

## 해산 규조류(*Skeletonema costatum*)의 개체군 성장률 분석을 이용한 신방오도료(Irgarol, Diuron)의 독성평가

이주욱 · 최훈 · 박윤호 · 이승민 · 최윤석 · 허승 · 황운기\*

국립수산과학원 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위해평가센터

## Toxic Evaluation of Antifouling Paint (Irgarol and Diuron) using the Population Growth Rate of Marine Diatom, *Skeletonema costatum*

Ju-Wook Lee, Hoon Choi, Yun-Ho Park, Seung-Min Lee, Yoon-Seok Choi, Seung Heo, Un-Ki Hwang\*

Marine Ecological Risk Assessment Center, West Sea Fisheries Research Institute,  
National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Korea

### Corresponding Author

Un-Ki Hwang

Marine Ecological Risk Assessment Center,  
West Sea Fisheries Research Institute,  
National Institute of Fisheries Science,  
Incheon 22383, Korea  
E-mail : vngi1@korea.kr

Received : March 16, 2020

Revised : March 17, 2020

Accepted : May 13, 2020

Irgarol과 diuron에 각각 노출된 해산규조류(*Skeletonema costatum*)의 개체군 성장률( $r$ )을 분석하여 독성평가를 실시하였다. *S. costatum*을 irgarol (0, 0.31, 0.63, 1.25, 2.5, 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ )과 diuron (0, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125  $\mu\text{g l}^{-1}$ )에 각각 96시간 노출하여  $r$ 을 계산하였고, 대조구의  $r$ 은 0.04 이상으로 시험기준에 적합하였다. *S. costatum*의  $r$ 은 irgarol에서 0.63  $\mu\text{g l}^{-1}$ , diuron은 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$  이상에서 대조구 대비 유의하게 감소하기 시작하여 irgarol과 diuron의 농도가 증가할수록  $r$ 이 감소하는 농도의존적인 반응을 나타냈고, 시험 최고농도 5와 125  $\mu\text{g l}^{-1}$ 에서  $r$ 이 대조구 대비 80% 이상 감소하였다. Irgarol과 diuron에 노출시킨 *S. costatum*  $r$ 의 반수영향농도( $\text{EC}_{50}$ )는 1.09, 45.45  $\mu\text{g l}^{-1}$ , 무영향농도(NEC)는 0.31, 7.81  $\mu\text{g l}^{-1}$ , 최소영향농도(LOEC)는 0.63, 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$ 으로 나타났으며,  $\text{EC}_{50}$  기준으로 irgarol이 diuron보다 독성이 큰 것으로 나타났다. 본 연구결과로 해양 생태계에서 Irgarol과 diuron의 농도가 0.63과 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$  이상이 되면, 해산 규조류 *S. costatum*의  $r$ 은 독성영향을 받을 것으로 판단된다. 또한, 독성 값으로 제시된 결과들은 irgarol과 diuron의 기준농도 설정을 위한 기초자료로 유용하게 활용될 것이다.

We evaluated the toxic effects of antifouling paint (irgarol and diuron) on the population growth rate ( $r$ ) of the marine diatom, *Skeletonema costatum*. The  $r$  of *S. costatum* was determined after 96 hrs of exposure to irgarol (0, 0.31, 0.63, 1.25, 2.5 and 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) and diuron (0, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5 and 125  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). It was observed that  $r$  in the control (absence of irgarol and diuron) were greater than 0.04, while  $r$  in the treatment groups decreased with increasing irgarol and diuron concentrations. Irgarol and diuron reduced  $r$  in a dose-dependent manner with significant decreases occurring at concentrations above 0.63 and 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$ , respectively. The  $\text{EC}_{50}$  values of  $r$  in irgarol and diuron exposure were 1.09 and 45.45  $\mu\text{g l}^{-1}$ . No observed effect concentration (NEC) were 0.31 and 7.81  $\mu\text{g l}^{-1}$ , the lowest observed effect concentration (LOEC) were 0.63 and 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$ . This result indicate that a concentration of greater than 0.63  $\mu\text{g l}^{-1}$  of irgarol and 15.63  $\mu\text{g l}^{-1}$  of diuron in marine ecosystems induced to decreasing  $r$  of *S. costatum*. Also, these toxic values can be useful as a baseline data for the toxic evaluation of irgarol and diuron in marine ecosystems.

**Keywords:** Antifouling agent(방오도료), Irgarol(이가롤), Diuron(디유론), Toxicity(독성), Marine diatom(해산규조류)

## 서론

Marine biofouling은 해수에 노출된 구조물의 표면에 미생물, 식물 및 수생 동물이 부착 및 축적되어 발생하며, 해양산업에서 경제적인 손실을 일으킨다(Amara et al., 2018; Silkina et al., 2012; Yee et al., 2016). 특히 선박의 경우, 표면에 축적되는 해양생물로 인해 연료소비의 증가 및 선체 유지보수에 따른 비용상승으로 경제적인 손실이 발생하고 있다(Soroldoni et al., 2017; Yee et al., 2016). 이러한 해양생물의 부착 및 축적을 방지하기 위해 방오도료가 개발되었고, 유기주석화합물(Tributyltin, TBT)로 대표되는 TBTO (Tributyltin oxide), TBTF (Tributyltin fluoride) 및 TBT 기반 SPC 페인트가 가장 보편적으로 사용되었다(Amara et al., 2018). 하지만 어패류에서 imposex를 유발할 뿐만 아니라, 미세조류(*Thalassiosira pseudonana*)의 성장을 억제하고 무척추동물 성체(*Hemicentrotus pulcherrimus*)와 멍게(*Ciona intestinalis*)의 배아발달을 방해하였으며, 어류 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 배아의 기형 및 사망을 유도하는 등 다양한 생물의 생식생리에 문제를 일으키는 등 강한 독성영향으로 2008년 국제해사기구(IMO)에서 사용을 금지하였다(Amara et al., 2018; Lee et al., 2019; Moon et al., 2019; Zhang et al., 2019b). 현재 TBT 대체물질로 아산화동(copper oxide)을 사용하고 있으나 TBT에 비해 방오능력이 낮아, chlorothalonil, dichlofluanid, diuron, irgarol 1051, sea-nine 211, ziram, zinc pyrihtione 및 copper pyrihtione 등과 같은 신방오도료를 추가하여 아산화동의 부족한 방오능력을 보완하고 있다(Chen et al., 2015; Jung et al., 2017; Shin et al., 2015).

Irgarol (2-methylthiol-4-*tert*-butylamino-6-cyclopropylamino-*s*-triazine)과 diuron (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea)은 전 세계적으로 상업용 방오페인트에 광범위하게 사용되는 물질이다(Konstantinou and Albanis, 2004). Irgarol과 diuron은 낮은 독성을 목표로 개발되었기 때문에 TBT에 비해 상대적으로 독성이 낮다고 알려져 있지만, booster biocide 특성상 TBT와 마찬가지로 플랑크톤, 산호 및 어류 등에게 독성영향을 미칠 수 있다(Fernandez-Alba, 2002; Ishibashi et al., 2018; Lee et al., 2010). 또한, 현재 사용되고 있는 chlorothalonil, dichlofluanid, sea-nine 211, ziram, zinc pyrihtione 및 copper pyrihtione과 같은 신방오도료보다 수생태계에 오랜시간 잔류할 수 있어 해양생태계에 지속적으로 독성영향을 미칠 가능성이 충분하다(Marcheselli et al., 2010; Konstantinou and Albanis, 2004).

Irgarol은 광합성을 억제하는 강력한 *s*-triazine 계열의 제초제(herbicide)로써 해양산업 전반에 사용되고 있고(Ishibashi et al., 2018; Zhang et al., 2019a), 해수에 용해도(7 mg l<sup>-1</sup>)가 낮지만 반감기가 약 100~350일이며 생분해가 거의 불가능하여 해양환경에 잔류 가능성이 높다고 알려져 있다(Konstantinou and Albanis, 2004; Moon et al., 2019; Zhang et al., 2019a). Diuron 또한 phenylurea 그룹의 광합성을 억제하는 제초제로 주로 선박 선체에 사용되며

(Khanam et al., 2017; Konstantinou and Albanis, 2004), 해수 용해도(35 mg l<sup>-1</sup>)가 높고 반감기가 약 43~2,180일로 irgarol 보다 해양 환경에 더 오래 잔류할 수 있다(Konstantinou and Albanis, 2004; Okamura, 2002; Thomas, 2001).

본 연구는 irgarol과 diuron의 생태위해성을 평가하기 위해 *Skeletonema costatum*의 개체군 성장률(*r*)을 이용하여 독성평가를 실시하였다. *S. costatum*의 *r*을 이용한 독성평가는 국제적으로 널리 이용되는 생태독성시험 방법으로(ISO, 1995; Lee et al., 2017), 중금속 및 유기오염물질의 독성을 평가하기 위한 기법으로 널리 활용되고 있다(Lee et al., 2017, 2019). 또한, *S. costatum*은 우리나라 서남해역에서 가장 우점하고 있는 대표적인 미세조류로(Yoon, 2016), 육상식물 종과도 유사한 광합성 기능을 가지고 있어(Ensminger et al., 2001; Khanam et al., 2017), 제초제(herbicide) 성분으로 만들어진 irgarol과 diuron의 독성을 평가하기 위한 실험생물로 매우 적절한 것으로 판단된다. 본 연구에서는 Irgarol과 diuron에 노출된 *S. costatum* *r*의 무영향농도(No-Observed Effect Concentration; NOEC), 최소영향농도(Lowest-Observed Effect Concentration; LOEC) 및 반수영향농도(50% Effective Concentration; EC<sub>50</sub>)를 도출하여 *S. costatum*에 대한 방오도료의 독성 값을 나타냈으며, 이러한 자료는 해양생태계 내에서 이들 물질의 기준농도를 설정하기 위한 귀중한 자료로 활용될 것이다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험생물

시험생물은 해산규조류 *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve이며, 한국해양미세조류은행(Korean Marine Microalgae Culture Center, KMMCC)에서 분양받아 항온실에서 6개월 이상 계대배양하였다. 배양온도는 20.0±1.0°C, 광량은 형광등을 이용하여 3,000~4,000 Lux, 광주기는 10 Light : 14 Dark를 유지하며 f/2 배지로 배양하였다(Lananan et al., 2013).

### 2. 시험물질 농도조성

시험에 사용된 irgarol (irgarol, Sigma-aldrich, USA)과 diuron (diuron, Sigma-aldrich, USA)은 DMSO (Dimethylsulfoxide, Sigma-aldrich, USA)에 녹여 10,000 mg l<sup>-1</sup>의 stock solution으로 제조하였다. Irgarol과 diuron의 stock solution을 멸균된 자연해수로 희석하여 irgarol (0, 0.31, 0.63, 1.25, 2.5, 5 µg l<sup>-1</sup>)과 diuron (0, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125 µg l<sup>-1</sup>)의 농도를 조성하였다. 시험용액제조에 사용된 DMSO는 최대농도는 0.01%에서 96시간 노출하여 대조구 대비 *S. costatum*의 개체군 성장률에 영향을 미치지 않는 것을 확인하였고(Okumura et al., 2001), 시험에 사용된 방오도료의 농도범위는 irgarol (0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg l<sup>-1</sup>), diuron (0.01, 0.1, 1,

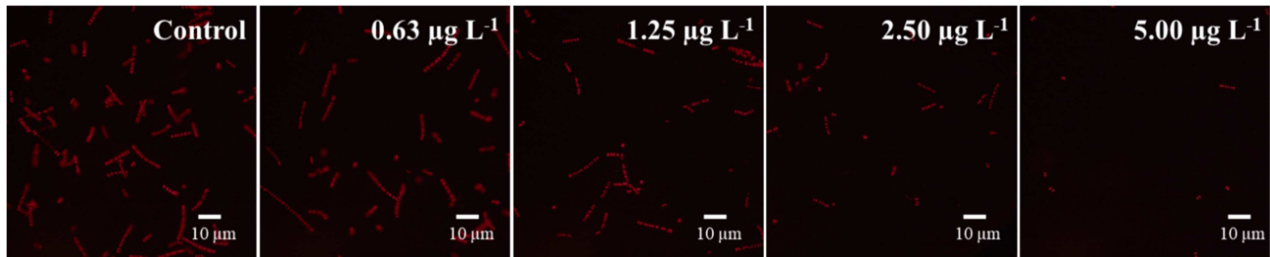


Fig. 1. Cell density of *Skeletonema costatum* exposed at different concentrations of Irgarol.

Table 1. Experimental culture condition of *Skeletonema costatum*

Items	Conditions
Culture type	Static non-renewal toxicity test
Photoperiod	Ambient light condition and 10 L : 14 D period
Light intensity	3,000~4,000 Lux
Temperature	20.0±1.0°C
Salinity	30.0±1.0 psu
pH	8.0±0.2
Chamber volume	50 ml test tube
Solution	Filter (0.45 µm) and sterilized seawater
Solution change	None
Test solution volume	30 ml
Culture medium	f/2 medium
Initial cell density	5,000 cells ml <sup>-1</sup>
Experiment period	96 hrs
Acceptability criterion	>0.04 population growth rate by the hour

100 µg l<sup>-1</sup>)의 예비실험을 통하여 적절한 범위로 설정하였다.

### 3. 시험 배양조건

시험 용액을 각 농도별로 50 ml test tube에 30 ml씩 총 3반복 분주하고 f/2 배지를 첨가하였다. *S. costatum*은 정량 분석을 위하여 SR chamber와 inverted microscope (IX70, Olympus, Japan)로 계수하고 초기농도 5,000 cells ml<sup>-1</sup>의 세포밀도로 각 시험 용액에 분주하였다. 시험 배양은 조도 3,000~4,000 lux, 배양온도는 20.0±1.0°C, 광주기 10 Light : 14 Dark로 유지하며 96시간 배양하였고 자세한 배양조건은 Table 1에 나타내었다(MOF, 2018).

### 4. 개체군 성장률 측정

*S. costatum*의  $r$ 을 측정하기 위해 fluorometer (Model 10-AU, Tuner designs, USA)를 이용하여 24시간 간격으로 각 시험관의 형광량을 측정하였고, 96시간 후 최종 형광량을 측정하였다. *S. costatum*의 개체군 성장률( $r$ )은 형광량으로 측정된 클로로필 농도를 회귀방정식을 이용하여 세포밀도로 환산한 후(형광량=세포밀도) 아래와 같은 계산식으로 도출하였고, 대조구의  $r$ 이 0.04 이상일 경우에 유의한 시험결과로 판단하였다(MOF, 2018).

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

( $r$ =개체군 성장률,  $N_t$ =실험종료 후 세포밀도,  $N_0$ =초기 세포밀도,  $t$ =배양시간)

### 5. 통계 분석

대조구와 실험군 사이의 유의성은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc. USA)의 Student's  $t$ -test로 검정하였으며,  $p$ 가 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판단하였다. 방오도료 독성시험 결과 *S. costatum*의  $r$ 에 대한 반수영향농도(EC<sub>50</sub>)와 95% 신뢰구간(95% fiducial limit)은 Toxiccalc software (Toxiccalc 5.0, Tidepool scientific software, USA)의 probit 통계법을 사용하여 분석하였고, 무영향농도(NEC)와 최소영향농도(LOEC)는 Dunnett's test를 사용하여 분석하였다.

## 결 과

### 1. Irgarol이 *S. costatum*의 $r$ 에 미치는 영향

Irgarol이 *S. costatum*의  $r$ 에 미치는 영향은 Fig. 1, 2에 나타냈으며, 대조구의  $r$ 은 0.04 이상으로 해양환경공정시험법 해양생물공정시험기준(2018)에 적합하였다. *S. costatum*의  $r$ 은 최소농도 0.31 µg l<sup>-1</sup>에서 0.0415±0.0020으로 대조구 0.0415±0.0012와 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 0.63 µg l<sup>-1</sup>부터  $r$ 이 유의적( $p<0.01$ )으로 급격하게 감소하기 시작하여 1.25 µg l<sup>-1</sup>에서 55% 이상( $p<0.01$ )

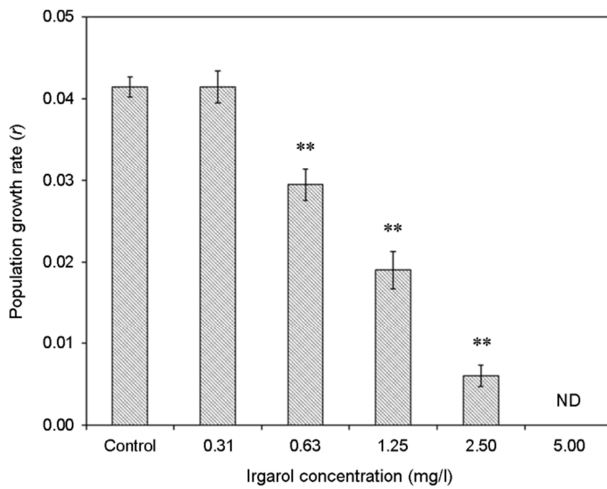


Fig. 2. Change of population growth rate of *Skeletonema costatum* exposed to irgarol. Vertical bars represent means  $\pm$  SD for three replicates. ND: not detected. \*\* $p < 0.01$  for control.

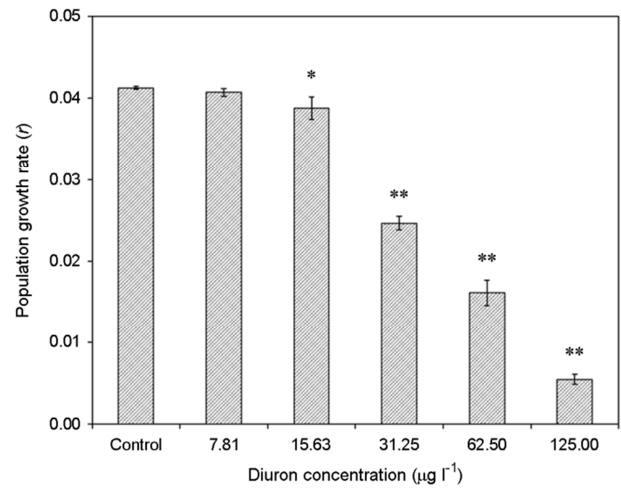


Fig. 4. Change of population growth rate of *Skeletonema costatum* exposed to diuron. Vertical bars represent means  $\pm$  SD for three replicates. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  for control.

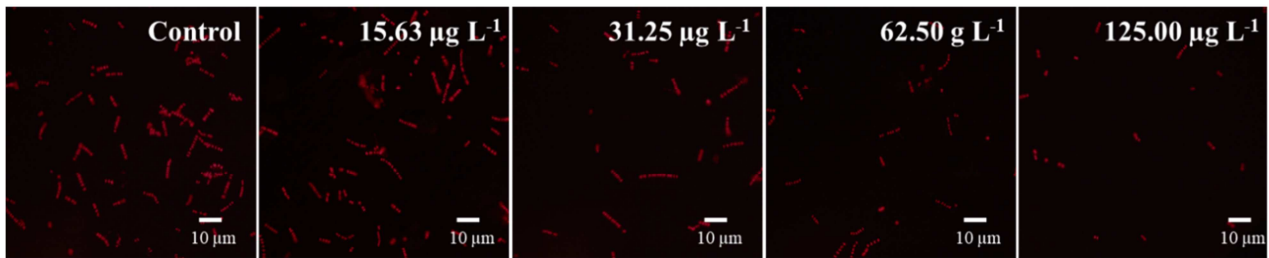


Fig. 3. Cell density of *Skeletonema costatum* exposed at different concentrations of diuron.

크게 감소하였다(Fig. 2, Table 2). 실험 최고농도 5.00 µg l<sup>-1</sup>에서 개체군 성장률이 나타나지 않아, *S. costatum*의  $r$ 은 irgarol 농도가 증가할수록 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 2).

## 2. Diuron이 *S. costatum*의 $r$ 에 미치는 영향

Diuron이 *S. costatum*의  $r$ 에 미치는 영향은 Fig. 3, 4에 나타났으며, 대조구의  $r$ 은 0.04 이상으로 해양환경공정시험법 해양생물공정시험기준(MOF, 2018)에 적합하였다. *S. costatum*의  $r$ 은 최소농도 7.81 µg l<sup>-1</sup>에서 0.0407 $\pm$ 0.0005로 대조구 0.0413 $\pm$ 0.0002와 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 15.63 µg l<sup>-1</sup>부터  $r$ 이 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소하기 시작하여 62.5 µg l<sup>-1</sup>에서 60% 이상( $p < 0.01$ ) 급격하게 감소하였다(Fig. 4, Table 2). 또한, 실험 최고농도 125.00 µg l<sup>-1</sup>에서 개체군 성장률이 약 90% 감소하여, *S. costatum*의  $r$ 은 농도가 증가할수록 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 4).

## 3. *S. costatum*의 $r$ 을 이용한 irgarol과 diuron의 독성평가

*S. costatum*의  $r$ 은 irgarol과 diuron에 노출되었을 때 농도가 증가할수록  $r$ 이 급격하게 감소하는 농도의존적인 경향을 나타냈으며(Fig. 2, 4), 또한 이들의 반응은 표준독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태로 나타났다(Fig. 5, Table 2). Irgarol에 대한  $r$ 의 NOEC와 LOEC는 각각 0.31, 0.63 µg l<sup>-1</sup>으로 나타났고 EC<sub>50</sub>과 95% Fiducial limit는 1.09, 0.67~1.77 µg l<sup>-1</sup>으로 나타났다(Table 3). Diuron에 대한  $r$ 의 NOEC와 LOEC는 각각 7.81, 15.63 µg l<sup>-1</sup>으로 나타났고 EC<sub>50</sub>과 95% Fiducial limit는 45.45, 26.25~81.51 µg l<sup>-1</sup>으로 나타났다(Table 3).

## 고 찰

Irgarol과 diuron은 PSII (Phophosystem II)의 전자전달을 방해하

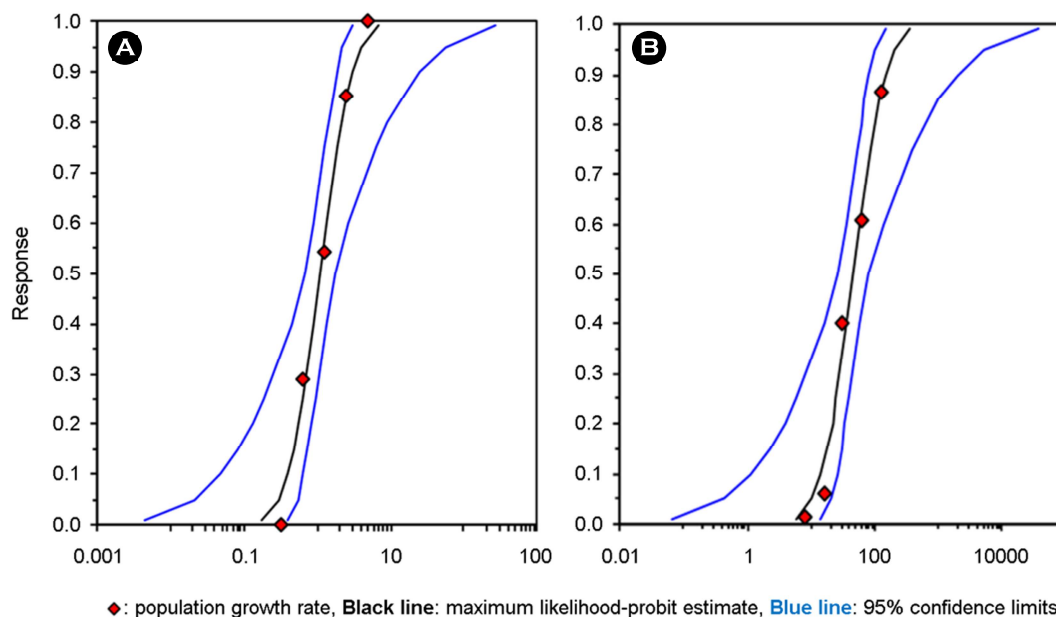


Fig. 5. Concentration-response by irgarol (A) and diuron (B) treatment using the population growth rate of *Skeletonema costatum*.

**Table 2.** Population growth rate in the *Skeletonema costatum* exposed to irgarol and diuron

	Concentration ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Population growth rate	Standard deviation
Irgarol	0.31	0.0416	0.0020
	0.63	0.0295	0.0019
	1.25	0.0190	0.0023
	2.50	0.0060	0.0013
	5.00	ND	ND
Diuron	7.81	0.0407	0.0005
	15.63	0.0388	0.0014
	31.25	0.0247	0.0008
	62.5	0.0161	0.0016
	125.00	0.0032	0.0006

ND: Not detected

여 광합성을 억제하고 활성산소를 유발하여 세포성장 및 세포사멸을 일으킨다(Jones, 2005). 두 가지 방오도료는 PSII 반응중심인 D1 단백질의 QB에 결합하여, 광(light)에 의해 들뜬 전자가 D2 단백질의 QA를 거쳐 QB로 전달을 막는 것으로 알려지고 있다(Deng et al., 2012; Jones, 2005). 이로 인해, PSII에서 PSI (photosystem I)으

**Table 3.** Toxicity evaluation using population growth rate in the *Skeletonema costatum* exposed to irgarol and diuron ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )

Items	Irgarol	Diuron
NOEC	0.31	7.81
LOEC	0.63	15.63
EC <sub>50</sub>	1.09	45.45
95% FI	0.67~1.77	26.25~81.51

NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, EC<sub>50</sub>: 50% Effective concentration, 95% FI: 95% Fiducial limit

로 전자가 전달되지 않아 ATP (adenosine triphosphate)와 NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)가 합성되지 못하고, 결과적으로 성장률이 감소하게 된다(Kottuparambil et al., 2017). 그리고 PSII가 억제되는 과정에서 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )와 같은 활성산소종(reactive oxygen species)을 발생시켜 산화스트레스를 유발하고, 엽록소 및 세포손상을 일으켜 생물이 사망에 이르는 직접적인 원인으로 판단된다(Flores et al., 2013; Jones, 2005). 또한 irgarol과 diuron은 PSII의 D1 단백질의 같은 부위에 결합하여 유사한 방식으로 광합성을 억제하지만, 서로 다른 결합방식으로 인해 본 연구결과와 같이 물질 또는 생물 종에 따라 독성의 차이가 발생할 수 있다(Wilkinson et al., 2015).

본 연구결과 *S. costatum* r의 EC<sub>50</sub>은 irgarol이  $1.09 \mu\text{g l}^{-1}$ , diuron



은 45.45  $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 나타났으며, 녹조류(*Dunaliella tertiolecta*)와 규조류(*Thalassiosira pseudonana*)를 irgarol에 96시간 노출한 경우에  $\text{EC}_{50}$ 이 0.70, 0.41  $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 본 연구결과와 유사하게 조사되었다(Delorenzo and Serrano, 2006; Zhang et al., 2008). 하지만 동물플랑크톤(*Artemia* sp.)을 irgarol에 48시간 노출한 경우에는  $\text{EC}_{50}$ 이 9.73  $\text{mg l}^{-1}$ 로 나타났고(Jung et al., 2017), 농어(*Lates calcarifer*)와 연어(*Fundulus heteroclitus*)를 96시간 노출한 경우  $\text{EC}_{50}$ 이 0.54, 3.22  $\text{mg l}^{-1}$ 로 미세조류에 비해 독성이 매우 낮았다(Ali et al., 2015; Key et al., 2009). Diuron 또한 irgarol과 유사하게 녹조류(*Selenastrum capricornutum*)와 미세조류(*Nitzschia pungens*)를 각각 72, 96시간 노출시켰을 때  $\text{EC}_{50}$ 이 15, 6.64  $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 본 연구와 차이가 크지 않았으나(Hartgers et al., 1998; Jung et al., 2017), 동물플랑크톤(*Daphnia magna*)과 잉어류(*Pimephales promelas*)를 각각 96시간, 7일간 노출시켰을 때 17.9, 11.7  $\text{mg l}^{-1}$ 로 미세조류보다 독성이 매우 낮았다(Nebeker and Schuytema, 1998). 이는 irgarol과 diuron과 같은 광합성을 억제하는 방오도료가 다른 생물에 비해 식물성 플랑크톤에서 독성이 강하게 나타나는 것으로 판단된다(Jung et al., 2017).

일반적으로 irgarol이 diuron 보다 식물과 조류의 광합성 작용에 더 강한 독성을 나타낸다고 알려져 있으며(Fernandez-Alba et al., 2002; Chesworth et al., 2004; Karlsson et al., 2006), 본 연구에서도  $\text{EC}_{50}$ 으로 단순 독성을 비교했을 때, irgarol이 diuron에 비해 독성이 높게 나타났다. Irgarol과 diuron을 남조류(*Synechococcus* sp.)에 96시간 노출시켰을 때  $\text{EC}_{50}$ 이 0.019, 0.097  $\mu\text{mol l}^{-1}$ 로 irgarol이 독성이 높았으며(Deng et al., 2012), 녹조류(*Dunaliella tertiolecta*)에 96시간 노출시켰을 때 1.1, 5.9  $\mu\text{g l}^{-1}$ , 규조류(*Navicula forcipata*)에 96시간 노출시켰을 때 0.6, 27  $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 대부분의 미세조류에서 irgarol이 상대적으로 독성이 높게 보고되었다(Gatidou and Thomaidis, 2007). 또한 Chesworth et al. (2004)에 따르면 0.5  $\mu\text{g l}^{-1}$ 의 irgarol과 diuron에 노출된 거머리말(*Zostera marina*)의  $\text{EC}_{20}$ 이 1.14, 2.719  $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 해조류에서도 irgarol의 독성이 높았고, Kamei et al. (2020)는 산호(*Seriatopora hystrix*)에서도 irgarol의 독성이 더 높다고 보고하였다. 그러나, 미세조류인 *Arthrospira maxima*는 irgarol 보다 diuron에서 광합성이 강하게 저해되었고(Kottuparambil et al., 2013), Moon et al. (2019)은 말뚝성게(*Hemacentrotus pulcherrimus*)와 유령명게(*Ciona intestinalis*) 배아의 형태형성(morphogenesis) 관련유전자는 diuron에 더 민감하다고 보고하여 종 특이성이 있는 것으로 판단된다.

Irgarol과 diuron은 말레이시아, 일본 오키나와, 싱가포르, 프랑스, 영국, 미국, 브라질 등의 연안 및 항만지역에서 검출되었고(Ali et al., 2013; Basheer et al., 2002; Batista-Andrade et al., 2018; Caquet et al., 2012; Diniz et al., 2014; Sheikh et al., 2009), 우리나라 대부분의 주요 연안 및 항구에서도 검출된다(Kim et al., 2014, 2015). Kim et al. (2014)에 따르면 진해만 여항에서 irgarol은  $4.0 \pm 4.2 \mu\text{g l}^{-1}$ , diuron은  $348 \pm 422 \mu\text{g l}^{-1}$ 로 조사지역 중에서 가장 높게 나타났고,

우리나라 주요항구에서도 irgarol은  $2.5 \pm 3.0 \mu\text{g l}^{-1}$ , diuron은  $105 \pm 68 \mu\text{g l}^{-1}$ 로 다른 국가에 비해 상대적으로 높은 수준으로 검출되었다. 게다가 육상에서 사용되고 있는 irgarol과 diuron과 같은 제초제 기원의 방오도료는 지속적으로 강을 따라 연안으로 유입되고 있어(Cho et al., 2014), 해양환경 내 신방오도료 농도는 지속적으로 증가하고 있기 때문에(Lee and Lee, 2016) irgarol과 diuron은 해양생물 보호와 인류의 보건을 위해 지속적인 모니터링 및 독성연구가 필요하다(Jung et al., 2017; Lee et al., 2019). 따라서 본 연구의 *S. costatum*의 *r*을 이용한 irgarol과 diuron의 생물독성 평가 결과는 신방오도료 사이의 독성을 비교 및 평가하고, 기준 농도 설정과 같은 관리지침을 개발하는데 있어 유용한 기초자료로 활용될 것이라 판단된다.

## 사 사

본 연구는 2020년도 국립수산물과학원 경상과제(R2020027)연구비 지원으로 국립수산물과학원 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위해평가센터에서 수행하였다.

## 참고문헌

- Ali HR, Arifin MM, Sheikh MA, Shazili NAM, Bachok Z. 2013. Occurrence and distribution of antifouling biocide irgarol-1051 in coastal waters of Peninsular Malaysia. Mar Pollut Bull 70: 253-257.
- Ali HR, Arifin MM, Shikh MA, Shazili NAM, Bachok Z. 2015. Toxicological studies of irgarol-1051 and its effects on fatty acid composition of Asian sea-bass, *Lates calcarifer*. Reg Stud Mar Sci 2: 171-176.
- Amara I, Miled W, Slama RB, Ladhari N. 2018. Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review. Environ Toxicol Pharmacol 57: 115-130.
- Basheer C, Tan KS, Lee HK. 2002. Organotin and irgarol-1051 contamination in Singapore coastal waters. Mar Pollut Bull 44: 697-703.
- Batista-Andrade JA, Caldas SS, Batista RM, Castro IB, Fillmann GF, Primel EG. 2018. From TBT to booster biocides: Levels and impacts of antifouling along coastal areas of Panama. Environ Pollut 234: 234-252.
- Caquet TH, Roucaute M, Mazzella N, Delmas F, Madigou C, Farcy E, Burgeot TH, Allenou JP, Gabellec R. 2012. Risk assessment of herbicides and booster biocides along estuarine continuums in the Bay of Vilaine area (Brittany, France). Environ Sci Pollut Res 20: 651-666.
- Chen L, Xu Y, Wang W, Qian PY. 2015. Degradation kinetics of a

- potent antifouling agent, butenolide, under various environmental conditions. *Chemosphere* 119: 1075-1083.
- Chesworth JC, Donkin ME, Brown MT. 2004. The interactive effects of the antifouling herbicides irgarol and diuron on the seagrass *Zostera marina* (L.). *Aquat Toxicol* 66: 293-305.
- Cho E, Khim J, Chang S, Seo D, Son Y. 2014. Occurrence of micro-pollutants in four major rivers in Korea. *Sci Total Environ* 491-492: 138-147.
- Delorenzo ME, Serrano L. 2006. Mixture Toxicity of the Antifouling Compound irgarol to the Marine Phytoplankton Species *Dunaliella tertiolecta*. *J Environ Sci Health B* 41: 1349-1360.
- Deng X, Gao K, Sun J. 2012. Physiological and biochemical responses of *Synechococcus* sp. PCC7942 to irgarol and diuron. *Aquat Toxicol* 122-123: 113-119.
- Diniz LGR, Jesus MS, Donguez LAE, Fellmann G, Vieira EM, Franco TCRS. 2014. First appraisal of water contamination by anti-fouling booster biocide of 3<sup>rd</sup> generation at Itaqui Harbor (São Luiz - Maranhão - Brazil). *J Braz Chem Soc* 25: 380-388.
- Ensminger I, Xyländer M, Hagen C, Braune W. 2001. Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*. *Plant Cell Environ* 24: 769-779.
- Fernandez-Alba AR, Hernando MD, Piedra L, Chisti Y. 2002. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Anal Chim Acta* 456: 303-312.
- Flores F, Collier CJ, Mercurio P, Negri AP. 2013. Phytotoxicity of Four Photosystem II Herbicides to Tropical Seagrasses. *PLOS One* 8: e75798.
- Gatidou G, Thomaidis NS. 2007. Evaluation of single and joint toxic effects of two antifouling biocides, their main metabolites and copper using phytoplankton bioassays. *Aquat Toxicol* 85: 184-171.
- Hartgers EM, Aalderink GH, Brink PJ, Gylstra R, Wiegman JWF, Brock TCM. 1998. Ecotoxicological threshold levels of a mixture of herbicides (atrazine, diuron and metolachlor) in freshwater microcosms. *Aquat Ecol* 32: 135-152.
- Ishibashi H, Minamide S, Takeuchi I. 2018. Identification and characterization of heat shock protein 90 (HSP90) in the hard coral *Acropora tenuis* in response to irgarol. *Mar Pollut Bull* 133: 773-780.
- Jones R. 2005. The ecotoxicological effects of Photosystem II herbicides on corals. *Mar Pollut Bull* 51: 495-506.
- Jung SM, Bae JS, Kang SG, Son JS, Jeon JH, Lee HJ, Jeon JY, Sidharthan M, Ryu SH, Shin HW. 2017. Acute toxicity of organic antifouling biocides to phytoplankton *Nitzschia pungens* and zooplankton *Artemia* larvae. *Mar Pollut Bull* 124: 811-818.
- Kamei M, Takayama K, Ishibashi H, Takeuchi I. 2020. Effects of ecologically relevant concentrations of irgarol in tropical to subtropical coastal seawater on hermatypic coral *Acropora tenuis* and its symbiotic dinoflagellates. *Mar Pollut Bull* 150: 110734.
- Karlsson J, Breitholtz M, Eklund B. 2006. A practical ranking system to compare toxicity of anti-fouling paints. *Mar Pollut Bull* 52: 1661-1667.
- Key PB, Hoguet J, Chung KW, Venturella JJ, Pennington PL, Fulton MH. 2009. Lethal and sublethal effects of simvastatin, irgarol, and PBDE-47 on the estuarine fish, *Fundulus heteroclitus*. *J Environ Sci Health B* 44: 379-382.
- Khanam MRM, Shimasaki Y, Hosain MZ, Mukai K, Tsuyama M, Qiu X, Tasmin R, Goto H, Oshima Y. 2017. diuron causes sinking retardation and physiochemical alteration in marine diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema marinoidehmii* complex. *Chemosphere* 175: 200-209.
- Kim NS, Shim WJ, Yim UH, Hong SH, Ha SY, Han GM, Shin KH. 2014. Assessment of TBT and organic booster biocide contamination in seawater from coastal areas of South Korea. *Mar Pollut Bull* 78: 201-208.
- Kim NS, Hong SH, An JG, Shin KH, Shim WJ. 2015. Distribution of butyltins and alternative antifouling biocides in sediments from shipping and shipbuilding areas in South Korea. *Mar Pollut Bull* 95: 484-490.
- Konstantinou IK, Albanis TA. 2004. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. *Environ Int* 30: 235-248.
- Kottuparambil S, Lee S, Han T. 2013. Single and interactive effects of the antifouling booster herbicides diuron and irgarol on photosynthesis in the marine cyanobacterium, *Arthrospira maxima*. *Toxicol. Environ Health Sci* 5: 71-81.
- Kottuparambil S, Bronw MT, Park J, Choi S, Lee H, Choi HG, Depuydt S, Han T. 2017. Comparative assessment of single and joint effects of diuron and irgarol on Arctic and temperate microalgae using chlorophyll *a* fluorescence imaging. *Ecol Indic* 76: 304-316.
- ISO. 1995. Water quality-marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. The International Organization for Standardization. ISO 10253, 7pp.
- Lananan F, Jusoh A, Ali N, Lam SS, Endut A. 2013. Effect of Conway medium and f/2 medium on the growth of six genera of

- south China Sea marine microalgae. *Bioresour Technol* 141: 75-82.
- Lee JW, Choi H, Park YH, Lee Y, Heo S, Hwnag UK. 2019. Toxic evaluation of phenanthrene and zinc undecylenate using the population growth rates of marine diatom, *Skeletonema costatum*. *Korean J Environ Biol* 37: 372-379.
- Lee JW, Ryu HM, Heo S, Jang SJ, Lee KW, Hwang UK. 2017. Effect of heavy metals (As, Cr, Pb) on the population growth rates of marine diatom, *Skeletonema castatum*. *JMLS* 2: 20-26.
- Lee SE, Won HS, Lee YW, Lee DS. 2010. Study on the new antifouling compounds in Korean coasts. *Bull Environ Contam Toxicol* 85: 538-543.
- Lee S, Lee YW. 2016. Determination of the concentrations of alternative antifouling agents on the Korean coast. *Mar Pollut Bull* 113: 253-257.
- Marcheselli M, Conzo F, Mauri M, Simonini R. 2010. Novel antifouling agent—Zinc pyrithione: Short- and long-term effects on survival and reproduction of the marine polychaete *Dinophilus gyrociliatus*. *Aquat Toxicol* 98: 204-210.
- MOF. 2018. Marine Environment Standard Method, Part 3 Marine Organism Standard Method. Ministry of Oceans and Fisheries, Korea. pp 115-123.
- Moon YS, Kim M, Hong CP, Kang JH, Jung JH. 2019. Overlapping and unique toxic effects of three alternative antifouling biocides (diuron, irgarol®, Sea-Nine 211®) on non-target marine fish. *Ecotoxicol Environ Saf* 180: 23-32.
- Nebeker AV, Schuytema GS. 1998. Chronic Effects of the Herbicide Diuron on Freshwater Cladocerans, Amphipods, Midges, Minnows, Worms, and Snails. *Arch Environ Contam Toxicol* 35: 441-446.
- Okamura H. 2002. Photodegradation of the antifouling compounds irgarol and diuron released from a commercial antifouling paint. *Chemosphere* 48: 43-50.
- Okumura Y, Koyama J, Takaku H, Satoh H. 2001. Influence of organic solvents on the growth of marine microalgae. *Arch Environ Contam Toxicol* 41: 123-128.
- Sheikh MA, Higuchi T, Fujimura H, Imo TS, Miyagi T, Oomori T. 2009. Contamination and impacts of new antifouling biocide irgarol-1051 on subtropical coral reef waters. *Int J Environ Sci Tech* 6: 353-358.
- Shin HW, Kang SG, Son JS, Jeon JH, Lee HJ, Jung SM, Smith CM. 2015. Evaluation of antifouling system of new antifouling agents using spores of the green alga, *Ulva pertusa* and diatom, *Nitzschia pungens*. *Korean J Environ Ecol* 29: 736-742.
- Silkina A, Bazes A, Mouget JL, Bourgougnon N. 2012. Comparative efficiency of macroalgal extracts and booster biocides as antifouling agents to control growth of three diatom species. *Mar Pollut Bull* 64: 2039-2046.
- Soroldoni S, Abreu F, Castro IB, Duarte FA, Pinho GLL. 2017. Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment? *J Hazard Mater* 330: 76-82.
- Thomas KV. 2001. The Environmental Fate and Behaviour of Antifouling Paint Booster Biocides: a Review. *Biofouling* 17: 73-86.
- Wilkinson AD, Collier CJ, Flores F, Negri AP. 2015. Acute and additive toxicity of ten photosystem-II herbicides to seagrass. *Sci. Rep.* Article number 17443. DOI: 10.1038/srep17443.
- Yee MSL, Khiew PS, Chiu WS, Tan YF, Kok YY, Leong CO. 2016. Green synthesis of graphene-silver nanocomposites and its application as a potent marine antifouling agent. *Colloids Surf B* 148: 392-401.
- Yoon YH. 2016. Bio-environmental Characteristics of the Uljin Marine Ranching Area (UMRA), East Sea of Korea. 1. Spatio-temporal Distributions of Phytoplankton Community. *J Korean Soc Mar Environ Energy* 19: 37-46.
- Zhang AQ, Zhou GJ, Lam MHW, Leung KMY. 2019a. Toxicities of the degraded mixture of irgarol to marine organisms. *Chemosphere* 225: 565-573.
- Zhang AQ, Zhou GJ, Lam MHW, Leung KMY. 2019b. Toxicities of irgarol derivatives, M2 and M3, to two marine diatom species. *Ecotoxicol Environ Saf* 182: 109455.
- Zhang AQ, Leung KMY, Kwok KWH, Bao VWW, Lam MHW. 2008. Toxicities of antifouling biocide irgarol and its major degraded product to marine primary producers. *Mar Pollut Bull* 57: 575-586.