

동근성게(*Mesocentrotus nudus*)의 수정 및 배아 발생률에 미치는 신방오도료(Diuron, Irgarol)의 독성영향

황운기, 이주욱, 박윤호, 허 승, 최 훈*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터

Toxic effects of antifouling agents (diuron and irgarol) on fertilization and normal embryogenesis rates in the sea urchin (*Mesocentrotus nudus*)

Un-Ki Hwang, Ju-Wook Lee, Yun-Ho Park, Seung Heo and Hoon Choi*

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

*Corresponding author

Hoon Choi

Tel. 032-745-0681

E-mail. doublegmk@hanmail.net

Received: 26 February 2020

First Revised: 24 March 2020

Second Revised: 6 April 2020

Revision accepted: 7 April 2020

Abstract: Toxic assessment of antifouling agents (diuron and irgarol) was conducted using the fertilization and the normal embryogenesis rates of the sea urchin, *Mesocentrotus nudus*. Bioassessment began with male and female reproductive cell induction. White or cream-colored male gametes (sperm) and yellow or orange-colored female gametes (eggs) were acquired and fully washed, separately. Then, the fertilization and normal embryogenesis rates were measured after 10 min and 48 h of exposure to the toxicants, respectively. The fertilization and embryo development rates were greater than 90% in the control, validating the suitability of both endpoints. The normal embryogenesis rates were significantly decreased with increasing concentrations of diuron and irgarol, but no changes in the fertilization rates were observed in concentrations ranging from 0 to 40 mg L⁻¹. The EC₅₀ values of diuron and irgarol for the normal embryogenesis rates were 20.07 mg L⁻¹ and 22.45 mg L⁻¹, respectively. The no observed effect concentrations (NOEC) were <1.25 mg L⁻¹ and the lowest observed effect concentrations (LOEC) were 1.25 mg L⁻¹ and 2.5 mg L⁻¹, respectively. From these results, concentrations of diuron and irgarol over 1.25 mg L⁻¹ and 2.5 mg L⁻¹, respectively, can be considered to have toxic effects on invertebrates, including *M. nudus*. The ecotoxicological bioassay in this study using the noted fertilization and normal embryogenesis rates of *M. nudus* can be used as baseline data for the continued establishment of environmental quality standards for the effects of antifouling agents (especially diuron and irgarol) in a marine environment.

Keywords: antifouling agents, toxicity, sea urchin, *Mesocentrotus nudus*

서 론

Antifouling agents (방오도료)는 양식시설을 포함한 해양구조물이나 선박에 달라붙는 따개비, 담치 및 해조류와 같은 해양생물들로 인해 발생하는 경제적 손실을 막기 위하여 시설물에 도포하는 물질이다(Enright 1993; Bennett 1996; Voulvoulis *et al.* 1999; Senda 2009). 대표적인 방오물질은 트리부틸주석이나 트리페닐주석과 같은 유기주석 화합물(Tributyltin; TBT)로 1960년대 이후 사용량이 급격히 증가하였으나(Dubey and Roy 2003), 해양환경 내에서 저농도일지라도 어·패류 등에 축적되어 수정·발생 억제, 운동성 저하 등의 문제를 일으키는 것으로 알려졌다(Voulvoulis *et al.* 1999; Alzieu 2000). 또한, 주요 대사체인 디부틸주석, 모노부틸주석, 모노페닐주석의 경우는 해양생물에게 급성독성, 임포섹스, 생식능력 저하 등과 같은 치명적 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Bettin *et al.* 1996; Kim and Park 2001; Cho 2011; Han 2012).

이러한 이유로 IMO (International Maritime Organization, 국제해사기구)에서는 TBT를 주성분으로 하는 방오도료에 대하여 2003년부터 사용을 금지하였으며, 2008년부터 완전제거 및 용출 방지를 위한 처리를 하도록 하였다(IMO 2001). TBT 사용규제 이후에, 유럽을 중심으로 Diuron과 Irgarol을 포함한 10여 종의 새로운 방오도료가 개발되었으며, 이 중 Diuron과 Irgarol은 대표적인 신방오물질로서 사용되고 있다(Voulvoulis *et al.* 2000; Cresswell *et al.* 2006; Yamada 2007).

하지만, Diuron과 Irgarol은 식물의 광합성과 내 전자전달을 차단하여, 식물성 플랑크톤을 포함한 해양생물에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Magnusson *et al.* 2012; Holmes 2014; Moon *et al.* 2019). 또한, 국내에서는 TBT 사용금지 이후에 신방오도료 물질의 사용량이 급격히 증가하여, 2006년~2009년 사이 해수 내 농도가 약 5배 이상 증가한 바 있으며(Lee *et al.* 2011), Diuron과 Irgarol은 조식소와 선박수리소와 같이 선박 이동량이 많은 지역의 해수 및 퇴적물에서 방오도료물질 중 가장 높은 농도로 검출된 바 있다(Kim *et al.* 2014, 2015). 결과적으로, 연안역에서 Diuron과 Irgarol의 사용 및 잔류농도 증가와 유해성으로 인해, 이들 지역에 서식하는 해양생물에 대한 영향이 우려되는 상황이다.

성게는 유용수산 생물자원일 뿐만 아니라, 다른 시험

생물에 비해 생식세포의 획득 및 인공수정을 통한 배아 생성으로 배아의 발달을 쉽게 관찰할 수 있다. 또한 독성에 대한 민감성이 뛰어나고 급성독성 및 만성독성을 단기간에 평가할 수 있다는 장점이 있다(Kobayashi 1980; Greenwood 1983). 또한, 국내 해양환경공정시험기준의 생태독성시험법으로 등재되어 있어서(해양환경공정시험기준 2018), 시험방법의 차이로부터 발생할 수 있는 시험결과와의 차이를 줄일 수 있는 장점이 있다. 국내에서 성게를 이용하여 비스페놀 A, 페놀 등과 같은 연안 유기오염물질에 대한 생물 영향을 평가한 연구는 활발하게 진행되어 왔으나(Hwang *et al.* 2014, 2015), 신방오도료의 영향을 조사한 연구는 거의 전무한 것으로 판단된다.

본 연구에서는 해양생태계 내에서 무척추동물로서 1차 소비자 단계에 위치해 있는 *M. nudus*를 이용하여 신방오도료인 Diuron과 Irgarol에 대한 무영향농도(NOEC; No observed effect concentration), 최소영향농도(LOEC: Lowest observed effect concentration) 및 반수영향농도(EC₅₀; 50%-effective concentration)를 산출하여, 이들 오염물질의 해양환경 기준농도 설정 및 타 오염물질과의 상대적 독성치를 비교할 수 있는 유용한 자료를 생산하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험생물

시험생물인 등근성게, *Mesocentrotus nudus*는 2019년 7~8월 충청남도 태안군 모항리 연안(36°46'38"N, 126°07'26"E)에서 어획된 생물을 구매하여 사용하였다. 채집한 시험생물은 저온상태에서 이송하여, 시험에 사용하였으며 이 과정에서 사용된 배양액은 자연해수를 membrane filter (pore size 0.45 µm)로 여과하여 사용하였다.

2. 생식세포 획득

*M. nudus*의 표면을 해수로 세척하여 성게 표면의 이물질을 제거한 후 암컷 및 수컷 각 6개체 이상을 실험에 사용하였으며, 시험에 사용된 개체는 직경 10 cm 이상으로 충분히 성장한 개체를 선별하여 사용하였다. 선별된 개체는 체강 내에 0.5M KCl 용액 1mL을 주입시켜 생식세포의 방란 및 방정을 유도한 후, 배양액이 담긴 비이커에 생식

공이 충분히 잠기도록 한 뒤, 정자 및 난자를 수집하였다. 수집한 생식세포 중에서 정자는 1회, 난자는 3회 이상 충분히 세정한 후에 시험에 사용하였다.

3. 시험용액 조성

시험에 사용된 Diuron과 Iragol 시험용액은, DMSO (Dimethylsulfoxide, Sigma-aldrich, USA)를 carrier solution으로 사용하여 $100,000 \text{ mg L}^{-1}$ 의 고농도의 stock solution을 제작한 뒤, $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과된 자연해수로 희석하여 제조하였다. Diuron과 Iragol의 농도범위는 예비실험을 통하여 0.00, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00 및 40.00 mg L^{-1} 7개 농도구로 설정하였다. 본 시험에서 사용된 시험물질의 기본정보는 Table 1과 같다.

4. 수정 및 정상배아 발생률

등근성계를 이용한 수정률 및 정상배아 발생률 시험은 해양환경공정시험기준 내 해양생물공정시험기준에 의거하여 수행되었다. 수정률의 경우 6 well plate에 시험용액을 농도별로 10 mL씩 4반복으로 분주한 뒤, 시험 용액당 $1 \mu\text{L}$

의 정자를 분주하여 노출시켰다. 30 min 동안 노출시킨 후, 정자가 주입된 시험용액에 100~150개의 난자를 넣고, 10 min 뒤 수정막의 형성 유·무를 확인하였다(Fig. 1).

정상배아 발생률의 경우 6 well plate에 시험용액을 농도별로 10 mL씩 4반복으로 분주하였다. 시험 용액당 수정란은 mL당 10~15개씩 넣어주었다. 이후 $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 온도조건에서 형광등을 이용하여 $100 \pm 10 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 광주기 8 Light : 16 Dark 하에서 배양하였다. *M. nudus*의 정자와 난자를 인공수정 후, 48 h에 정상 pluteus 유생으로의 발달 유·무(Fig. 2)로 배아 발생률을 측정하였으며(Hwang et al. 2014), 자세한 시험조건은 Table 2와 같다.

5. 통계분석

대조군과 실험군의 유의성 검정은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc., USA)의 Student's t-test로 비교하였으며 p 가 0.05 이하인 것을 유의한 것으로 판단하였다. 정상유생 발생률에 대한 EC_{50} 와 95% 신뢰구간(95% Confidence Limit; 95% CI)은 Toxicalc 프로그램 (Toxicalc 5.0, Tidepool scientific software, USA)의 probit 통계법을

Table 1. Information on the antifouling agent used in this study

Species	Toxicants	Target concentration (mg L^{-1})	Formula	CAS no.	Manufacturer
<i>M. nudus</i>	Diuron	0.00-40.00	$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{S}$	28159-98-0	Sigma-aldrich (USA)
	Irgarol	0.00-40.00	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$	330-54-1	

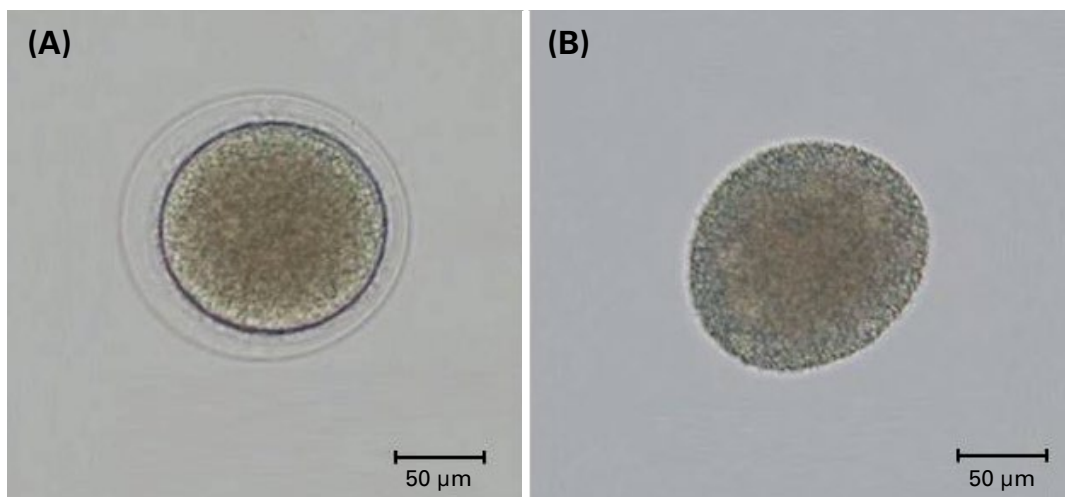


Fig. 1. Diagnostic features of a normal fertilized egg (A) and an unfertilized egg (B) in *Mesocentrotus nudus*.

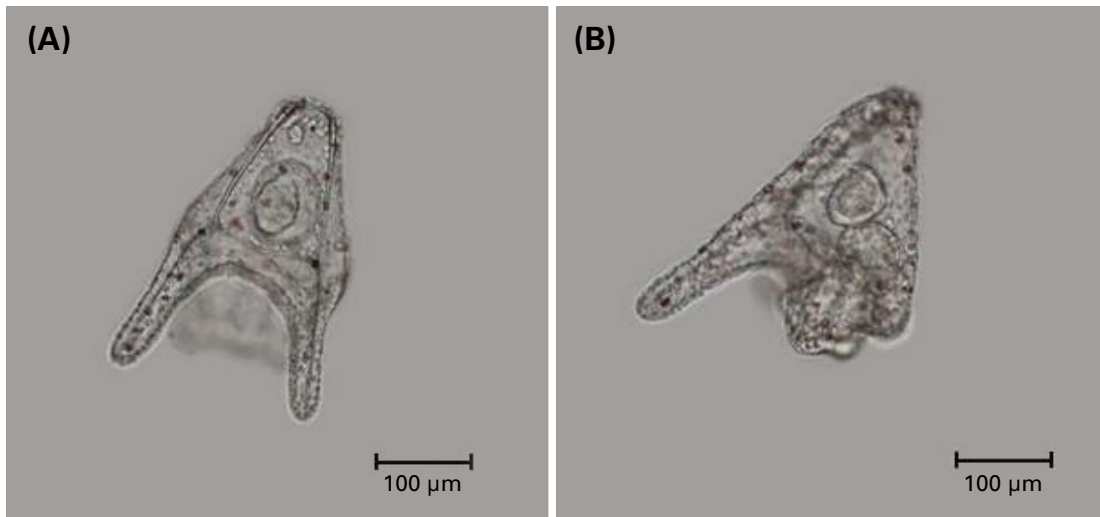


Fig. 2. Diagnostic features of the normal (A) and abnormal (B) pluteus larva of *Mesocentrotus nudus*.

Table 2. Experimental conditions for determining the fertilization and normal embryogenesis rates of *Mesocentrotus nudus*

Class	Condition
Endpoint	Fertilization rate Normal embryogenesis rate
Experiment period	48h (<i>Mesocentrotus nudus</i>)
Culture type	Static non-renewal
Photoperiod	Ambient light condition and 8L : 16D period
Temperature	20°C ± 0.5°C
Salinity	32 ± 1.0
pH	8.0 ± 0.5
Test-solution volume	10 mL (6 well plate)
Culture medium	Filtrated sea water (0.45 µm membrane filter)
Number of repeats	Over the 3 replicate
Initial fertilized egg density	10-15 Fertilized egg mL ⁻¹
Acceptability criterion	Over the 90% fertilized eggs and normal pluteus larvae at control

이용하여 분석하였으며, NOEC와 LOEC는 Toxicalc 프로그램의 Dunnett's test를 이용하여 분석하였다.

결 과

1. Diuron과 Irgarol 노출에 따른 수정률의 변동

*M. nudus*의 정자를 Diuron과 Irgarol의 동일농도 (0.00, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00 및 40.00 mg L⁻¹)에 30 min간 노출시킨 후, 난자와 10 min간 수정시켜 정상수정율을 관

찰하여 (Fig. 1) 백분율로 나타내었다 (Fig. 3). Diuron과 Irgarol에 노출된 *M. nudus*의 수정률은 시험구간 최고농도인 40 mg L⁻¹에서도 각각 99.00%와 92.30%로 대조구와 비교해 유의적인 차이를 나타내지 않았다 (Fig. 3).

2. Diuron과 Irgarol 노출에 따른 정상배아 발생률의 변동

*M. nudus*의 정상배아 발생률에 미치는 Diuron과 Irgarol의 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 수정 48 h 후, Diuron을 첨가하지 않은 대조구의 정상배아 발생률은 92.33 ± 3.21%

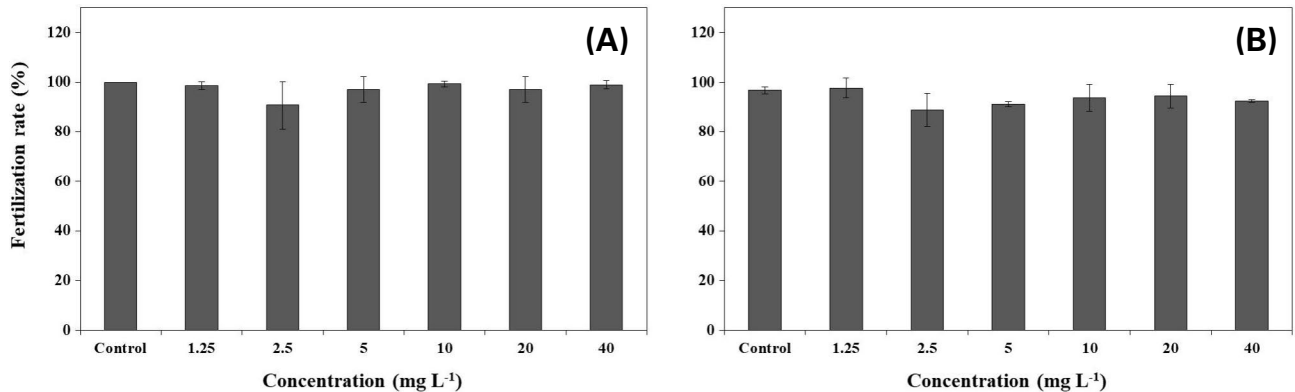


Fig. 3. Rate of fertilization of *Mesocentrotus nudus* eggs exposed to diuron (A) and irgarol (B). The vertical bars represent the standard error (SE) of the mean of triplicate determinations.

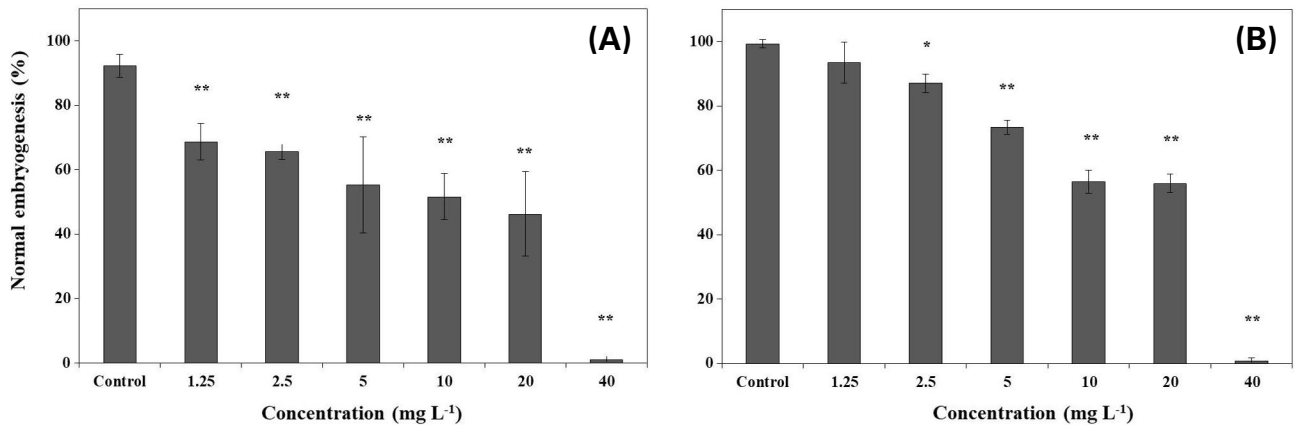


Fig. 4. Changes in the normal embryogenesis rate of *Mesocentrotus nudus* exposed to diuron (A) and irgarol (B) for 48 h, respectively. All points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

를 나타냈으나, 최소농도인 1.25 mg L⁻¹에서부터 68.67 ± 5.03% 급격히 감소했으며 ($p < 0.01$), 최고농도인 40 mg L⁻¹에서는 정상유생을 거의 관찰할 수 없었다(Fig. 4A). Irgarol의 경우, 최소농도인 1.25 mg L⁻¹에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 2.5 mg L⁻¹ 이상의 농도에서는 급격히 감소해 ($p < 0.01$), 최고농도인 40 mg L⁻¹에서는 정상유생을 거의 관찰할 수 없었다(Fig. 4B) ($p < 0.01$).

3. 정상배아 발생률을 이용한 독성평가

정상배아 발생률은 Diuron과 Irgarol의 농도가 증가할수록 감소하는 농도 의존성을 나타냈다. Diuron의 경우는 최소농도인 1.25 mg L⁻¹의 농도에서 용량-반응곡선이 가파르게 증가하다 10 mg L⁻¹부터 완만하였으며, 20 mg L⁻¹을

지나 최고농도인 40 mg L⁻¹까지 급격한 반응을 나타냈다. Irgarol의 경우 10 mg L⁻¹까지는 선형 반응식으로 급격하게 증가하다, 20 mg L⁻¹까지는 반응이 정체되었으며, 최고농도인 40 mg L⁻¹까지는 Diuron과 유사하게 급격한 반응을 나타냈다(Fig. 5).

*M. nudus*의 정상배아 발생률에 대한 Diuron의 영향을 독성치로 나타냈을 때, 반수영향농도 (EC₅₀)는 20.07 mg L⁻¹를 나타냈으며 EC₅₀에 대한 95% 신뢰구간(CI)은 16.11~24.04 mg L⁻¹로 나타났다. 무영향농도(NOEC)와 최소영향농도(LOEC)는 각각 1.25 mg L⁻¹와 2.5 mg L⁻¹으로 나타났다. 정상배아 발생률에 대한 Irgarol의 EC₅₀은 22.448 mg L⁻¹로 나타났으며, 95% CI는 22.12~22.78 mg L⁻¹를 나타냈다. NOEC와 LOEC는 각각 1.25 mg L⁻¹와 2.5 mg L⁻¹으로 나타났다(Table 3).

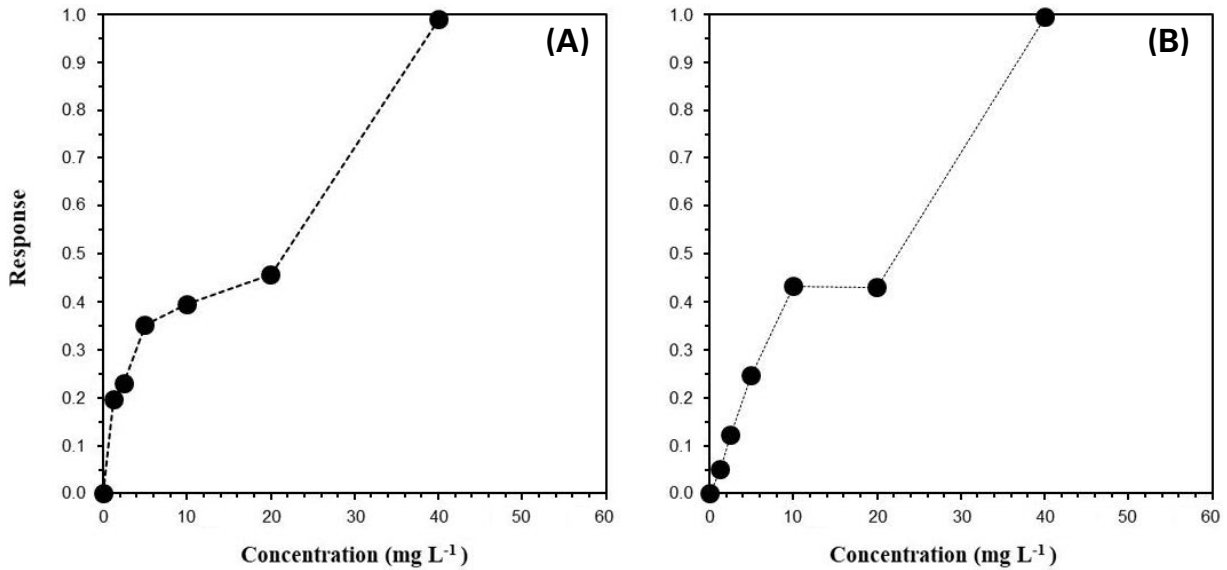


Fig. 5. Dose-response curve of *Mesocentrotus nudus* exposed to diuron (A) and irgarol (B).

Table 3. Evaluation of toxicity due to diuron and irgarol exposure using normal embryogenesis in *Mesocentrotus nudus* compared to other kinds of sea urchins

Species	Toxicant	Time (h)	Toxic Unit (mg L ⁻¹)			
			NOEC	LOEC	EC ₅₀	95% CI
<i>Mesocentrotus nudus</i>	Diuron	48	< 1.25	1.25	20.07	16.11-24.04
	Irgarol		< 1.25	2.5	22.45	22.12-22.78

EC₅₀: 50% Effective concentration, NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, 95% CI

고찰

방오도로 물질로 가장 널리 사용되어 온 물질은 유기주석화합물(TBT)로 해양환경으로 유입될 경우, 서식생물의 내분기계 교란과 더불어 다양한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Dafforn *et al.* 2011). 이로 인해, TBT는 2003년 사용금지, 2008년 선체 잔존금지를 통하여 사실상 사용할 수 없게 되었으나, 방오도로의 사용은 선박의 성능을 향상시킬 뿐만 아니라 연료소비를 줄이는 등, 경제적 가치가 커서 다양한 방오도로 물질의 개발이 진행되어 왔다(Enright 1993; Bennett 1996; Voulvoulis *et al.* 1999; IMO 2001; Senda 2009). 방오도로 물질이 개발되어 Copper (I) salt, Copper oxide (Cu₂O)와 Thiocyanate (CuCHNS)와 같은 물질들이 사용되어 왔지만, Cu계 페인트가 환경 중에서 Cu의 농도 증가 원인으로 지목되면서, 생물에게 부정적

인 영향을 줄 수 있기에, “booster biocides”로 불리는 새로운 방오도로 물질이 개발·사용되었다(Karlsson *et al.* 2010; OSPAR 2010; Ytreberg *et al.* 2010; Cima and Ballarin 2012). 최근에는 비금속 유기 화합물 (Irgarol, Diuron, Sea-nine 211, Dichlofluanid, Chlorothalonil, Thiram, Busan, Densil, Pyridine-triphenylborane, Capsaicin, Econe, Medetomidine, Tolyfluanid)과 금속 유기 화합물 (Copper pyrithione, Zinc pyrithione, Zineb, Maneb)이 신방오물질로 사용되고 있다(Dafforn *et al.* 2011; Diniz *et al.* 2014).

우리나라의 경우 조선업의 발달로 신방오물질의 사용량이 높으며, 2006년~2009년 사이의 해수 내 농도가 약 5배 이상 증가한 바 있다(Lee *et al.* 2011). 이들 신방오도로 물질 중에서 Diuron은 해수 및 퇴적물에서 각각 35~1,360 ng L⁻¹와 9~62.3 ng g⁻¹을 나타냈으며, Irgarol은 14 ng L⁻¹, 1.5~11.5 ng g⁻¹의 농도를 나타내었다(Kim *et al.* 2014,

2015). *M. nudus*의 정상배아 발생률을 이용한 본 실험의 연구결과에서 Diuron의 경우는 최소영향농도가 1.25 mg L^{-1} , Irgarol의 경우는 2.5 mg L^{-1} 를 나타내, Kim *et al.* 2014, 2015)이 제시한 해수 농도에 비해 높은 것으로 나타났지만, 연안역에서 Diuron과 Irgarol의 농도는 증가할 가능성이 있어, 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 판단된다. Moncada (2004)와 Omae (2003)에 의하면, pH 7 및 25°C 의 조건에서 Diuron은 분해되는 데 43~2180일 소요되며, Irgarol은 100~350일로 잔류성이 매우 높은 것으로 알려져 해양환경 내에서 이들 농도는 지속적으로 증가될 것으로 판단된다.

Diuron과 Irgarol은 특이적인 기작 때문에 Sea-nin 211을 포함한 다른 방오도료에 비하여 성계의 정상배아 발생에 큰 영향을 미치는 편은 아니다(Seo *et al.* 2019). 하지만, Diuron과 Irgarol 각각의 단일물질에 대한 노출이 아니라, 다양한 신방오도료 물질이 존재하는 연안환경의 해수와 퇴적물 내에서 생물독성은 훨씬 더 심할 것으로 판단된다. Guardiola *et al.* (2012)에 의하면 Diuron과 Irgarol은 광합성을 억제하는 것으로 알려져 있고, 생태계 내 1차 생산자 군집에도 영향을 미치며(Bao *et al.* 2011), 갑각류와 조류를 비롯한 다양한 생물에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어(Manzo *et al.* 2006), 이들 신방오도료 물질에 대해서는 계속적인 감시와 조사가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

본 연구결과에서 Diuron과 Irgarol 노출에 의해, 수정률보다 정상배아 발생률이 민감하게 반응하는 것은 배아가 pluteus 유생시기에 도달하기까지 더 긴 시간 동안 노출됨으로 발달 저해가 증가되었을 것으로 사료된다(Hwang *et al.* 2008, 2014). 더불어 이들 신방오도료 물질에 의해 pluteus 유생 이전 시기부터 영향을 받았다 할지라도 형태적으로 분화 정도가 진전된 pluteus 유생시기의 배아가 독성에 대해 증폭되어 표현되기 때문에, pluteus 형성 시기가 수정률에 비해 더욱 민감하게 나타나는 것으로 판단된다(Wui *et al.* 1992). 오염물질에 대한 상대적 독성을 평가하기 위하여, 사용되는 반수영향농도(EC_{50})를 이용하여 Diuron과 Irgarol이 *M. nudus*의 배아 발생률에 미치는 영향을 살펴보면 Diuron의 EC_{50} 은 20.07 mg L^{-1} , Irgarol은 22.45 mg L^{-1} 로 나타나, Diuron이 Irgarol에 비해 독성 영향이 다소 큰 것으로 나타났다. 본 연구결과에 의하면, 해양생태계 내에서 Diuron의 경우는 1.25 mg L^{-1} , Irgarol의 경우는 2.5 mg L^{-1} 이상이 되면 *M. nudus*과 같은 성계의 정상배아 발

생률은 독성 영향을 받을 것으로 판단된다.

신방오도료 물질과 같이 연안역으로 유입되는 독성물질에 대한 생물반응을 살펴보기 위해서는 시험생물 및 독성물질에 대한 노출 시기 등과 같은 시험방법의 차이로 인해 생물 체내에 미치는 영향은 다양하게 나타날 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 시험방법의 표준화 및 유용 시험생물 종을 선택하는 연구는 매우 중요하다. 본 시험에 사용한 시험생물 종인 등근성게(*M. nudus*)는 생식세포인 정자와 난자를 쉽게 얻을 수 있으며 실험실에서 배아발생 과정을 관찰하기 용이한 장점으로 인해 생태독성 연구에 활발하게 이용될 수 있을 것으로 판단되며, 본 연구결과는 Diuron과 Irgarol 같은 신방오도료 물질의 해양환경 기준농도를 설정하는 귀중한 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

등근성게(*Mesocentrotus nudus*)의 수정 및 배아 발생률을 이용하여 신방오도료 2종(Diuron, Irgarol)의 독성영향을 조사하였다. Diuron과 Irgarol이 시험생물에게 미치는 독성영향을 살펴보기 위해, 시험농도 $1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00$ 및 40.00 mg L^{-1} 를 조성하였다. *M. nudus*으로부터 정자와 난자를 얻기 위하여 체강에 $0.5 \text{ M KCl } 1 \text{ mL}$ 를 주입하여, 수컷에서는 흰색이나 크림색 정자를, 암컷에서는 노란색이나 주황색 난자를 획득하였다. 획득 후, 30분 이내에 충분히 세척한 뒤 시험에 사용하여, 수정률의 경우는 10분, 정상배아 발생률은 48시간 동안 노출하였다. Diuron과 Irgarol은 수정률에는 영향을 미치지 않았으나, 정상배아 발생률은 농도 의존적으로 감소하였다($EC_{50}=21.62 \text{ mg L}^{-1}$, $95\% \text{ CI}=18.95\sim24.29 \text{ mg L}^{-1}$) and irgarol ($EC_{50}=22.45 \text{ mg L}^{-1}$, $95\% \text{ CI}=22.15\sim22.75 \text{ mg L}^{-1}$). 또한, Diuron과 Irgarol에 노출된 정상배아 발생률의 NOEC는 $<1.25 \text{ mg L}^{-1}$ 였으며, LOEC는 각각 $1.25, 2.5 \text{ mg L}^{-1}$ 를 나타냈다. Diuron과 Irgarol은 해양생태계 내에서 $1.25, 2.5 \text{ mg L}^{-1}$ 이상의 농도가 나타날 시, *M. nudus*를 포함한 무척추동물에 독성영향을 미치는 것으로 사료된다. 본 연구를 통하여 도출된 결과와 독성값(NOEC, LOEC 및 EC_{50})은 해양생태계 내에서 Diuron과 Irgarol 같은 신방오도료의 해양환경 기준농도를 설정하는 귀중한 자료로 활용될 것이다.

사 사

본 논문은 2020년도 국립수산과학원 경상과제 (R2020 027) 연구비 지원으로 수행하였다.

REFERENCES

- Alzieu C. 2000. Environmental impact of TBT: The French experience. *Sci. Total Environ.* 258:99-102.
- Bao V, K Leung, JW Qiu and M Lam. 2011. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Mar. Pollut. Bull.* 62:1147-1151.
- Bennett RF. 1996. Industrial manufacture and applications of Tributyltin compounds. pp. 21-61. In: Tributyltin: Case Study of an Environmental Contaminant, Mora SJ (eds.). Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- Cho GO. 2011. A study on the long-term variation of the distribution of organotin compounds and imposex in *Thais clavigera* on the coast of Korea. Chonnam National University. Gwangju, Korea. pp. 47-56.
- Cresswell T, JP Richards, GA Glegg and JW Readman. 2006. The impact of legislation on the usage and environmental concentrations of Irgarol 1051 in UK coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 52:1169-1175.
- Dafforn KA, JA Lewis and EL Johnston. 2011. Antifouling strategies: history and regulation, ecological impacts and mitigation. *Mar. Pollut. Bull.* 62:453-465.
- Diniz LG, MS Jesus, LA Dominguez, G Fillmann, EM Vieirac and TC Franco. 2014. First appraisal of water contamination by antifouling booster biocide of 3rd generation at Itaqui Harbor (São Luiz - Maranhão - Brazil). *J. Braz. Chem. Soc.* 25:380-388.
- Enright C. 1993. Control of fouling in bivalve aquaculture. *World Aquac.* 24:44-46.
- Greenwood PJ. 1983. The influence of an oil dispersant chem-serve OSE-DH on the viability of sea urchin gametes. Combined effects of temperature, concentration and exposure time on fertilization. *Aquat. Toxicol.* 4:15-29.
- Guardiola FA, A Cuesta, J Meseguer and MA Esteban. 2012. Risks of using antifouling biocides in aquaculture. *Int. J. Mol. Sci.* 13:1541-1560.
- Han SK. 2012. Distribution of antifouling agent using Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) method in southwestern coast of Korea. *J. Korean Soc. Mar. Environ. Saf.* 18: 85-93.
- Holmes G. 2014. Australia's pesticide environmental risk assessment failure: the case of diuron and sugarcane. *Mar. Pollut. Bull.* 88:7-13.
- Hwang UK, CW Lee, SM Lee, KH An and SY Park. 2008. Effects of salinity and standard toxic metals (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*). *J. Environ. Sci.* 17:775-781.
- Hwang UK, DH Kim, HM Ryu, JW Lee, SY Park and SK Han. 2014. Effect of bisphenol A on early embryonic development and the expression of Glutathione S-transferase (GST) in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *Korean J. Environ. Biol.* 32:234-242.
- Hwang UK, JW Lee, HM Ryu, JC Kang and SK Han. 2015. Effect of phenol on embryo development and expression of metallothionein in the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Ocean Sci. J.* 50:701-708.
- IMO. 2001. International convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships. International Maritime Organization, United Nations. pp. 22-25.
- Karlsson J, E Ytreberg and B Eklund. 2010. Toxicity of anti-fouling paints for use on ships and leisure boats to non-target organisms representing three trophic levels. *Environ. Pollut.* 158:681-687.
- Kim GY and MO Park. 2001. Evaluation of butyltin compounds and its distribution among seawater, sediment and biota from the Kwangyang bay. *J. Korean Fish. Soc.* 34:291-298.
- Kim NS, SH Hong, JG An, KH Shin and WJ Shim, 2015. Distribution of butyltins and alternative antifouling biocides in sediments from shipping and shipbuilding areas in South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 95:484-490.
- Kim NS, WJ Shim, UH Yim, SH Hong, SY Ha, GM Han and KH Shin. 2014. Assessment of TBT and organic booster biocide contamination in seawater from coastal areas of South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 78:201-208.
- Kobayashi N. 1980 Comparative sensitivity of various developmental stages of sea urchins to some chemicals. *Mar. Biol.* 58:163-171.
- Lee S, J Chung, H Won, D Lee and YW Lee. 2011. Analysis of antifouling agents after regulation of tributyltin compounds in Korea. *J. Hazard. Mater.* 185:1318-1325.
- Magnusson M, K Heimann, M Ridd and AP Negri. 2012. Chronic herbicide exposures affect the sensitivity and community structure of tropical benthic microalgae. *Mar. Pollut. Bull.* 65:363-372.
- Manzo S, S Buono and C Cremisini. 2006. Toxic effects of irgarol and diuron on sea urchin *Paracentrotus lividus* early development, fertilization, and offspring quality. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51:61-68.
- Moncada A. 2004. Environmental fate of diuron. Department of Pesticide Regulation Report. Sacramento, CA.

- Omae I. 2003. General aspects of tin-free antifouling paints. *Chem. Rev.* 103:3431–3448.
- OSPAR. 2010. Assessment of the Impact of Shipping on the Marine Environment. Quality Status Report 2010. OSPAR Commission, London, UK.
- Seo JY, JH Kang and JW Choi. 2019. Effects of anti-fouling system (AFS) on embryos of a sea urchin *Mesocentrotus nudus*. *Korean J. Environ. Biol.* 37:389–395.
- Voulvoulis N, MD Scrimshaw and JN Lester. 1999. Alternative antifouling biocides. *Appl. Organomet. Chem.* 13:135.
- Voulvoulis N, MD Scrimshaw and JN Lester. 2000. Occurrence of four biocides utilized in antifouling paints, as alternatives to organotin compounds, in waters and sediments of a commercial estuary in the UK. *Mar. Pollut. Bull.* 40:938–946.
- Wei CL, GT Rowe, E Escobar-Briones, C Nunnally, Y Soliman and N Ellis. 2012. Standing stocks and body size of deep-sea macrofauna: Predicting the baseline of 2010 deepwater horizon oil spill in the Northern Gulf of Mexico. *Deep-Sea Res. Part I-Oceanogr. Res. Pap.* 69:82–99.
- Yamada H. 2007. Behaviour, occurrence, and aquatic toxicity of new antifouling biocides and preliminary assessment of risk to aquatic ecosystems. *Bull. Fish Res. Agen.* 21:31–45.
- Ytreberg E, J Karlsson and B Eklund. 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. *Sci. Total Environ.* 408:2459–2466.