sp. Cam5-1. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 42(4), 346-352. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2023.42.4.39>.
12. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.
13. Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F (2016) VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>.
14. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH et al. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541. <https://doi.org/10.1128/aem.01541-09>.
15. Cole JR, Wang Q, Fish JA, Chai B, McGarrell DM, Sun Y, Brown CT, Porras-Alfaro A, Kuske CR et al. (2014) Ribosomal database project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D633-D642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>.
16. Abarenkov K, Nilsson RH, Larsson KH, Taylor AFS, May TW, Frøslev TG, Pawlowska J, Lindahl B, Pöldmaa K et al. (2023) The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, 52(D1), D791-D797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1039>.
17. Pruesse E, Peplies J, Glöckner FO (2012) SINA: Accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. *Bioinformatics*, 28(14), 1823-1829. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts252>.
18. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
19. Price MN, Dehal PS, Arkin AP (2009) FastTree: Computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix.

- Molecular Biology and Evolution, 26(7), 1641-1650. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp077>.
20. Shin GY, Park SA, Koo JM, Kim MS, Lee MK, Jejal JG, Hwang SY, Park JY, Oh DY (2021) A micro-spray-based high-throughput screening system for bioplastic-degrading microorganisms. *Green Chemistry*, 23(15), 5429-5436. <https://doi.org/10.1039/D1GC01916C>.
 21. Chalita M, Kim YO, Park SI, Oh HS, Cho JS, Moon JS, Lee KH, Yang JW, Nam GG et al. (2024) EzBioCloud: A genome-driven database and platform for microbiome identification and discovery. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 74(6), 006421. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006421>.
 22. Zhao Z, Wu H, Jin T, Liu H, Men J, Cai G, Cernava T, Guilan Duan G, Jin D (2023) Biodegradable mulch films significantly affected rhizosphere microbial communities and increased peanut yield. *Science of The Total Environment*, 871, 162034. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162034>.
 23. Rüthi J, Bölsterli D, Pardi-Comensoli L, Brunner I, Frey B (2020) The “plastisphere” of biodegradable plastics is characterized by specific microbial taxa of alpine and arctic soils. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 562263. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.562263>.
 24. Suzuki K, Noguchi MT, Shinozaki Y, Koitabashi M, Sameshima-Yamashita Y, Yoshida S, Fujii T, Kitamoto HK (2014) Purification, characterization, and cloning of the gene for a biodegradable plastic-degrading enzyme from *Paraphoma*-related fungal strain B47-9. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(10), 4457-4465. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5454-0>.
 25. Fernandes M, Salvador AF, Vicente AA (2024) Biodegradation of PHB/PBAT films and isolation of novel PBAT biodegraders from soil microbiomes. *Chemosphere*, 362, 142696. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142696>.
 26. Tseng WS, Lee MJ, Wu JA, Kuo SL, Chang SL, Huang SJ, Liu CT (2023) Poly(butylene adipate-co-terephthalate) biodegradation by *Purpureocillium lilacinum* strain BA1S. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(19), 6057-6070. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12704-z>.
 27. Tang Q, Lin T, Sun Z, Yan A, Zhang J, Jiang P, Wu F, Zhang H (2022) Effects of mulching film on soil microbial diversity and community of cotton. *AMB Express*, 12(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01374-1>.
 28. Yeon JH, Choi HS, Chung Jh, Ko YJ, Kim DY, An SH, Ahn JH, Weon HY (2023) Complete genome sequence of polybutylene adipate terephthalate-degrading *Rhizobacter* sp. strain SBD 7-3, isolated from soil. *Korean Journal of Microbiology*, 59(4), 366-367. <https://doi.org/10.7845/kjm.2023.3098>.
 29. Hayes DG (2021) Enhanced end-of-life performance for biodegradable plastic mulch films through improving standards and addressing research gaps. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 33, 100695. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2021.100695>.