

## Biocide에 의한 淡水藻類의 生長에 관한 研究

### I. *Chlamydomonas reinhardtii*의 生長에 미치는 影響

李 殷 京·洪 英 男

(서울大學校 自然科學大學 植物學科)

## Studies on the Growth of Freshwater Algae by Biocides

### I. On the Growth of *Chlamydomonas reinhardtii*

Lee, Eun Kyung and Young-Nam Hong

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul)

### ABSTRACT

The effects of 6 biocides on the growth of *Chlamydomonas reinhardtii* in pure culture were studied. For the batch culture assay of biocides, the growth rate in control tubes should be compared with in the test tubes and the effective concentration calculated on the basis of the percent decrease in growth rate at the different toxicant concentration. The concentrations at which 50% decrease in growth rate was observed are 40 $\mu\text{g}/\text{l}$  for butachlor and 350 $\mu\text{g}/\text{l}$  for alachlor in herbicide, 900 $\mu\text{g}/\text{l}$  for phenazine-5-oxide and 3,400 $\mu\text{g}/\text{l}$  for isoprothiolane in fungicide, and 3,330 $\mu\text{g}/\text{l}$  for fenthion and 332,500 $\mu\text{g}/\text{l}$  for trichlorfon in insecticide. The inhibitory effect on the growth of *Chlamydomonas reinhardtii* by the treatment of various biocide concentrations was decreased in order of herbicide>fungicide>insecticide. Chlorophyll and carotenoid content per cell were increased, whereas chlorophyll a/b ratio was hardly affected by biocides. The effects of biocides on pigment content were also decreased in order of herbicide>fungicide>insecticide, which suggested the relationship between the effect of biocides on the pigment content and inhibition of growth rate.

### 緒 論

病虫이나 害虫 또는 雜草 등으로 困한 식량수확의 손실은 세계적으로 35%에 달한다. 이

本研究는 1981年度 產學協同財團 學術研究費 支援에 依한 것임.

를 막기 위하여 biocide의 이용이 요구되었고, 이로서 현재 年 수백만 톤 以上의 biocide가 사용되고 있다.

그리고 그 사용량은 지난 100年 동안에 해마다 5% 정도의 증가를 보이고 있다(Bär and Roll, 1972; Korte et al., 1970; Loub, 1975).

이처럼 많은 사용량을 보이는 biocide가 生物體에 薔積됨으로써 궁극적으로는 인간에게도 피해를 가져올 수 있다는 사실이 1950年 초의 DDT 사용으로 因한 중독사고와 사망으로 전세계에 알려졌으며, 이때부터 biocide가 生物體에 미치는 영향을 조사하기 시작하였다(Holden, 1972; Woodwell, 1967). 특히 최근 월남전 이후 그곳에 사용되었던 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid의 teratogenic 효과에 대한 충격적인 사실들이 학자들간에 논쟁이 되고 있다(Davis, 1979; Galston, 1979).

Biocide는 撒布된 후 종발, 분해되거나 혹은 토양에 흡수되어擴散, 축적되거나 또는 생물에 의해 분해되기도 하며 토양으로부터 쟁여 강과 바다로 흘러 들어간다(Loub, 1975). 따라서 biocide는 생태계에서 環境化學物質汚染源으로 작용할 수 있다(Beye, 1974; Korte, 1976).

지금까지 環境化學物質의 mutagenic, carcinogenic, teratogenic 物質로서의 가능성에 대하여 1970年초부터 여러 방향에서 연구되고 있으며, 이러한 효과들은 먹이연쇄를 통한 이들의 축적이 그 원인이 될 수 있다(Woodwell, 1967).

그러나 이에 앞서 biocide는 먹이연쇄의 각 단계의 生物體에게 영향을 끼쳐 먹이연쇄의 균형을 잃게 할 수 있으므로 수중 생태계에서는 우선 1차 생산자인 식물플랑크톤의 유지가 문제가 될 것이다. 그러나 지금까지 DDT(MacFarlane et al., 1972; Menzel et al., 1970)나 polychlorinated biphenyls(Mahanty and Gresshoff, 1978)에 의한 식물 플랑크톤들의 생장에 미치는 효과가 보고되었을 뿐 다른 biocide들에 대한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다.

이에 따라 본 연구는 단세포 담수조류인 *Chlamydomonas reinhardtii*를 재료로 하여 biocide에 의한 생장의 영향을 이의 생장을과 광합성 색소함량의 변화로 조사하였다.

### 材料 및 方法

**배양조건.** 실험에 사용한 *Chlamydomonas reinhardtii* c137<sup>-</sup>는 江原大學校 生物學科 李浩柱教授로부터 分株받았다.

7000 lux의 照度와 25±1°C의 온도를 유지하는 조류 배양기에서 이를 배양하여 얻은 指數生長期의 세포懸濁液 30 ml를 멀균된 배양액 220 ml가 담긴 300 ml 유리배양관(Φ 4 cm × 37 cm)으로 옮긴 후 동일 조건에서 배양하였다. 초기 세포수는  $2.0 \times 10^5$  cells/ml로 조정하였으며 배양액은 Sueoka(1960)의 high salt minimal medium의 조성에 따랐다.

**生長率의 측정.** 지수생장기 내에서 흡광도는 660 nm에서 측정하였으며, 세포수는 potassium dichromate로 고정하여 hemacytometer로 측정하였다. 전량은 50~100 ml의 細胞懸濁液을 membrane filter(pore size 3 μm, Φ 4.7 cm)로 여과하여 이를 80°C에서 24시간 건조시킨 후 그 무게를 测定하였다.

그러나 본 실험에서는 생장을 세포수로부터 환산하였으며, 이 때 흡광도와 세포수 및 乾量과 흡광도의 상관관계는 Fig. 1과 2와 같이 나타났다.

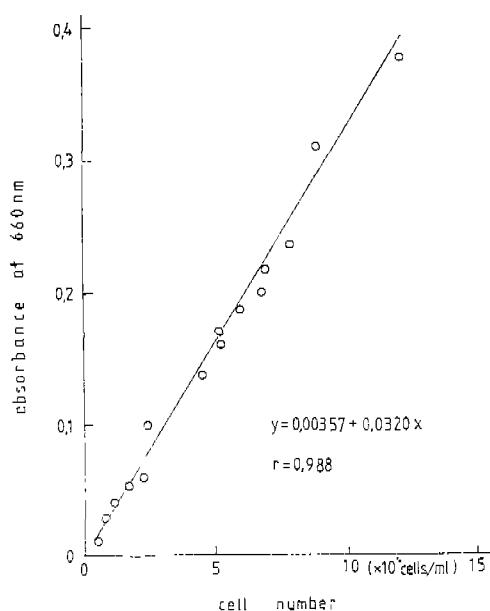


Fig. 1. Correlation between absorbance of cell suspension and cell number. Absorbance and cell number were measured within exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii*.

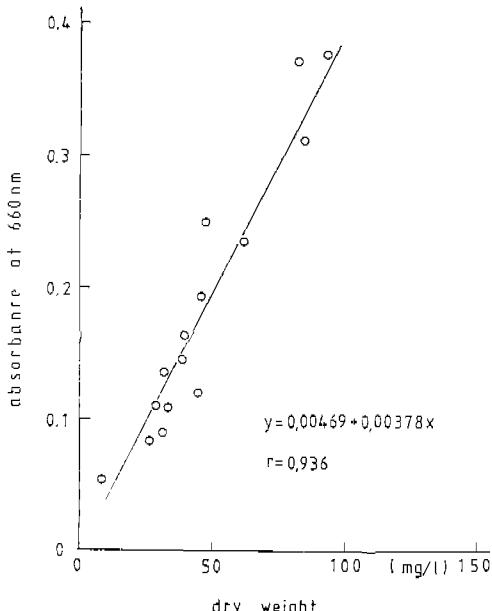


Fig. 2. Correlation between absorbance of cell suspension and dry weight. Absorbance was measured within exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii* and dry weight was measured after 24 hrs drying at 80°C.

光合成色素含量의 测定. 指數生長期에서 24시간 培養한 세포 혼탁액 100 ml 를 glass fiber filter(pore size 1  $\mu\text{m}$ ,  $\phi 4.7 \text{ cm}$ )로 濾過한 후 0.2 g 의 석영사와 함께 25 ml 의 80% acetone (0.1%  $\text{CaCO}_3$  포함)으로 抽出한 후 645 nm 와 663 nm 에서 흡광도를 측정하여 Holden (1965)의 方法에 따라 엽록소 함량을 换算하였다.

또한 상기의 방법으로 얻은 용액의 흡광도를 480 nm 에서 측정하여 상대 carotenoid 함량으로 나타내었다.

**Biocide 的 選定.** 국내에서 사용하고 있는 제초제, 살균제 그리고 살충제들 중에서 각 종 품별로 2 가지씩 선정하여 absolute ethanol에 녹여 사용하였다.

除草劑 alachlor: 2-Chloro-2,6-diethyl-N-(methoxymethyl) acetanilide  
butachlor: N-(butoxymethyl)-2-chloro-2,6-diethylacetanilide

殺菌劑 isoprothiolane: Diisopropyl-1,3-dithiolan-2-ylidenemalonate  
phenazine-5-oxide: Dibenzopyrazine-5-oxide

殺蟲劑 fenthion: O,O-Dimethyl-O-(4-methylmercapto-3-methylphenyl) thionophosphate  
trichlotfon: O,O-Dimethyl-1-hydroxy-2,2,2-trichloroethylphosphonate

### 結果 및 考察

**Biocide 처리가 *Chlamydomonas reinhardtii* 의 生長率에 미치는 영향.** 各 biocide 들이 생장을 에 미치는 영향을 보기 위하여 指數生長期 内에서 농도별로 조사하였다.

Fig. 3에서는 50에서 1,000  $\mu\text{g}/\text{l}$ 까지의 농도에서 제초제가 생장을에 미치는 영향을 보았다. Butachlor의 경우 50  $\mu\text{g}/\text{l}$ 에서 이미 50%가 넘는 급격한 생장을減少效果를 보이고 있으며, 그 이상의 농도에서는 생장을의 감소가 완만하게 나타나고 있다. 그러나 alachlor는 butachlor와는 달리 전반적으로 그 저해효과가 낮았으나 농도 증가에 따라 계속적인 저해효과를 보이고 있었다.

殺菌劑의 경우 phenazine-5-oxide와 isoprothiolane은 100  $\mu\text{g}/\text{l}$ 에서 生長率減少效果에 큰 차이를 나타내지 않았으나, 1,000  $\mu\text{g}/\text{l}$  이상의 농도에서는 phenazine-5-oxide가 isoprothiolane보다 크게 나타났다. 특히 phenazine-5-oxide는 10,000  $\mu\text{g}/\text{l}$  되는 농도에서 생장을 넘추게 하였다(Fig. 4).

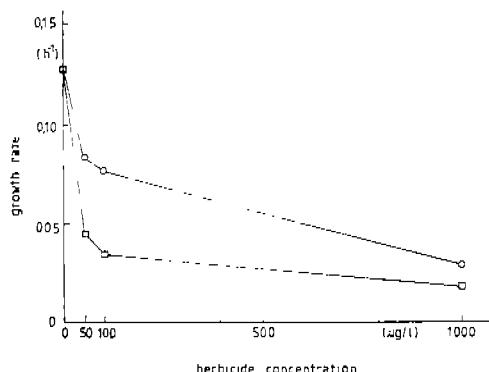


Fig. 3 Growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii*, treated with various concentrations of herbicides after 24 hrs growth in exponential phase. □—□=butachlor; ○—○=alachlor.

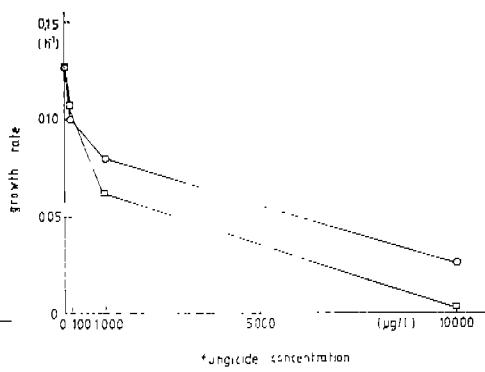


Fig. 4. Growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii*, treated with various concentrations of fungicides after 24 hrs growth in exponential phase. □—□=phenazine-5-oxide; ○—○=isoprothiolane.

殺蟲劑인 fenthion과 trichlorfon은 다른 biocide와는 달리 생장 저해효과를 나타내는 농도들이 매우 差異를 보였다(Figs. 5 and 6). Fenthion은 100  $\mu\text{g}/\text{l}$ 에서 生長率의 감소를 보이기 시작하여 3,000  $\mu\text{g}/\text{l}$  농도까지는 완만하게 감소하였으나 3,000  $\mu\text{g}/\text{l}$ 에서부터 급격히 떨어져 5,000  $\mu\text{g}/\text{l}$ 의 농도에서는 생장이 일어나지 않았다.

이에 비해 trichlorfon은 10,000  $\mu\text{g}/\text{l}$ 의 높은 농도에서 生長率의減少效果를 보이기 시작하였으며, 500,000  $\mu\text{g}/\text{l}$ 에서도 심한減少效果를 나타내지 않았다.

앞에서 본 biocide의 농도에 따른 생장을 곡선으로부터 生長率이 50%로 되는 biocide의 농도를 Table 1에 나타내었다.

除草劑의 경우 alachlor는 butachlor에 비해 9배 정도의 높은 농도를 보였으며, 殺菌劑는 isoprothiolane이 phenazine-5-oxide보다 4배 정도의 농도를 나타냈다. 그러나 살충제의 경우는 fenthion에 비해 trichlorfon은 100배 정도의 높은 농도에서 생장을의 1/2감소를 보였다.

以上의 결과로부터 *Chlamydomonas reinhardtii*에 대한 biocide의 종류에 따른 영향은 제초제가 가장 크며, 살균제, 살충제의 순서로 나타나는 경향을 보여주었다. 이는 Ukeles(1962)가 海洋植物 플랑크톤을 가지고 한 실험 결과와 매우 유사하였다. 그러나 algae 내에

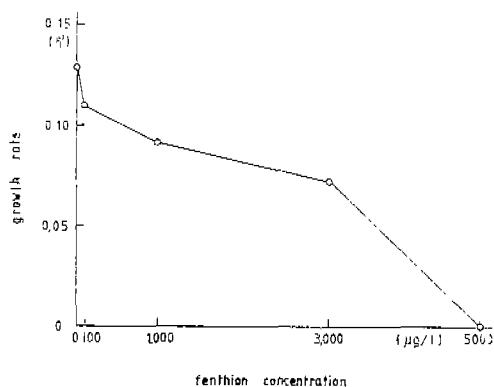


Fig. 5. Growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii*, treated with various concentrations of an insecticide (fenthion).

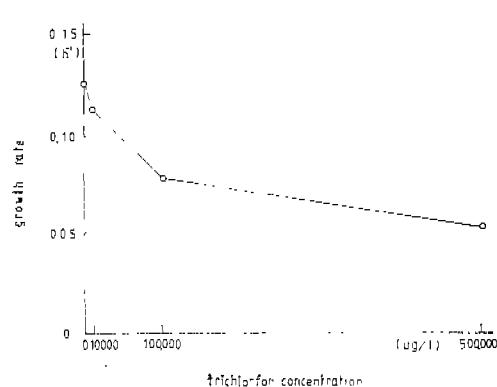


Fig. 6. Growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii*, treated with various concentrations of an insecticide (trichlorfon).

Table 1. Concentration of biocides at which the growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii* is reduced to a half

	Biocide	Concentration ( $\mu\text{g/l}$ )
Herbicide	butachlor	40
	alachlor	350
Fungicide	phenazine-5-oxide	900
	isoprothiolane	3,400
Insecticide	fenthion	3,330
	trichlorfon	332,500

해 *Chlamydomonas* 가 屬한 綠藻生物은 biocide에 대해 일반적으로 저항성이 크게 나타나므로(Palmer, 1969) 다른 藻類에 대해서는 본 실험의 결과보다 더욱 큰 영향이 있을 것으로 생각되며, 이러한 저항성의 차이로 인하여 藻類 群集 조성에도 變化가 있을 수 있다(Wurster, 1968; Mosser *et al.*, 1972).

Biocide가 광합성 색소함량에 미치는 영향. *Chlamydomonas reinhardtii*에 biocide가 미치는 生理的인 영향을 알아보기 위해 식물체의 중요한 대사인 光合성과 연관된 광합성 색소들의 세포당 함량에 대해 조사하였다.

Fig. 7에서 보듯이 제초제의 농도 증가와 함께 세포당 chlorophyll 양도 증가를 나타내었다. Alachlor 및 butachlor 모두 100  $\mu\text{g/l}$ 까지 급격한 함량증가를 보인 후 그 이상의 농도에서는 큰 증가를 보이지 않았으며, 생장에 대한 저해효과가 큰 butachlor 가 alachlor에 비해 좀 더 큰 색소 함량 증가를 보였다. 이와 함께 세포당 carotenoid 양도 증가를 하였으나 chlorophyll a/b 비율에는 별다른 영향을 미치지 않았다(Table 2). 이는 pyridazinone 계 제초제 San 6706에 의해 고동식물인 *Raphanus*와 *Hordeum* 幼植物의 광합성 색소 함량이 감소한다는 결과와는 상반되나(Lichtenhaller *et al.*, 1977), 같은 제초제로 처리한 *Chlorella*에서는 광합성능의 증가와 함께 세포당 광합성 색소 함량을 증가시킨다는 사실과는 유사하

축적되는 biocide의 양은 물에 대한 용해도가 작을수록 크며, 같은 biocide도 농도가 작을수록蓄積率이 증가하는 점(Böhm and Müller, 1976)과 제초제, 살균제 그리고 살충제들이 물에 대한 용해도에 差異가 있는 점(Ukeliš, 1962)등으로 보아 살균제와 살충제가 제초제에 비해 생장 저해효과가 작다고 하드라도, 생태계의 먹이연쇄를 통한 축적으로 인하여 일어날 수 있는 효과는 다른 양상을 보일 수도 있을 것이다. 그리고 다른 藻類에 비해 축적되는 biocide의 양은 물에 대한 용해도가 작을수록 크며, 같은 biocide도 농도가 작을수록蓄積率이 증가하는 점(Böhm and Müller, 1976)과 제초제, 살균제 그리고 살충제들이 물에 대한 용해도에 差異가 있는 점(Ukeliš, 1962)등으로 보아 살균제와 살충제가 제초제에 비해 생장 저해효과가 작다고 하드라도, 생태계의 먹이연쇄를 통한 축적으로 인하여 일어날 수 있는 효과는 다른 양상을 보일 수도 있을 것이다. 그리고 다른 藻類에 비

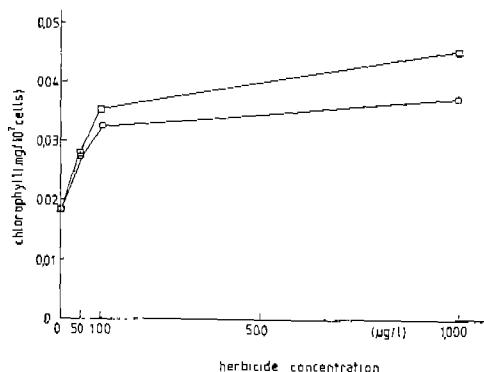


Fig. 7. Chlorophyll content per cell after exposure to various concentrations of herbicides for 24 hrs in exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii*. □—□=butachlor, ○—○=alachlor.

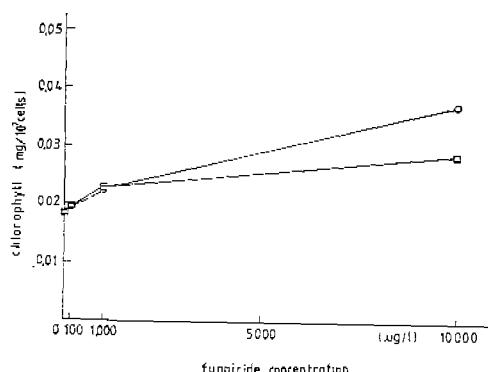


Fig. 8. Chlorophyll content per cell after exposure to various concentrations of fungicides for 24 hrs in exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii*. □—□=phenazine-5-oxide; ○—○=isoprothiolane.

Table 2. Effect of biocides on carotenoid content and chlorophyll a:b ratio after 24 hrs growth in exponential phase. Initial cell number was  $2.0 \times 10^5$  cells per ml

	Biocide	Concentration ( $\mu\text{g/l}$ )	Chl. a:b ratio <sup>a</sup>	Carotenoid <sup>b</sup> (absorbance/cell)
Herbicide	butachlor	50	1.8	0.0054
		100	1.8	0.0067
		1,000	1.7	0.0086
	alachlor	50	2.1	0.0054
		100	2.0	0.0063
		1,000	1.8	0.0065
Fungicide	isoprothiolane	100	2.2	0.0039
		1,000	2.2	0.0043
	phenazine-5-oxide	10,000	2.0	0.0065
		100	2.1	0.0037
Insecticide	fenthion	1,000	2.1	0.0041
		10,000	2.0	0.0047
		100	2.2	0.0038
	trichlorfon	1,000	2.0	0.0038
		3,000	2.0	0.0048
		10,000	2.0	0.0050
		100,000	2.0	0.0067
		500,000	1.9	0.0055

a. Control value is 2.2.

b. Control value is 0.0036.

였다(Herczeg et al., 1980). 본 실험에 사용한 제초제에 의한 색소함량의 증가가 세포당 광합성능의 증가를 수반하였는지는 좀 더 연구가 필요한 것으로 생각된다.

살균제는 2가지 모두 농도에 따라 색소 함량의 완만한 증가를 보였으며, 그 증가량도 크게 나타나지 않았다. 그러나 phenazine-5-oxide에 비해 isoprothiolane은 농도가 증가함에 따라 계속 증가하는 양상을 보였다(Fig. 8).

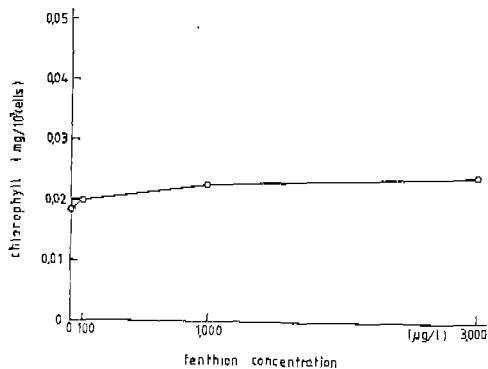


Fig. 9. Chlorophyll content per cell after exposure to various concentrations of a insecticide (fenthion) for 24 hrs in exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii*.

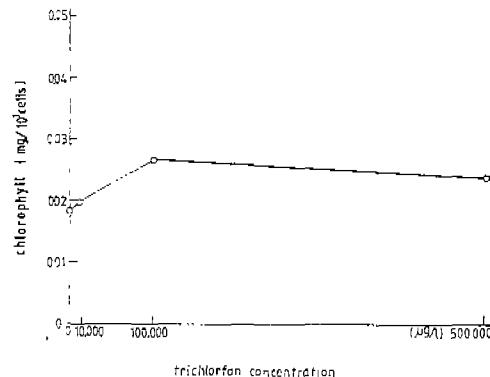


Fig. 10. Chlorophyll content per cell after exposure to various concentrations of a insecticide (trichlorfon) for 24 hrs in exponential phase of *Chlamydomonas reinhardtii*.

殺蟲劑의 경우에는 다른 biocide에 비해 색소 함량 변화에 대한 영향이 매우 작게 나타났다. Fenthion은 세포당 chlorophyll 양에 거의 영향을 주지 않았으며 (Fig. 9), trichlorfon의 경우 100,000  $\mu\text{g/l}$ 의 농도에서 색소 함량이 약간 증가한 듯하나 그 밖의 농도에서는 변화를 보이지 않았다(Fig. 10). 또한除草劑와 마찬가지로 殺菌劑와 殺蟲劑도 chlorophyll a/b 비율에는變化를 나타내지 않았으며 carotenoid 양의 변화 양상도 비슷하였다(Table 2).

이는 제초제 계통이 아닌 biocide도 光合成에 영향을 주며(Wurster, 1968; Powers et al., 1979), 또한 색소 함량에도 영향을 미치는 것으로 보아(MacFarlane et al., 1972) 살균제와 살충제도 염록체에 작용하여 색소 함량에 영향을 주었을 수도 있으나, 그 증가량이 제초제에 비해 적고 그 증가 양성이 완만하며 혈미경 하에서 분열되지 않은 세포의 빈도가 크게 나타났으므로 세포 분열이 미쳐 일어나지 않아 세포당 색소 함량이 증가했을 가능성도 있다(Powers et al., 1979). 그리고 漢類의 경우 환경의變化가 色素量이나 生長率에 영향을 줄 수 있고(Schlesinger and Shuter, 1981), 滅害効果에 따라 세포의 크기가 증가할 수 있으므로(Rueter et al., 1981; Herczeg et al., 1980) 색소 함량 증가에 대한 이들의 효과는 염록체에 대한 직접적인 작용보다는 생장에 미치는 영향에 따른 2차적인 효과일 가능성도 보여준다.

## 摘要

*Chlamydomonas reinhardtii*에 미치는 biocide의 影響을 알아 보기 위하여 除草劑, 殺菌劑 및 殺蟲劑

를 처리하여 生長率과 세포당 광합성 색소 함량을 조사하였다. Biocide의 농도에 따른 생장을 측정을 목적으로 부터 50%의 생장을 감소효과를 보인 농도는 제초제인 butachlor, alachlor 가 각각 40 $\mu\text{g}/\text{l}$ , 350 $\mu\text{g}/\text{l}$ 였으며, 살균제인 경우 phenazine-5-oxide 가 900 $\mu\text{g}/\text{l}$ , isoprothiolane 이 3,400 $\mu\text{g}/\text{l}$ 였다. 또한 살충제인 fenothion 은 3,300 $\mu\text{g}/\text{l}$ , trichlorfon 은 332,500 $\mu\text{g}/\text{l}$ 로 나타났으며 농도에 따른 *Chlamydomonas*의 생장을 减少效果는 제초제, 살균제, 그리고 살충제의 순서로 나타나 biocide 종류에 따른 저해효과의 差異가 큰 것을 볼 수 있었다.

세포당 염록소 함량과 carotenoid 함량은 biocide 농도에 따라 증가하였으나 chlorophyll a/b의 비율은 거의 일정하였다. 색소 함량의 變化는 제초제에 의해 가장 크게 나타났으며 살균제, 살충제의 순서로 그 변화량이 감소한 것으로 보아 biocide에 의한 색소 함량변화와 생장을 감소효과사이에는 서로 연관성이 있음을 보여주었다.

### 参考文献

- Bär, F. and R. Roll. 1972. Belastung des Menschen durch Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. In Umwelt-Report, H. Schultze(ed.), pp. 305~308. Umschau Verlag, Frankfurt.
- Beye, F. 1974. Pesticide in der Umwelt. *Biologie in unserer Zeit* 4 : 80~86.
- Böhm, H.-H. and H. Müller, 1976. Model studies on the accumulation of herbicides by microalgae. *Naturwissenschaften* 63 : 296.
- Davis, D. E. 1979. Herbicides in peace and war. *BioScience* 29 : 84, 91~94.
- Galston, A. W. 1979. Herbicides: A mixed blessing. *BioScience* 29 : 85~90.
- Herczeg, T., E. Lehoczki, I. Rojik, I. Vass, T. Farkas and L. Szalay. 1980. Stimulatory effects of pyridazinone herbicides on *Chlorella*. *Plant Science Letters* 19 : 285~294.
- Holden, A. V. 1972. The effects of pesticides on life in fresh waters. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 180 : 383~394.
- Holden, M. 1965. Chlorophylls. In Chemistry and biochemistry of plant pigments, W. T. Goodwin(ed.), pp. 461~488. Academic Press, New York.
- Korte, F., W. Klein and B. Drefahl. 1970. Technische Umweltchemikalien, Vorkommen, Abbau und Konsequenzen. *Naturw. RDSCH.* 23 : 445~457.
- Korte, F. 1976. Umweltchemicalien und Biozide. In Umweltforschung, H. Matthöfer(ed.), pp. 26~55. Umschau Verlag, Frankfurt.
- Lichtenthaler, H. K. and H. K. Kleudgen. 1977. Effect of the herbicide San 6706 on biosynthesis of photosynthetic pigments and prenylquinones in *Raphanus* and in *Hordeum* seedlings. *Z. Naturforsch.* 32c : 236~240.
- Loub, W. 1975. Auswirkung von Bioziden im Boden und auf die belebte Umwelt. In Umweltverschmutzung und Umweltschutz, W. Loub(ed.), pp. 227~265. Verlag Franz Deuticke, Wien.
- MacFarlane, R. B., W. A. Glooschenko and R. C. Harriss. 1972. The interaction of light intensity and DDT concentration upon the marine diatom, *Nitzschia delicatissima* Cleve. *Hydrobiologia* 39 : 373~382.
- Mahanty, H. K. and P. M. Gresshoff. 1978. Influence of polychlorinated biphenyls(PCBs) on growth of freshwater algae. *Bot. Gaz.* 139 : 202~206.
- Menzel, D. W., J. Anderson and A. Randtke. 1970. Marine phytoplankton vary in their response to chlorinated hydrocarbons. *Science* 167 : 1724~1726.

- Mosser, J. L., N. S. Fisher and C. F. Wurster. 1972. Polychlorinated biphenyls and DDT alter species composition in mixed cultures of algae. *Science* **176** : 533~535.
- Palmer, C. M. 1969. A composite rating of algae tolerating organic pollution. *J. Phycol.* **5** : 78~82.
- Powers, C. D., C. F. Wurster and R. G. Rowland. 1979. DDE inhibition of marine algal cell division and photosynthesis per cell. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **10** : 306~312.
- Rueter, Jr. J. G., S. W. Chisholm and F. M. M. Morel. 1981. Effects of copper toxicity on silicic acid uptake and growth in *Thalassiosira pseudonana*. *J. Phycol.* **17** : 270~278.
- Schlesinger, D. A. and B. J. Shuter. 1981. Patterns of growth and cell composition of freshwater algae in light-limited continuous cultures. *J. Phycol.* **17** : 250~256.
- Sueoka, N. 1960. Mitotic replication of deoxyribonucleic acid in *Chlamydomonas reinhardi*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **46** : 83~91.
- Ukeles, R. 1962. Growth of pure cultures of marine phytoplankton in the presence of toxicants. *Appl. Microbiol.* **10** : 532~537.
- Woodwell, G. M., C. F. Wurster and P. D. Isaacson. 1967. DDT residues in an east coast estuary: a case of biological concentration by a persistent pesticide. *Science* **156** : 821~823.
- Woodwell, G. M. 1967. Toxic substances and ecological cycles. *Sci. Amer.* **216** : 24~31.
- Wurster, C. F. 1968. DDT reduces photosynthesis by marine phytoplankton. *Science* **159** : 1474~1475.

(1982. 10. 27. 接受)