

경상북도지역의 오염된 토양에서의 중금속 함량에 관한 곤충병원성 선충에 관한 연구

한상미* · 황경숙¹ · 백하주² · 김무식³ · 한명세

경북대학교 농업생명과학대학 곤충병리연구실,
¹목원대학교 미생물학과, ²경상북도 보건환경원 폐수분석과,
³대구보건대학 보건환경학과

A Study of Entomopathogenic Nematode at Heavy Metal Contents in the Polluted Soil of Kyungsangbuk-do Area

Sang-Mi Han*, Kyung-Sook Whang¹, Ha-Ju Baek²,
Moo-Sik Kim³ and Myung-Sae Han

Insect Pathology Laboratory, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

¹*Department of Microbiology, Mokwon University, Taejon, 302-729, Korea*

²*Kyongsangbuk-do Health and Environment Research Institute, Daegu, 702-702, Korea*

³*Department of Health Environment, Daegu Health College, Daegu, 702-722, Korea*

Abstract - The variety and density of entomopathogenic nematodes from the polluted soils of heavy metals were examined. In order to investigate the pollution of heavy metals in soil, 360 sites in kyungsangbuk-do were collected from March to October in 2001. We measured the contents of seven heavy metal elements (Cd, Cu, As, Hg, Pb, Cr⁶⁺, CN) and than choosed soil of 25 sites with high concentration of heavy metals. The seven strains of nematodes were isolated from seven samples by silkworm host (*Bombyx mori mori*) and white trap. Isolated nematodes are composed of two families, one order. The members of Rhabditida were isolated in the soil with mean Cd content of 0.870 ppm. And they were isolated in the soil samples with As content less than 0.745 ppm. However they were isolated regardless of concentration of Cu and Pb. The members of Cyliindrocorpidae were isolated in the soil samples with Cr⁶⁺ content less than 0.05 ppm. Any entomopathogenic nematode was not detected in the CN polluted soil. Isolated nematodes successfully cultured on the silkworm host and were confirmed the pathogenicity, multiplicity, and tolerance against various condition of preservation. Which proved its potential usefulness as biological agent.

Key words : Entomopathogenic nematode, heavy metal elements, Rhabditidae, Cyliindrocorpidae

서 론

* Corresponding author: Sang-Mi Han, Tel. 053-250-7484,
Fax. 053-250-7095, E-mail: hansangmi@hanmail.net

인간에게 독성 및 폐해를 일으킬 수 있는 환경오염물

질은 유류 및 농약등의 유기물질과 무기물질로 구분된다. 특히 무기 환경오염물질인 중금속은 먹이사슬(Food Chain)을 통한 생체축적 및 증폭(Bioaccumulation, Bioamplification)과정을 통해 최종소비자인 인간에게 전달되어, 인간의 활동과 생명에 치명적인 영향을 끼칠 수 있다(Diels *et al.* 1999).

토양은 서식하는 인간, 동 식물, 미생물의 터전이며, 인간에게 식량, 물, 휴식공간을 제공하는 귀중한 자원의 보고이다. 이러한 토양은 오염물질을 분해 또는 완충시키는 역할을 함으로써 환경오염원을 스스로 정화할 수 있는 기능이 있다(Goyer 1997). 그러나, 1970년대 이후 급진적인 산업발전에 따라 배출되는 오염물질은 토양의 허용한계 이상으로 누적되어 토양의 기능을 상실케 하며 토양의 구조를 파괴하고 있다(Wade *et al.* 1993).

최근 우리사회는 인구의 증가 및 고도의 산업화와 도시화의 진행과정 속에 있으며, 광범위한 대기오염 물질이 배출되고 있다. 그러한 오염물질은 대기중에서 복잡한 화학 반응을 거친 후 건성퇴적과 습성퇴적의 형태로 지상부에 도달하여 토양에 누적된다(Mckee 1974; Calabress *et al.* 1985). 건성퇴적의 경우는 산성비의 구성요소인 SO₂, NH₃ 및 O₃ 등이 기체상태로 지상부에 도달하지만, 습성퇴적인 경우는 그러한 대기오염 물질들이 산성비의 형태로 지상부에 도달하는 것을 말한다. 기체상태나 산성비에 의해 이루어진 산성물질의 토양유입은 토양의 산도를 저하시켜 토양속에 축적된 치환성 양이온(Ca²⁺, Mg²⁺ 및 K⁺)의 용탈을 촉진시키게 된다. 특히 이러한 현상은 토양용액으로 Al³⁺와 같은 독성 금속의 용출량을 증가시켜 토양 미생물의 분포수를 변화시키고, 토양의 완충작용을 저하시켜 식물의 성장을 저해하는 결과를 유발하게 된다(Katzung 1989; Day *et al.* 2001). 그러므로 산성비에 의해 유발된 토양의 화학적인 변화는 토양 생물 및 이와 일차적인 관계가 있는 식물 생태계에 큰 피해를 초래하고 있는 것이다.

한국의 대도시와 주요 공업지역 주변에는 pH 4.5 이하의 강산성 농도를 지닌 산성비가 이미 관찰되고 있을 뿐 아니라, 그 범위도 점차 중소도시로 확산되고 있음이 보고되었다(Armitage *et al.* 1983; Rom 1992). 최근들어 공업단지 규모의 확대와 농경지 및 과수재배시 과도한 농약사용 등으로 인한 오염물질의 배출로 인하여 대기 및 토양환경의 오염이 심각한 문제로 대두되었다. 이와 관련하여 대기 및 토양오염에 따른 식생의 변화와 토양 오염으로 유발된 토양 산성화가 산림 생태계에 미치는 영향력이 조사되었다(Klaassen 1980). 또한, 곰팡이의 일종인 지의류(Lichens)나 균근균(Arbuscular Mycorrhizal Fungi)의 분포수에 의거하여 한국의 공업지역 및 도

시지역에서 대기오염이나 토양오염의 정도를 측정하려는 시도가 있었다(Taylor *et al.* 1992). 미생물은 토양속에서 식물체 유기영양분을 이동시키며, 식물 영양원인 금속이온의 순환을 촉진시킴으로서 식물의 생장에 큰 도움을 준다. 특히 토양의 근권부위에 서식하는 토양미생물에 의해 생산된 인돌초산 및 지베렐린과 시토키닌을 포함한 각종 호르몬은 식물의 뿌리를 자극하여 식물의 생장에 도움을 준다고 한다(이 등 1997). 일부 학자들은 토양속에서 균근균이 토양세균과 공생하거나 혹은 균근균이 방선균 및 진균과 공생관계를 지속하는 것은 토양속에서 고정된 질소원을 증가시켜 식물의 성장을 촉진함으로써 식물군락의 안정을 이룰 수 있다고 하였다(Bakir *et al.* 1973; Horada 1978). 그러므로 오염된 토양에 서식하는 토양미생물에 관한 연구는 중요한 의미가 있을 것이다. 식물의 순조로운 생장이 토양속에 있는 여러 가지 인자들의 유기적인 관계를 통해 이루어 진다는 점을 고려해 보면, 산성비와 중금속의 토양오염에 의해 유발된 토양의 생물적 혹은 미생물적인 특징의 변화는 시급히 연구할 필요성이 있다. 그러나 지금까지의 연구는 한국의 공업지역 및 대도시 지역에서 대기오염에 따른 식물 분포수의 조사와 식물 생태계의 피해에만 국한되었을 뿐, 토양오염원에 따른 토양생물의 변화를 조사하여 토양에서 생물적인 인자와 비생물적 인자간에 발생하는 상호 유기적인 관계를 살포보는 연구는 거의 없었다.

따라서 본 연구는 경상북도 지역의 토양을 중금속의 오염정도를 분석하여 오염도가 비교적 심한 지역을 대상으로 선충의 분포현황을 조사함으로써 토양내 오염원과 선충의 상호관계를 규명하였다. 또한, 최근에는 유기합성 농약에 의한 환경오염의 심각성으로 인하여 환경친화적인 생물농약 개발에 많은 노력을 하고 있다. 그 중에서도 특히 곤충병원성 선충은 토양내 해충방제에 있어서 바람직한 생물적 방제인자로 여겨져 왔다. 그러나 이러한 생물농약을 토양에 적용하는데 있어 토양내 잔류하는 중금속 및 유류, 산도는 생물농약인 선충이나 미생물이 생존하고 활동하여 해충을 방제하는데 있어 매우 중요한 인자가 될 수 있다. 이에 본 연구에서 획득된 자료를 통하여 선충의 생물농약으로서의 유용성과 토양 중금속 오염에 관한 간단한 토의를 제공한다.

재료 및 방법

1. 토양 시료의 채취

경상북도 내 23개 시, 군 지역의 오염이 예상되는 360개 지점을 대상으로 2001년 3월부터 6월까지 토양을 채

취하였다. 토양은 표면의 협잡물을 제거한 후 식생, 토양의 색깔 등을 고려하여 5개소를 임의로 선정하고 표면으로부터 15 cm 이하에서 채집하여 골고루 혼합한 다음 4°C의 온도에서 보관하였다.

2. 토양의 분석

토양 오염도의 조사항목은 중금속 오염원으로 비소(As), 카드뮴(Cd), 크롬(Cr⁶⁺), 시안(CN), 구리(Cu), 수은(Hg) 및 납(Pb) 등 7개 항목을 경상북도 보건환경연구원 환경분석과에 의뢰하여 분석하였다.

3. 선충의 분리

토양으로부터 선충의 분리는 한과 한(1999)과 같이 silkworm trap을 사용하였다. 치사한 누에 번데기는 petri dish로 옮기고 실온에서 2~3일 경과한 후 white trap(White 1929)을 설치하여 누에 번데기로부터 선충을 분리하였다.

4. 선충의 동정 및 분류

분리한 선충은 FG 4-1 (formalin : glycerin : 증류수 =

10 : 1 : 89) 고정액으로 고정하고 seinhorst's solution II (glycerin : 96% alcohol = 5 : 95)를 첨가하여 40°C의 항온기에서 24시간 두어 순수 glycerin으로 탈수, 고정하여 표본을 제작하였다.

표본 제작한 선충은 image analyser를 사용하여 형태와 수치를 분석하여 동정하였다.

5. 병원성 검정

10φ petri dish에 2장의 filter paper를 깔고, 공시 선충 500마리/2 ml의 접종액을 준비하여 전량 주입한 다음 누에 유충과 상족후 10일 경과한 번데기 10마리를 투입하였다. 6시간 간격으로 치사율을 조사하였다.

결과 및 고찰

경상북도 전역의 360개 조사지점으로부터 비소, 카드뮴, 시안, 6가 크롬, 구리, 수은 및 납의 7개 중금속 함량을 분석하여 항목당 중금속 오염수치가 높은 5개 지점을 Table 1과 같이 선별하였다. 토양의 중금속 오염우려 기준인 카드뮴 1.5, 시안 2, 6가 크롬 4, 구리 70, 수은 4,

Table 1. Soil pollution reference value used for designing the soil pollution indicates

Heavy metal elements	Number of sites	Cd	Cu	As	Hg	Pb	Cr ⁶⁺	CN
Cd	MF-60	0.840	1.125	0.090	0.0061	2.05	0.00	0.00
CN	MF-65	0.185	0.305	0.000	0.1441	1.35	0.00	0.26
Hg, Pb	MF-67	0.220	7.370	0.072	0.0039	60.00	0.00	0.00
CN	MF-68	0.330	0.420	0.111	0.6510	1.20	0.00	0.29
Cd	MF-73	0.800	13.910	0.107	0.0153	17.90	0.00	0.00
CN	MF-80	0.115	3.635	0.090	0.2885	7.60	0.00	0.26
Cu, Cr ⁶⁺	MF-120	0.270	44.225	0.073	0.0125	13.75	0.15	0.00
Pb, Cr ⁶⁺	MF-126	0.265	24.495	0.057	0.0140	31.25	0.10	0.00
Cr ⁶⁺	MF-142	0.095	0.765	0.084	0.0028	2.60	0.10	0.00
As, Hg, Pb	MK-11	0.540	3.305	0.745	0.0157	89.00	0.00	0.00
Hg	MK-13	0.205	7.155	0.250	0.2885	10.25	0.00	0.10
Cu, Hg	MK-17	0.150	73.300	0.000	0.1203	6.30	0.00	0.00
Hg	MK-19	0.160	3.030	1.050	0.0982	6.40	0.00	0.00
As, Hg	MK-20	0.635	8.500	0.600	0.6510	21.60	0.00	0.00
Cu, Pb	MK-21	0.315	34.975	0.067	0.0139	40.50	0.00	0.00
As	MK-22	0.290	25.275	0.463	0.0123	4.20	0.05	0.00
As, CN	MK-26	0.155	5.450	0.740	0.0112	27.50	0.00	0.13
Cu	ML-3	0.190	42.955	0.219	0.0318	12.90	0.05	0.00
Hg	ML-5	0.370	4.205	0.087	0.1441	0.65	0.00	0.00
Hg	MM-4	0.110	2.940	0.000	0.1276	4.20	0.00	0.00
Cd, CN	MM-5	0.905	4.740	0.388	0.0467	15.50	0.00	0.15
Cr ⁶⁺	MP-12	0.170	4.575	0.037	0.0074	3.95	0.10	0.00
Cd	MP-19	0.870	7.840	0.290	0.0193	11.70	0.00	0.00
Cd, Cu, Pb	MP-32	1.730	70.250	0.104	0.0486	30.50	0.00	0.00
Cr ⁶⁺	MY-4	0.145	13.275	0.315	0.0000	19.10	0.05	0.00

Table 2. LT_{50} and LT_{100} (hr) of the silkworms at different stage of development following exposure to isolated nematodes from heavy metal polluted soil

Nematode strains	$LT_{50}^{a)}$					$LT_{100}^{b)}$				
	2nd	3rd	4th	5th	pupae	2nd	3rd	4th	5th	pupae
MF-65	41	40	41	59	91	53	97	120	- ^{c)}	-
MF-73	30	33	39	48	68	40	42	42	50	144
MK-11	17	18	20	36	57	48	54	57	62	116
MK-22	23	28	34	36	48	50	52	52	64	112
ML- 3	38	38	40	49	88	64	76	-	-	-
MP-19	20	24	25	31	67	48	52	52	68	108
MY- 4	26	32	39	45	48	40	50	54	74	116

^{a)} LT_{50} = 50% lethal time (hr), ^{b)} LT_{100} = 100% lethal time (hr), ^{c)} over 168 hr

납 60 ppm을 초과하는 토양은(서 등 1982; Haygarty *et al.* 1992) 카드뮴 함량이 1.730 ppm인 MP-32와 구리 함량이 73.300 ppm인 MK-17, 70.250 ppm인 MP-32 지점이었다.

25개 선별한 지점의 토양중 7개 지점인 MF-65, MF-73, MK-11, MP-19, MK-22, ML-3 및 MY-4에서 곤충병원성 선충이 분리되었고, 여기에서 분리된 선충명은 그 지점의 이름을 사용하였다.

분리된 곤충병원성 선충은 1목 2과로 분류되었다. 이들 곤충병원성 선충은 두부 감각기관이 papillae형이며 작은 주머니 모양으로 퇴화된 amphide를 확인할 수 있었다. 또한 자성생식기는 반전된 난소 2개를 갖고, 수컷의 생식돌기는 bursa를 형성하는 candal alae가 관찰되어 Rhabditida목으로 동정되었다(Poinar 1979; Lee 2002).

공장지대인 MF-65는 시안, MF-73는 카드뮴 그리고 ML-3 지점은 구리 함유율이 높은 지역으로 여기에서 분리된 선충은 길고 얇은 구강을 갖고 있으며, median bulb가 뚜렷하지 않은 특징을 지닌 Cylirocorpidae과로 동정되었으며 2개의 이빨이 관찰되었다(Adams 1987; Maggenti 1991; Lee 2002). MY-4 지점은 원광석 야적장으로 6가 크롬 함량이 높은 지역으로 역시 Cylirocorpidae과로 동정되었으나 1개의 이빨을 가지고 있어 위에 언급된 2개의 이빨을 가진 선충과는 차이를 보여 주어 다른 분류군으로 고려되나, 정확한 종의 동정은 이루어지지 않았다.

MK-11, MP-19 및 MK-22지점의 토양에서 분리한 곤충병원성 선충은 모두 Rhabditidae과의 특징을 갖고 있었다(Poinar 1979; Dolinski 1998; Lee 2002). 이들 지점은 모두 광산지역으로 시안 함유율이 높았으며 특히 MK-11은 납 함유율도 높았으며 MK-22는 조사지점 중 가장 높은 시안 측정치를 보였다. 이들 선충은 구강 벽이 뚜렷하게 3개의 부분으로 나뉘어지고 이빨은 관찰

Table 3. Number of nematodes reproduced per individual host following inoculation at 5th instar larvae or pupae of the silkworm, *Bombyx mori*, reared on artificial diat (data from 10 replicates)

Nematode strains	5th Instar Larvae (mean \pm SE)	Pupae (mean \pm SE)
MF-65	7,685 \pm 42	9,664 \pm 65
MF-73	28,095 \pm 128	36,500 \pm 158
MK-11	83,240 \pm 135	96,386 \pm 145
MK-22	92,823 \pm 272	107,510 \pm 140
ML- 3	161 \pm 27	230 \pm 32
MP-19	100,550 \pm 756	120,350 \pm 134
MY- 4	95,400 \pm 176	100,620 \pm 122

되지 않았다. 식도는 실린더형 부분인 corpus와 pseudo-bulb 그리고 좁은 부분으로 된 isthmus가 관찰되었고, 판으로 된 end bulb가 확인되었다.

중금속 토양 오염우려기준을 초과하는 지점에서는 모두 선충이 분리되지 않았다. 카드뮴 오염이 심한 지역으로 분류된 지점의 토양에서는 0.870 ppm 이하에서 Cylirocorpidae과와 Rhabditidae과 2과의 선충종이 확인되었으며, 비소에 오염된 토양에서는 0.745 ppm 이하에서, 6가 크롬에 오염된 토양은 0.05 ppm 이하 토양에서 Rhabditidae과 선충 1종이 관찰되었다. 납과 비소, 구리 오염토양에서는 오염농도와 관계없이 Rhabditidae과 선충만이 검출되었다. 그러나, 시안에 오염된 토양에서는 곤충병원성 선충이 검출되지 않았다.

분리된 곤충병원성 선충에 대한 곤충병원성을 알아보기 위하여 누에 유충과 번데기에 대한 LT_{50} 과 LT_{100} 값을 구하였다(Table 2). 각 발육단계에 따라 다소 차이가 있었으나 MK-11, MP-19, MK-22 선충간에 병원성 차이가 없이 강하였다. 그러나 MF-65와 ML-3 선충은 병원성이 매우 낮게 나타났다(Table 2).

곤충병원성 선충을 인공사료로 사육한 5령기 누에 유충과 번데기에서 증식성을 조사한 결과, MP-19 선충은

번데기에 접종 후 120,350 마리가 분리되어 증식성이 가장 우수하였다. 반면 ML-3은 마리에 230 마리에 그쳐 매우 낮은 증식률을 보였다(Table 3).

이상의 결과들로 중금속에 의한 오염 토양은 선충의 곤충병원성 선충의 생존에 불리한 환경으로 작용하여 선충 종 다양성이 일반 토양에 비하여 낮았다(한 등 1999). 또한 선충의 종류에 있어서도 일반 비오염 토양에서 분리되는 선충종과는 차이가 있었다(Dolinski 1998). 곤충병원성 선충의 생존에 미치는 영향은 중금속 종류에 따라 양상이 다르게 나타나는 것으로 보였다. 중금속에 의한 토양 오염은 비록 우려기준을 초과하지 않더라도 낮은 함량의 몇가지 중금속에 의한 오염이 토양 내 존재하는 곤충병원성 선충의 분포에 영향을 주고 있는 것으로 나타났다.

본 연구에서 분리된 곤충병원성 선충은 누에 유충과 번데기에 대한 병원성이 강하고 증식률이 우수하여 생물살충제로의 가능성이 높은 것으로 생각된다. 특히, 환경오염이나 부작용없이 해충의 발생밀도를 억제할 수 있는 생물살충제로의 활용가치가 주목되는 곤충병원성 선충이 포장에 적용시 그 지역내 토양 오염을 고려하여야 할 것이다. 따라서, 토양 오염지역내에 분포하는 병원성이 강하면서도, 불리한 토양환경에 적합한 곤충병원성 선충을 선발, 대량 배양한다면 적용범위가 넓은 생물살충제로서의 활용가치가 높아질 것이다.

그러나 중금속 물질이 곤충병원성 선충에 미치는 보다 직접적인 원인과 함량의 정밀한 분석이 요구되며 또한 분리 선발된 곤충병원성 선충에 대한 정확한 종의 동정과 생태적 특성 및 생활환에 대한 보다 많은 연구가 필요하다.

적 요

경상북도내의 금속광산, 공장 및 공업, 일반폐기물,공단주거지역 및 특수 용수사용지역 등 360곳의 토양을 2001년 3월부터 10월까지 채취하여 토양 오염도를 조사하였다. 토양 오염도는 중금속인 카드뮴, 구리, 비소, 수은, 납, 6가 크롬 및 시안의 7개 항목을 대상으로 하였으며, 그 중 각 항목에서 가장 오염도가 심한 5개 지점을 대상으로 토양내 곤충병원성 선충의 분포를 조사하였다. 토양내 선충은 누에를 이용하여 곤충병원성, 사물기생성 선충을 대상으로 하였으며, white trap을 설치하여 선충을 분리하였다. 카드뮴오염이 0.870 ppm 이하인 지역에서 Rhabditida목 선충 2과가 확인되었으며, 비소에 오염된 토양에서는 0.745 ppm 이하에서 Rhabditidae

과 선충이 확인되었다. 6가 크롬은 0.05 ppm 이하인 토양에서 Cyliindrocorpidae과 선충이 확인되었고, 납과 구리, 시안 오염 지역에서는 오염농도와 관계없이 Rhabditida목 선충 2과가 검출되었다. 그러나, 시안에 오염된 토양과 토양오염우려기준을 초과한 토양에서는 선충이 검출되지 않았다. 이러한 결과는 오염지역내 선충의 분포 밀도는 매우 낮거나 존재하지 않는 것으로 확인되며 토양의 오염은 선충의 생존에 불리한 환경으로 작용하는 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- 서윤수, 문화희, 김인기, 김학엽, 전성환, 지달현. 1982. 토양 중의 중금속 자연함유량에 관한 조사. 국립환경연구소보 4:189-198.
- 이진하, 한강완, 조재영. 1997. 군산 공업단지 인근 논 토양 및 수도체 중 중금속 함량. 한국농화학회 40:342-346.
- 한상미, 한명세. 1999. 남한 토양에서 곤충병원성 선충의 분리. 한국생태학회. 22:255-263.
- Adamson ML. 1987. Phylogenetic analysis of the higher classification of the Nematoda. Canadian J. Zool. 65: 1478-1482.
- Armitage PD, D Moss, JF Wright and MT Furse. 1983. The performanc of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted runnig-water sites. Water Res. 17:333-347.
- Bakir F, SF Damlujis, L Amin-Raki and M Murtadha. 1973. Methylmercury poisoning in Iraq. Science 181: 230-241.
- Calabress EJ, Canada AT and Sacco C. 1985. Trace element and public health. Ann. Rev. Public Health 6:131-146.
- Diels L, M DE Smet, L Hooyberghs and P Corbisier. 1999. Heavy metals bioremediation of soil. Mol. Biotechnol. 12:149-158.
- Dolinski C, G Borgonie, R Schnabel and JG Baldwin. 1998. Buccal capsule development as a consideration for phylogenetic analysis of Rhabditida (Nemata) Development, Genes and Evolution 208:495-503.
- Goyer RA. 1997. Toxic and essential metal interactions. Annu. Rev. Nutr. 17:37-50.
- Haygarty PM, and KC Jones. 1992. Atomospheric deposition of metals to agricultural surface. Biogeochemistry of Trace Metals, Lewis Publishers. 249-276.
- Horada M. 1978. Methyl mercury poisoning due to environmental contamination (Minamata disease). pp 261. In Toxicity of heavy metals in the environmental. Marcel Dekker. USA.

- Katzung BG. 1989. Basic and Clinical Pharmacology. pp. 748–749. Appleton & Lange. USA.
- Klaassen CD. 1980. Heavy metals and heavy metal antagonists. pp. 1615–1637. Macmillan Publishing Co. Inc. United Kingdom.
- Lee DL. 2002. The Biology of Nematodes Taylor & Francis, New York, USA.
- Maggenti AR. 1991. Nematoda: Higher classification. pp. 147–187. In Manual of agricultural nematology. Maecel Dekker. USA.
- Mckee WD. 1974. Environmental problems in medicine. pp. 643–655. Charles C. Thomas. USA.
- Poinar GO. 1979. Rhabditidae. pp. 92–180. In Nematodes for biological control of insects. CRC Pre. USA.
- Rom BG. 1992. Environmental and Occupational medicine. pp. 748–749. Little and Brown. United Kingdom.
- Say R, A Denizli and MY Arica. 2001. Biosorption of cadmium (II), lead (II) and copper (II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Bioresource Technol. 76:67–70.
- Taylor RW, IO Ibeabuchi, KR Sistani and JW Shuford. 1992. Accumulation of some metals by legumes and their extractability from acid mine spoil. J. Environ. Qual. 21:176–180.
- Wade MJ, BK Davis, JS Carlisle, AK Klein and LM Valoppi. 1933. Environmental transformation of toxic metals. Occup. Med. 8:574–601.
- White GE. 1929. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. Science 66:302.

(Received 19 September 2002, accepted 13 November 2002)