

미세조류를 이용한 유기염소계 농약 Endosulfan 및 Endosulfan 분해산물의 독성평가

손호용* · 금은주 · 김종식¹ · 이종복¹ · 권기석²
안동대학교 식품영양학과, ¹안동대학교 생명과학과, ²안동대학교 생명자원과학부

Toxicity Evaluation of Organochloride Pesticide, Endosulfan and its Metabolites Using Microalgae. Sohn, Ho-Yong*, Eun-Joo Kum, Jong-Sik Kim¹, Jung-Bok Lee², and Gi-Seok Kwon². Dept. of Food and Nutrition, and ¹Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ²The School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea – A growth inhibition assay using *Chlorella* sp. AG 10002 based on the OECD 201 standard test procedure was applied to the toxicity testing of endosulfan and its reported metabolites. Comparison of dry cell weight, optical density (OD) at 680 nm, and chlorophyll a concentration indicated that optical density at 680 nm of culture broth is convenient, rapid, and accurate method for cell growth. In this microalgae system, the IC₅₀ values of endosulfan, endosulfan sulfate, endosulfan lactone, and endosulfan ether were determined as 9.45, 18.8, 18.2 and 37.5 mg/L, respectively. In a while, endosulfan diol did not show a significant toxicity up to 50 mg/L. Since endosulfan is liable at acidic or alkaline conditions, treatment of endosulfan in pH 3, 4, and 11 for 3 days resulted in reduced toxicity, as expected. These results suggested that the microalgae system is useful to evaluate various toxic chemicals and provide a new notion for bioremediation of endosulfan in aqueous systems.

Key words: *Chlorella* sp., endocrine disrupting chemicals, endosulfan, toxicity evaluation

현대 정밀화학 산업의 발전은 다양한 기능을 가진 수많은 화학물질의 지속적인 개발 및 생산을 가능하게 하고 있으며, 인간 생활은 이러한 물질의 사용에 크게 의존하고 있다. 특히 국내의 농업기반은 공간 집약적 밀식농법으로 농약, 살충제, 제초제 및 살균제 등의 화학물질을 대량 사용하고 있는 실정이다. 일반적으로 사용된 농약, 살충제, 살균제의 대부분은 공기 중으로 증발하거나, 토양에 흡수되며, 또는 수계로 유입되어 환경을 오염시키게 된다[6, 17]. 따라서 유해 화학물질에 직접 폭로되지 않는 상태에서도, 이러한 화학물질들은 자연계에서의 난분해성 및 생체내 지방질 조직과의 친화성으로 인해 생체 내에 흡수, 잔류, 축적하게 되며, 생물농축(biomagnification) 과정을 통해 인체에까지 이행하게 된다[15]. 인체에 이행된 다양한 오염물질들은 급성독성 뿐만 아니라, 서서히 특정기능을 저하시키는 만성독성이 나타날 수 있으며, 최근에는 인간 호르몬 수용체에 대한 비정상적 결합을 통해 호르몬 이상 작용 및 성의 교란을 나타내는 내분비계 교란활성에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다[18, 23]. 한편, 세포독성이 상대적으로 미약하다고 알려진 내분비계 교란물질들에서 세포내 DNA 및 단백질의 파괴, 산화적 스트레스 유발 등의 다양한 기작에 의해 강력한 세포독

성이 보고[20-22]됨에 따라, 환경 중에 잔류하고 있는 내분비계 교란물질에 대한 세포독성 및 급성독성 평가의 필요성은 점차 증대되고 있다.

Endosulfan (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3, 4-benzodioxathiepin-3-oxide)은 채소나 과일, 목화 등의 재배시 널리 사용되고 있는 광범위 살충제로, 내분비계 교란물질로 보고되어 있다[6, 11, 22]. 그러나 이 유기염소계 살충제는 인체에 독성을 나타내며, 특히 어류에 대해 0.01-10 µg/L의 적은 양으로도 치명적으로 작용하여 독성 구분 Class I으로 분류되며[1, 6], 그 독성기작과 독성평가, 생물학적 제거에 많은 관심이 집중되고 있다. 최근 본 연구진에서는 endosulfan을 포함한 내분비 교란물질들이 고등 생명체에서 산화적 스트레스를 유발하며, 호흡저해에 따른 세포 사멸을 유도함을 보고하였으며[10, 20], 토양, 수계 및 생활 환경에 존재하는 endosulfan을 효율적으로 분해, 제거하기 위한 미생물 제재 개발 및 실용화 연구를 지속적으로 수행하여 왔다[8-11]. 또한 본 연구팀에서는 내분비 교란물질의 이화학적 분석뿐만 아니라 대사산물 및 자연적 분해산물의 독성평가를 위한 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 지렁이(*Lumbricus rubellus*)를 이용한 생물검정 시스템 개발도 진행하여 왔다[20-22]. 그러나 오염물질이 통상, 수계에서 다른 화합물로 전환되며, 심지어 더욱 독성이 강한 물질로 변환될 수 있으며, 수계 생명체에 강한 독성을 나타내는 endosulfan의 경우에도 화학적, 생물학적 분해

*Corresponding author

Tel: 82-54-820-5491, Fax: 82-54-820-5491
E-mail: hysohn@andong.ac.kr

로 인해 endosulfan sulfate, endosulfan diol, endosulfan ether, endosulfan lactone 등으로 변환됨이 알려져 있다[8-11]. 따라서 endosulfan의 수계에서의 독성평가를 위해서는 이미 보고한 동물세포, 효모 또는 지렁이를 이용한 독성평가[20-22]보다 미세조류를 이용하는 것이 보다 효율적이라고 판단된다. 조류는 수중 생태계에서 가장 기본적인 생산자로서 매우 중요하며, 세대기간이 짧아 단시간 내에 독성을 평가할 수 있다는 장점을 가지며, 다양한 산업용수의 생물지표(bio-indicator)로 이용되어져 왔다[1-3, 24]. 또한 *Chlorella vulgaris* 등의 미세조류를 이용하여 화학물질을 96 시간 처리하여 독성을 평가하는 국제지침 역시 마련되어 있으며[5, 12-14, 16], 국내에서도 OECD 201 지침을 이용하여 수계에서의 미세조류 독성평가를 진행하여 왔다[4, 12]. 최근에는 endosulfan을 효율적으로 분해할 수 있는 미세조류 선별도 보고되고 있다[11, 19]. 따라서 본 연구에서는 광범위 살충제로 널리 사용되고 있는 endosulfan의 수계 독성을 평가하기 위해, 미세조류를 이용하여 반수저해농도(IC₅₀)를 결정하고, endosulfan의 화학적, 생물학적 분해산물들의 독성을 비교 평가하였다. 또한 endosulfan을 다양한 pH 상태에서 처리한 후 처리액의 독성을 평가하여 미세조류를 이용한 독성평가의 효율성을 확인하였다. 이러한 결과는 다양한 오염물질 및 대사산물의 상대적인 독성평가 뿐만 아니라, endosulfan의 무독화 균주개발, 무독화 공정개발에 유용하게 이용될 수 있다.

재료 및 방법

실험재료

Endosulfan, endosulfan lactone, endosulfan diol, endosulfan sulfate 및 endosulfan ether는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, U.S.A.)사에서 구입하여 사용하였으며, 각각의 구조는 Fig. 1에 나타내었다. *Chlorella* sp. AG 10002를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 분양받아 사용하였다. Endosulfan 및 이의 전환체들은 acetone에 녹여 사용하였으며, acetone 및 methanol은 각각 Merck Co. (Darmstadt, Germany)의 제품을 사용하였다.

미세조류 배양

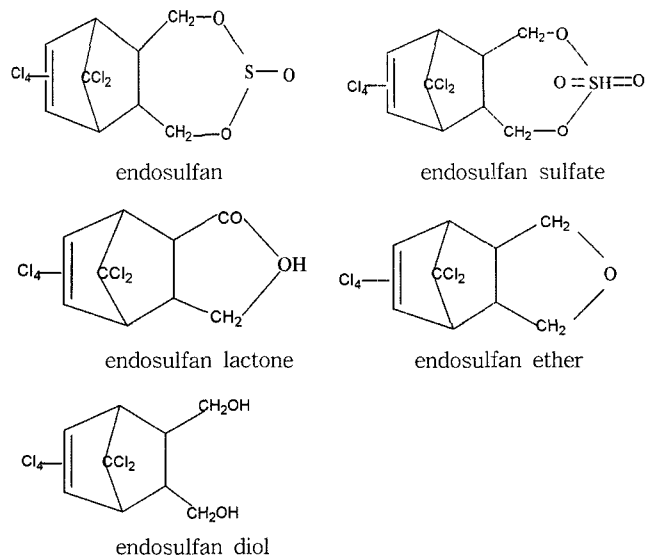


Fig. 1. The structures of endosulfan and its metabolites used in this study.

Chlorella sp. AG 10002는 21°C 생장기(LS-103-2, Lab-Tech Korea, Korea)에서 10일간 전배양 후 사용하였으며, 광도는 5,000 lux로 조절하였으며, 명조건과 암조건을 각각 16 시간과 8시간으로 조절하였다. 배양은 조류배양용 배지 BG11을 이용하였으며, pH 7.2이며, 조성은 Table 1에 나타내었다.

급성 독성시험 및 IC₅₀ 측정

Endosulfan 및 이의 대사산물들에 대한 미세조류의 독성평가는, BG11 배지에 2×10⁵ cell/ml가 되도록 *Chlorella* sp. AG 10002를 접종한 후 96시간동안 배양하면서 세포성장 억제능으로 평가하였으며, 세포 성장은 세포건조중량 측정, 배양액의 680 nm에서의 흡광도 측정 및 chlorophyll a 농도 측정으로 결정하였다. 세포건조중량의 경우에는 0.45 μm membrane filter(Millipore, Ireland), 흡광도 측정에는 UV-Vis spectrophotometer(Hitachi U-3010, Japan)를 사용하였으며, chlorophyll a 농도는 배양액 100 ml를 GF-50 glass fibre paper(Schleicher and Schuell Co., Germany)를 이용하여 미세조류를 회수한 후, 수질오염 공정시험법에 준하여 측정하였다[12]. 반수저해농도(IC₅₀)는 미세조류 배양액에 endosulfan 및 이의 대사산물들을 각각 0, 1, 5, 7.5, 10, 15,

Table 1. Composition of culture medium (BG11) for *Chlorella* sp. AG 10002.

Reagent	Concentration (mg/L)	Reagent	Concentration (mg/L)
NaNO ₃	1500	H ₃ BO ₃	2.86
Na ₂ CO ₃	20	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81
K ₂ HPO ₄	40	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079
Ferric ammonium citrate	6	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.049
Citric acid	6	EDTA	1

25, 30, 50 mg/L의 농도로 첨가한 후, 24시간 간격으로 세포 성장을 측정하면서, 96시간 배양시 50% 생육저해가 나타나는 농도를 linear regression(Sigmaplot 2000, Ver7.0, SPSS Inc. U.S.A.)방법으로 계산하였다.

다양한 pH에서의 endosulfan의 무독성 평가

미세조류를 이용한 독성평가의 효율성을 검토하기 위해, 10 mg/L의 endosulfan이 포함된 BG11 배지(pH 7.2)를 1N HCl 및 1N NaOH 용액을 이용하여 각각 3.0, 4.0, 6.5, 9.0, 및 11.0으로 조정하고, 21°C 생장기에서 3일간 방치하여, 산, 알칼리 용액상태에서 endosulfan의 자연적 변환 및 알칼리 가수분해를 유도하였다[8, 9, 20]. 이후 BG11 배지의 pH를 다시 7.2로 조정하고, 초기 세포농도가 2×10^5 cell/ml가 되도록 *Chlorella* sp. AG 10002를 접종하였다.

Endosulfan의 정량

배지의 잔존 endosulfan 및 endosulfan 전환물질은 HPLC를 이용하여 정량하였다. 먼저 배지 부피의 2배량의 methylene chloride를 첨가하여 10분간 교반 후 상층액을 회수하고, 이를 2회 반복한 후 회수된 상층액은 Speed-Vac (VS-802, Vision Co., Korea)으로 농축하고, 이후 적당량의 methanol에 녹여 분석에 사용하였다. HPLC는 SCL-10A controller, LC-10AD pump, SPD-10A detector(Shimadzu Co., Japan)을 사용하였으며 컬럼은 Mightysil RP-18(Kanto chemical Co. Japan), 용매는 acetonitrile:water(7:3 v/v) 혼합 용액을 사용하였으며, 검출 파장 254 nm, 유속은 1.0 ml/min 조건이었다. 이러한 조건에서 endosulfan diol, endosulfan lactone, endosulfan sulfate, endosulfan ether, β -endosulfan 및 α -endosulfan의 검출시간은 각각 4.98, 6.80, 10.90, 12.40, 15.84, 및 17.52 분이며, 검출한계는 각각 1 μ M이었다.

결과 및 고찰

실험용매 선정 및 세포성장 저해 측정

자연계에 잔류하는 오염물질 중 endosulfan과 같은 난용성 물질들은 실험을 위한 전달 용매가 필요하며, endosulfan의 독성 평가 등에는 통상 acetone과 methanol을 사용하여 왔다[13, 14]. 본 실험에서는 endosulfan 및 endosulfan 전환 물질들을 acetone과 methanol에 녹여, BG11 배지에 첨가하였으며, 배지내 최종농도는 각각 0.2%였다. 이 경우 acetone과 methanol 자체가 미세조류 성장에 심각한 영향을 나타내지는 않았으나, acetone 사용의 경우 methanol 사용보다 상대적으로 미미한 성장저해가 나타났다(결과 미제시). 따라서 본 실험에서는 대상 화학물질들을 acetone에 녹여 사용하였다.

한편 세포 성장저해를 손쉽게 측정하기 위해, 세포조건 중량과 배양액의 흡광도, chlorophyll a의 농도의 상호 연관관

계를 평가하였다. 그 결과 세포 건조중량(DCW)과 흡광도(OD)는 직선 비례관계를 나타내었으며, $DCW=302.57 OD-8.396$ 의 상관식을 얻을 수 있었다(Fig. 2a). 이는 Kasai 등[5]의 보고한 세포농도 및 세포수는 680 nm의 흡광도와 잘 일치한다는 내용과 일치한다. 또한 미세조류 세포성장 지표로 사용되어 온 chlorophyll a 농도(Chl a)[7, 12]와 배양액의 흡광도(OD)의 상관관계 분석결과 $Chl a=1671.9 OD+42.82$ 의 비례식을 나타내었다(Fig. 2b). 비록 Lee 등[12]은 660 nm의 흡광도와 chlorophyll a 농도가 잘 일치한다는 보고를 하였으나, 680 nm에서의 흡광도와도 잘 일치함을 알 수 있

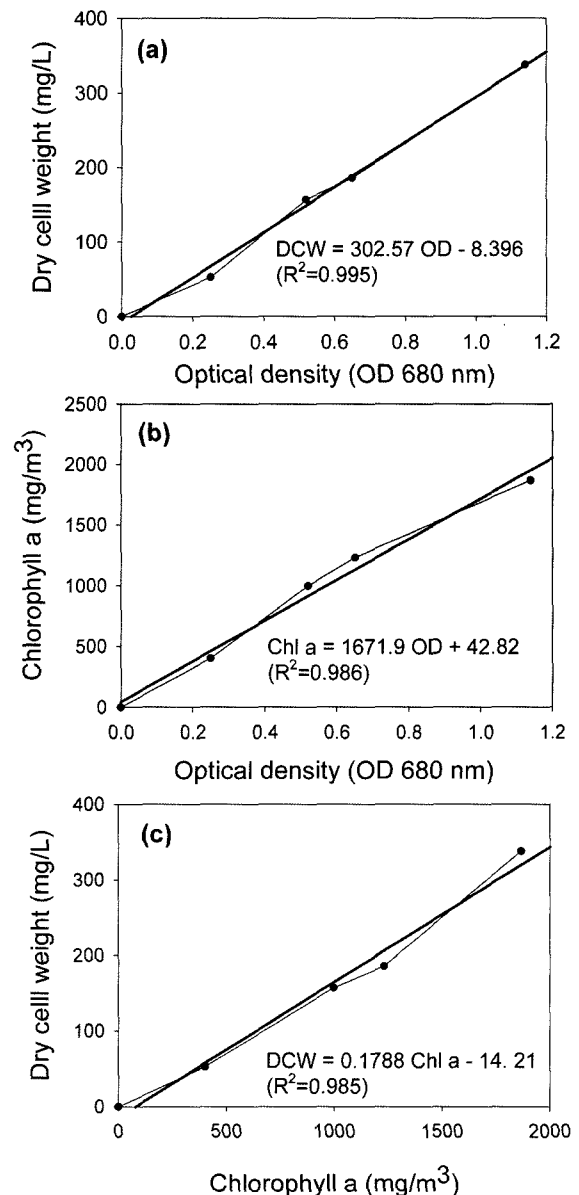


Fig. 2. The linear relationships between (a) dry cell weight and cell OD, (b) chlorophyll a concentration and cell OD, and (c) dry cell weight and chlorophyll a concentration in *Chlorella* sp. AG10002.

었다. 따라서 세포생육 평가는 660 nm 및 680 nm에서 모두 가능하리라 추측되며, 실제 사용된 기본배지에서는 680 nm에서의 흡광도가 660 nm에서보다 3~5% 정도 낮은 값을 나타내어, 보다 정확한 평가가 가능하리라 판단되었다. 이러한 결과는 세포건조중량과 chlorophyll a 농도가 직선관계에 있음을 고려할 때(Fig. 2c), 680 nm에서 흡광도 측정이 간편하면서도 정확하게 세포 성장을 결정할 수 있음을 알 수 있으며, 이 후 실험에서의 세포성장은 680 nm의 흡광도로 표시하였다.

Endosulfan 및 이의 전환체들의 독성평가

초기 흡광도 0.2로 조정된 미세조류 배양액에 다양한 농도의 endosulfan을 첨가하여 96시간 배양하면서 경시적으로 배양액의 흡광도를 측정하여 생육저해 독성을 평가하였다. 그 결과 농도 증가에 따라 독성이 비례적으로 증대되었으며, 특히 1 mg/L의 endosulfan 처리시에도 생육도는 76% 정도로 감소되어(Fig. 3), endosulfan의 강한 독성을 확인할 수 있었다. 또한 25 mg/L 및 50 mg/L의 고농도 처리시에는 생육이 완전히 정지되었으며, 실제 흡광도는 0.15 정도로 초기 세포농도보다 오히려 약한 감소가 나타났다. 이는 세포수의 급격한 감소가 없음을 고려할 때, endosulfan의 고농도 처리시 chlorophyll a 합성 억제 및 색소파괴가 나타나는 것

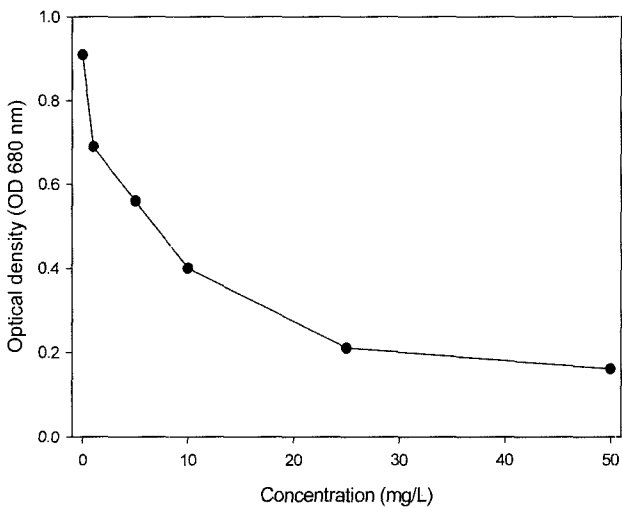


Fig. 3. Concentration-dependent growth inhibition of *Chlorella* sp. AG10002 by treatment of endosulfan.

으로 추측된다. 실제 Tandon 등[24]은 endosulfan의 독성을 *Anabaena*를 이용하여 측정한 결과 1 mg/L에서도 독성이 나타나며, 20 mg/L에서 생육이 약 50% 저해됨을 보고하였고, 50 mg/L에서는 *Anabaena*가 bleaching 됨을 보고하였다. 그러나 Ma 등이 보고[13, 14]한 paraquat, diuron, fenoxaprop, nicosulfuran, pendimethalin, atrazine, simazine, cyanazine, prometryne, isoproturon 등의 제초제들의 IC₅₀가 통상 1 mg/L 정도임을 감안하면 endosulfan의 독성은 미세조류에게 제초제보다 맹독성으로 작용하지는 않음을 알 수 있으며, 제초제 중에서는 Diclofop-p, haloxyfop-R, flumetsulam, Anilfos, butachlor와 유사한 독성정도를 나타내었다. 동일한 실험을 0, 1, 5, 7.5, 10, 15, 25, 30, 50 mg/L의 농도의 endosulfan 및 알려진 대사산물들에 대해 수행하고, linear regression을 통해 반수저해농도(IC₅₀)를 각각 결정하였다 (Table 2). 그 결과, 독성정도는 endosulfan > endosulfan sulfate > endosulfan lactone > endosulfan ether 순으로 나타났으며, endosulfan diol은 50 mg/L 농도까지 반수저해가 나타나지 않았다. 따라서, endosulfan의 경우 고독성 (highly toxic, IC₅₀: 5~10 mg/L)으로, endosulfan sulfate, endosulfan lactone, endosulfan ether는 중등독성 (moderately toxic, IC₅₀: 10~50 mg/L)으로, endosulfan diol은 경독성 (slightly toxic, IC₅₀: 50~100 mg/L) 이하의 독성을 가지는 것으로 확인하였다. 통상 토양 및 수계에서 endosulfan이 endosulfan sulfate로 전환되며[9-11], 알카리 조건하에서는 endosulfan diol로 전환[8, 9]됨을 고려할 때, 수계에서는 알카리 처리와 같은 적절한 방법을 통해 endosulfan을 endosulfan sulfate보다는 endosulfan diol로 분해하는 것이 필요하리라 판단된다.

다양한 pH 처리후의 endosulfan의 독성 평가

Endosulfan의 무독화 처리가능성과 미세조류 독성평가 시스템을 확인하기 위해 10 mg/L의 endosulfan을 pH 3.0, 4.0, 6.5, 9.0, 및 11.0의 BG11배지에 각각 첨가하고, 21°C 생장기에서 3일간 처리하였다. 처리 후, 배지내의 잔존 endosulfan 및 분해산물들을 HPLC를 이용하여 정량한 결과, endosulfan은 pH 3.0, 4.0, 6.5, 9.0, 및 11.0에서 각각 6.7, 7.4, 9.5, 8.1, 5.1 mg/L가 잔존하여, pH 4 이하의 산성 조건 및 pH 11의 알카리조건에서 endosulfan이 분해됨을 알 수 있었다. 또한 endosulfan 분해산물로는 endosulfan diol과 미확인 물질peak이 검출되었으며, 각각의 pH에서 endosulfan

Table 2. The IC₅₀ values of endosulfan and its metabolites determined by *Chlorella* sp. AG10002.

Chemicals	IC ₅₀ (mg/L)	Regression equation ^a	Coefficient correlation
endosulfan	9.45	P = 1.01939-0.05426C	0.9422
endosulfan sulfate	18.8	P = 1.00649-0.02685C	0.9983
endosulfan lactone	18.2	P = 0.99069-0.02716C	0.9965
endosulfan ether	37.5	P = 1.01271-0.01365C	0.9747
endosulfan diol	>50	- ^b	-

^aP and C stand for relative growth inhibition (0≤P≤1) and concentration of endosulfan or its metabolites, respectively. ^b-: not determined.

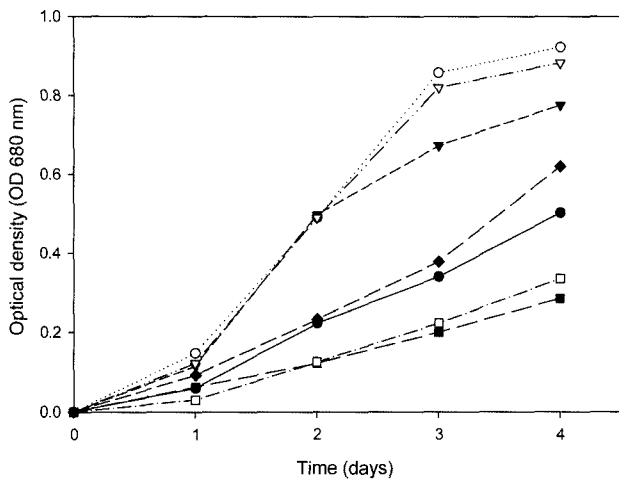


Fig. 4. Changes of endosulfan toxicity after treatment of endosulfan in different pHs for 3 days determined by growth inhibition of *Chlorella* sp. AG10002. ○: No treatment, ●: 10 mg/L endosulfan without pretreatment, 10 mg/L endosulfan treated at ▼: pH 3.0, ▽: pH 4.0, ■: pH 6.5, □: pH 9.0, ◆: pH 11.0.

diol의 농도는 0.85, 0.38, 0.32, 2.02, 4.71 mg/L가 확인되어, 기존의 보고에서처럼 알칼리조건에서 endosulfan은 주로 endosulfan diol로 분해됨[8, 9]을 확인하였다. 이후, 다양한 pH에서 endosulfan을 처리한 배지에 다시 미세조류를 접종하여 endosulfan 및 분해산물들이 포함된 배지의 독성을 미세조류 성장저해를 통해 평가하였으며, 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 무처리구에서는 정상적인 성장이 나타났으며, 10 mg/L endosulfan을 처리한 경우 세포생육이 54%로 감소되었다. 그러나 pH 3.0, 4.0, 및 11.0에서 3일간 전 처리한 endosulfan의 경우, 세포생육은 각각 84%, 95% 및 67%로 독성이 감소되었으며, pH 6.5 및 pH 9.0에서는 세포생육이 각각 31% 및 36%로 나타났다. 따라서, endosulfan을 알칼리 처리시에 미세조류에 대한 무독화가 가능함을 확인하였다. 그러나 pH 3, 또는 4 처리시에, pH 11 처리시보다 상대적으로 endosulfan의 잔존농도가 높음에도 불구하고, 미세조류의 우수한 성장이 나타났는데, 이에 대한 기작은 차후 규명하여야 할 것이다. 현재로는, pH 3, 또는 4의 산성조건에서 만들어진 endosulfan 분해산물, 또는 전환체가 미세조류 성장을 촉진시키는 효과, 또는 endosulfan의 독성을 상쇄시키는 효과가 있을 것으로 추측된다. 이러한 결과는 화학적 분석에 따른 endosulfan의 독성추측법과 함께, 생물학적 독성평가의 필요성을 제시하고 있으며, 또한 특정 오염물질뿐만 아니라 오염물질의 전환체 및 대사산물의 독성평가도 필요함을 제시한다. 또한 본 연구결과는 미세조류를 이용한 수계에서의 오염물질 독성평가가 효율적임을 확인하였으며, 이러한 생물독성평가를 기반으로 하여, endosulfan의 무독화 공정개발 및 무독화 균주개발 등에 이용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 BioGreen21사업(과제번호: 200503010344210060200) 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- DeLorenzo, M. E., L. A. Taylor, S. A. Lund, P. L. Pennington, E. D. Strozier, and M. H. Fulton. 2002. Toxicity and bioconcentration potential of the agricultural pesticide endosulfan in phytoplankton and zooplankton. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **42**: 173-181.
- Fernandez, M. D., E. Cagigal, M. M. Vega, A. Urzelai, M. Babin, J. Pro, and J. V. Tarazona. 2005. Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **62**: 174-184.
- Ferrando, M. D., E. Sancho, E. and Andreu-Moliner. 1991. Comparative acute toxicities of selected pesticides to *Anguilla anguilla*. *J. Environ. Sci. Health B.* **26**: 491-498.
- Jung, H., J.-H. Lee, E. Y. Kim, and H. J. Chae. 2005. Toxicity test of biodiesel and biodiesel-derived neopentyl polyol ester lubricant oil base using microalgae. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **20**: 55-59.
- Kasai, F., N. Takamura, and S. Hatakeyama. 1993. Effect of smetyne on growth of various fresh water algae taxa. *Environ. Pollut.* **79**: 77-83.
- Kaur, I., R. P. Mathur, S. N. Tandon and P. Dureja. 1998. Persistence of endosulfan (technical) in water and soil. *Environ. Tech.* **19**: 115-119.
- Kobbia, I. A., M. G. Battah, E. F. Shabana, and H. M. Eladel. 2001. Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic activity as tools for the evaluation of simazine toxicity to *Protosiphon botryoides* and *Anabaena variabilis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **49**: 101-105.
- Kwon, G.-S., J.-E. Kim, T.-K. Kim, H.-Y. Sohn, S.-C. Koh, K.-S. Shin, and D.-G. Kim. 2002. *Kebsiella pneumoniae* KE-1 degrades endosulfan without formation of the toxic metabolite, endosulfan sulfate. *FEMS. Microbiol. Lett.* **215**: 255-259.
- Kwon, G.-S., H.-Y. Sohn, K.-S. Shin, E. Kim, and B.-I. Seo. 2005. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Kelbsiella oxytoca* KE-8. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67**: 845-850.
- Lee, J.-B., H.-Y. Sohn, E.-J. Kum, K.-S. Shin, M.-S. Jo, J.-E. Kim, and G.-S. Kwon. 2006. Isolation of a soil bacterium capable of biodegradation and detoxification of endosulfan and endosulfan sulfate. *J. Agric. Food. Chem.* **54**: 8824-8828.
- Lee, S. E., J. S. Kim, I. R. Kennedy, J. W. Park, G. S. Kwon, S. C. Koh, and J. E. Kim. 2003. Biotransformation of an organochlorine insecticide, endosulfan, by *Anabaena* species.

- J. Agric. Food. Chem.* **51**: 1336-1340.
12. Lee, Y. D., I. B. Ko, and W. S. Shin. 2005. Toxicity assessment of biocide using *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Kor. Soc Water Quality* **21**: 332-336.
 13. Ma, J., L. Xu, S. Wang, R. Zheng, S. Jin, S. Huang, and Y. Huang. 2002. Toxicity of 40 herbicides to the green alga *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **51**: 128-132.
 14. Ma, J., S. Wang, P. Wang, L. Ma, X. Chen, and R. Xu. 2006. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **63**: 456-462.
 15. Maul, J. D., J. B. Belden, B. A. Schwab, M. R. Whiles, B. Spears, J. L. Farris, and M. J. Lydy. 2006. Bioaccumulation and trophic transfer of polychlorinated biphenyls by aquatic and terrestrial insects to tree swallows (*Tachycineta bicolor*). *Environ. Toxicol. Chem.* **25**: 1017-1025.
 16. OECD. 1984. OECD 201: Alga, growth inhibition test, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)
 17. Patin S. A. 1982. Pollution and biological resources of the oceans, butter worth. Scientific press, London, pp 80-109.
 18. Sekine, Y., T. Yamamoto, T. Yumioka, S. Imoto, H. Kojima, and T. Matsuda. 2004. Cross-talk between endocrine-disrupting chemicals and cytokine signaling through estrogen receptors. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **315**: 692-698.
 19. Sethunathan, N. M. Megharaj, Z. L. Chen, B. D. Williams, G. Lewis, and R. Naidu. 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, alpha-endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate of liquid medium and soil. *J. Agric. Food Chem.* **52**: 3030-3035.
 20. Sohn, H.-Y., C.-S. Kwon, G.-S. Kwon, J. B. Lee, and E. Kim. 2004. Induction of oxidative stress by endosulfan and protective effect of lipid-soluble antioxidants against endosulfan-induced oxidative damage. *Toxicol. Lett.* **151**: 357-365.
 21. Sohn, H.-Y., H.-J. Kim, E.-J. Kum, J.-B. Lee, and G.-S. Kwon, 2006. Simple and rapid evaluation system for endosulfan toxicity and selection of endosulfan detoxifying microorganism based on *Lumbricus rubellus*. *Kor. J. Life. Sci.* **16**: 108-113.
 22. Sohn, H.-Y., H.-J. Kim, E.-J. Kum, M.-S. Cho, J.-B. Lee, J.-S. Kim and G.-S. Kwon. 2006. Toxicity evaluation of endocrine disrupting chemicals using human HepG2 cell line, *Lumbricus rubellus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Life. Sci.* **16**: 919-924.
 23. Staples, C. A., P. B. Dorn, G. M. Klecka, S. T. O'Block, and L. R. Harris. 1998. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere* **36**: 2149-2173.
 24. Tandon, R. S., R. Lal, and V. V. Narayana Rao. 1988. Interaction of Endosulfan and malathion with blue-green algae *Anabaena* and *Aulosira fertilissima*. *Environ. Pollut.* **52**: 1-9.

(Received Nov. 15, 2006/Accepted Dec. 6, 2006)