

## 해산 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존율 및 개체군 성장률을 이용한 신방오물질(Chlorothalonil)의 독성영향

허 승, 이주욱, 최 훈, 윤성진<sup>1</sup>, 권기영, 황운기, 박윤호\*

국립수산과학원 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위해평가센터, <sup>1</sup>한국해양과학기술원 울릉도·독도 해양연구기지

## Toxic effect of chlorothalonil, an antifouling agent, on survival and population growth rate of a marine rotifer, *Brachionus plicatilis*

Seung Heo, Ju-Wook Lee, Hoon Choi, Sung-Jin Yoon<sup>1</sup>, Ki-Young Kwon,  
Un-Ki Hwang and Yun-Ho Park\*

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

<sup>1</sup>Ulleungdo-Docho Ocean Science Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Ulleung 40205, Republic of Korea

### \*Corresponding author

Yun-Ho Park

Tel. 032-745-0683

E-mail. yunho7878@naver.com

Received: 11 May 2021

First Revised: 8 September 2021

Second Revised: 15 September 2021

Revision accepted: 15 September 2021

**Abstract:** In this study, the toxicity of chlorothalonil was investigated using survival rate and population growth rate of a marine rotifer, *Brachionus plicatilis*, typically used in live food in marine aquaculture systems. The survival rate of *B. plicatilis* was determined after 24 h of exposure to chlorothalonil (0.010–0.156 mg L<sup>-1</sup>). Population growth rate of *B. plicatilis* was calculated after 72 h of exposure to chlorothalonil (0.078–1.250 mg L<sup>-1</sup>). The survival rate and population growth rate of *B. plicatilis* exposed to chlorothalonil in single-dose toxicity assessment showed concentration-dependent reductions. Survival rates of *B. plicatilis* exposed to chlorothalonil had the following values: NOEC, 0.020 mg L<sup>-1</sup>; LOEC, 0.039 mg L<sup>-1</sup>; and EC<sub>50</sub>, 0.057 mg L<sup>-1</sup>. Population growth rate of *B. plicatilis* exposed to chlorothalonil had the following values: NOEC, 0.156 mg L<sup>-1</sup>; LOEC, 0.313 mg L<sup>-1</sup>; and EC<sub>50</sub>, 0.506 mg L<sup>-1</sup>. When the residual concentration of chlorothalonil in the marine coastal area was more than 0.039 mg L<sup>-1</sup>, it had a toxic effect on *B. plicatilis*, a zooplankton. This paper provides toxicity values that can be used as baseline data for organizing environmental standards of chlorothalonil. It also provides insight into toxic effects of chlorothalonil on other non-target organisms.

**Keywords:** toxicity assessment, antifouling agent, chlorothalonil, marine rotifer, *Brachionus plicatilis*

## 서 론

해양 환경 내에서 암석 및 인공물질 표면에 부착하여 성장하는 미생물, 해조류 및 저서 생물들과 같은 부착생물은

유기물질로 인해 형성된 유기막(Organic surface)에 최초로 부착하여, 생체막(Biofilm)을 형성하면서 천이에 따라 거대 생물 종(홍합 유생, 따개비 등)이 부착하게 된다(Amara et al. 2018). 해양생물의 부착은 선박의 속도 저하 및 무게 증

가로 연료 소비가 증가하고 부식을 유발한다(Soroldoni et al. 2017). 특히 선박의 선체 표면에 1 mm의 생물이 부착하면 연료 효율이 10% 감소하기 시작하여 평균연료 소모량이 최대 40%까지 증가하며, 전 세계적으로 유조선 및 컨테이너선의 연료비 손실이 연간 20억 달러에 가깝다(Yee et al. 2016).

생물 부착으로 발생하는 피해를 방지하기 위해 방도료가 개발되었고 방오능이 우수한 유기주석 화합물인 Tributyltin (TBT)이 1960년대부터 광범위하게 사용되었다(Darbre 2015). 하지만 TBT의 무분별한 사용으로 인해 해양생태계 및 해양생물 체내 고농도로 축적되기 시작하였고 해양생물의 호르몬 불균형 및 imposex 현상을 유발하였다(Rodriguez-Grimon et al. 2020; He et al. 2021). TBT의 강한 독성영향으로 2008년 국제해사기구(International Maritime Organization)에 의한 Antifouling system 협약이 체결되어 TBT는 전 세계적으로 사용이 금지되었으나(Amara et al. 2018; Hwang et al. 2018), 해양환경에 유입된 방오물질은 해양환경 내 잔류하며 해양생물에게 독성영향을 미칠 것으로 우려된다(Lee et al. 2019).

TBT를 대체하기 위해서 구리화합물(copper oxide)이 사용되었으나 TBT에 비해 낮은 방오능력으로 인해 chlorothalonil, diuron, irgarol, DCOIT, ziram, zinc pyrithione 등의 다양한 신방오물질을 추가하여 부족한 방오능력을 보완하였고(Jung et al. 2017), 신방오물질은 부착생물의 회피, 기피 기작을 유도하거나, 운동성 저하 및 사멸 등 강한 방오효과를 나타냈다(Zhao et al. 2015). 신방오물질 중에서 chlorothalonil은 농작물을 보호하기 위해서 사용되

는 살충제 및 살균제이다(DeLorenzo and Fulton 2012). Chlorothalonil은 TBT보다 독성이 낮아 광범위하게 사용되고 있지만, 환경 내에서 분해되어 2,4,5-trichloro-6-hydroxy-isophthalonitrile (SDS-3701), chlorothalonil sulfonic acid (R417888)와 같은 독성이 강한 분해 산물을 생성한다(Zhang et al. 2016). 이러한 분해산물은 미세조류와 알테미아(artemia) 유충의 생존율 및 개체군 성장률을 감소시키며, 다양한 비표적 해양생물에게 강한 독성영향을 나타낸다(Jung et al. 2017; Amara et al. 2018).

본 연구에서는 해양생태계 내에서 1차 소비자인 동물성 플랑크톤이며, 어류 치어 먹이생물로 어류 양식산업에 중요한 역할을 담당하고 있는 해산 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존 및 개체군 성장률을 이용하여, 신방오물질인 chlorothalonil의 생물독성을 평가하였으며, 무영향농도(NOEC, No Observed Effective Concentration), 최소영향농도(LOEC, Lowest Observed Effective Concentration)와 반수영향농도(EC<sub>50</sub>, 50% Effective Concentration)를 산출하였다. 이러한 연구결과는 chlorothalonil에 대한 생태안전성 평가를 위한 기준 연구의 기초자료로 활용될 수 있으며, 직접적인 생물영향 평가 결과를 통해 다른 신방오물질 간의 독성영향을 비교할 수 있는 유용한 자료로 사용이 기대된다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험 생물

시험생물은 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위

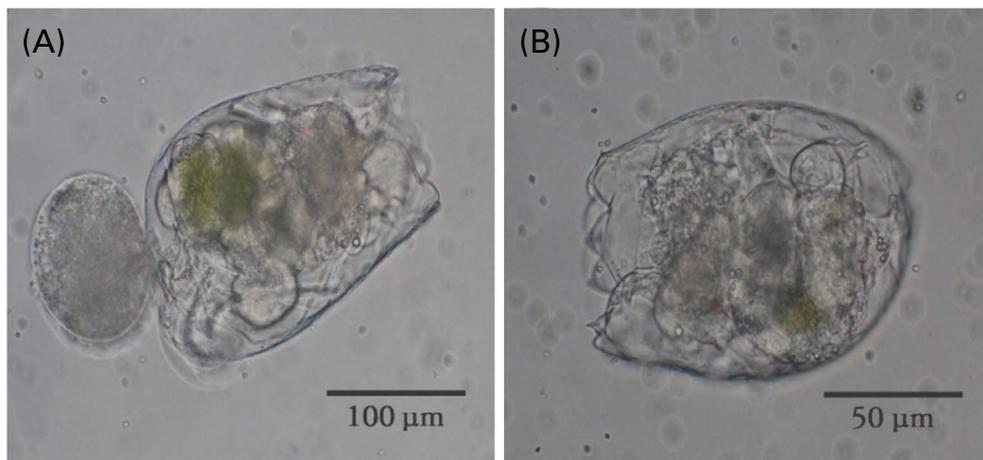


Fig. 1. Image of an adult *Brachionus plicatilis* with egg (A) and a female neonate (B).

해평가센터에서 3개월 이상 계대배양한 해산 로티퍼 (*Brachionus plicatilis*)를 사용하였다. *B. plicatilis*는 US EPA (EPA 1999) 및 국내 해양생물공정시험기준(MOF 2018)에서 지정한 지표 생물로, 25.0±0.5°C 항온 사육실에서 해산 클로렐라(*Chlorella vulgaris*)를 먹이생물로 하루에 한 번 공급하여 배양하였다. 해양생물공정시험기준을 준용하여 부화 후 2시간 이내의 크기가 유사하고 운동성이 활발한 신생개체를 선별하여 시험에 사용하였다(Fig. 1).

## 2. Chlorothalonil 농도 조성

Chlorothalonil 농도는 DMSO (Dimethylsulfoxide, sigma-aldrich, USA)를 carrier solution으로 사용하여 10,000 mg L<sup>-1</sup> stock solution을 제조한 뒤 멸균된 자연해수로 희석하여 농도를 조성하였다. Chlorothalonil의 시험 농도는 사전 예비시험을 통하여 생존율 시험은 0.010~0.156 mg L<sup>-1</sup>, 개체군 성장률 시험은 0.078~1.250 mg L<sup>-1</sup>으로 대조구를 포함한 6개 농도구를 설정하였다. Carrier solution의 최종 함유량은 전 시험구간에서 0.1%로 동일하게 조정하였다.

## 3. 생존율

생존율 시험은 24 well plate에 시험용액을 1 mL씩 6 반복으로 분주하였다. 신생개체를 시험구가 분주된 24 well plate에 1 well당 5 개체를 넣고 25°C±1°C 항온습기에서 24 h 암 배양하였다(Table 1). 24 h 노출 후, 해부 현미경을 이용하여 각 well당 생존한 *B. plicatilis*의 개체수를 계수하여 아래와 같은 방법으로 결과값을 산출하였다. 시험 중 먹이공급은 하지 않았고 *B. plicatilis*의 생존 여부는 섬모판, 미부 및 턱 관절의 움직임을 관찰하여 판단하였다.

$$\text{생존율} = \text{생존 개체수} / \text{최초 투입 개체수} \times 100$$

## 4. 개체군 성장률

개체군 성장률 측정 시험에서는 생존율과 마찬가지로 농도를 조성한 chlorothalonil을 24 well plate에 시험구당 1 mL씩 6 반복으로 분주한 뒤, 부화 2시간 이내의 신생개체를 1 well당 5개체씩 넣었다. 1 well당 2,000,000개의 해산 클로렐라(*C. vulgaris*)를 시험 직전에 먹이생물로 공급하였으며, 72 h 노출시킨 이후 각 well에 있는 모든 *B. plicatilis* 개체를 해부 현미경을 사용하여 계수한 후, 아래와 같은 방법으로 개체군 성장률을 산출하였다.

**Table 1.** Summary of new antifouling agent toxicity test conditions

Class	Condition
Culture type	Static non-renewal
Test organism	<i>Brachionus plicatilis</i>
Parameters	Survival rate (24 h) and population growth rate (72 h)
Temperature	25°C±1°C
Salinity	25±0.5
Light period	Darkness
Test volume	1 mL
Culture solution	Filtered (0.45 µm) and sterilized seawater
Feed organism	<i>Chlorella vulgaris</i>
Feeding volume	2,000,000 cells
Validity	Survival rate > 90%, Population growth rate > 0.5

$$\text{개체군 성장률} = (\ln N_d - \ln N_0) / d$$

(N<sub>d</sub> = 날짜 d에서의 개체 수, N<sub>0</sub> = 초기 개체 수, d = 배양일)

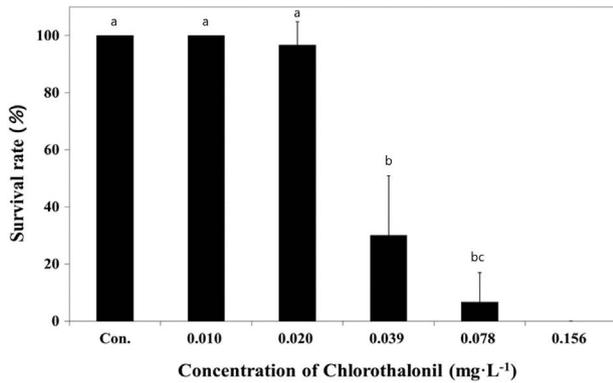
## 5. 통계 분석

대조군과 시험군의 유의성 검정은 IBM SPSS statistics version 20 (IBM Co., New York, USA)의 일원분산분석(ANOVA)의 다중 비교를 위한 Tukey test를 이용하여 비교하였으며, 유의수준은 p < 0.05로 설정하였다. 생존율과 개체군 성장률에 대한 무영향농도(NOEC, No Observed Effect Concentration)와 최소영향농도(LOEC, Lowest Observed Effect Concentration)는 Toxicalc 5.0 (Tidepool Scientific Software, California, USA)의 Dunnett's test로 산출하였고, 반수 영향농도(EC<sub>50</sub>, Effective Concentration)와 95% 신뢰구간(95% CI, 95% Confidence Limit)은 probit test를 이용하여 분석하였다.

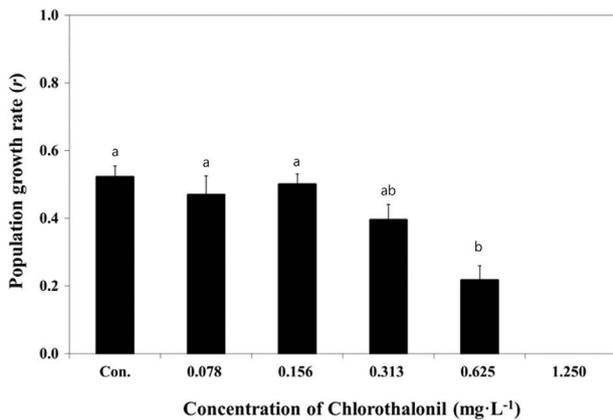
## 결 과

### 1. 생존율 변동

신방오물질인 chlorothalonil에 노출된 *B. plicatilis*의 생존율 변화를 Fig. 2에 나타냈다. 대조구의 생존율은 90% 이상으로 나타나 시험조건에 적합하였다. 0.020 mg L<sup>-1</sup> 농도까지는 생존율의 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. 하지만



**Fig. 2.** Changes in survival rate of *Brachionus plicatilis* exposed to chlorothalonil. Vertical bars are mean  $\pm$  SD ( $n=6$ ). Values with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ) as determined by Tukey's multiple range test.



**Fig. 3.** Changes in population growth rate of *Brachionus plicatilis* exposed to chlorothalonil. Vertical bars are mean  $\pm$  SD ( $n=6$ ). Values with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ) as determined by Tukey's multiple range test.

0.039 mg L<sup>-1</sup>에서부터 생존율이 감소하기 시작하여 0.078 mg L<sup>-1</sup>에서 생존율이 급격하게 감소하였으며, 최고 시험농도인 0.156 mg L<sup>-1</sup>에서는 모두 사멸하여 농도의존적인 결과를 나타냈다.

## 2. 개체군 성장률 변동

*B. plicatilis*의 개체군 성장률 변화를 Fig. 3에 나타냈다. 대조구의 개체군 성장률이 0.5 이상으로 나타나 시험조건에 적합하였다. 개체군 성장률도 생존율과 유사하게 chlorothalonil의 농도가 증가할수록 감소하는 농도의존적인 결과를 나타냈다. 0.156 mg L<sup>-1</sup> 농도까지는 대조구와 비

**Table 2.** Toxicity evaluation using survival rate and population growth rate of *Brachionus plicatilis* exposed to chlorothalonil (mg L<sup>-1</sup>)

Parameters	Survival rate	Population growth rate
NOEC	0.0120	0.156
LOEC	0.039	0.313
EC <sub>50</sub>	0.057	0.506
95% CL	0.049–0.066	0.424–0.606

NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, EC<sub>50</sub>: Half effective concentration, 95% CL: 95% confidence limit

교해 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 0.313 mg L<sup>-1</sup>부터 개체군 성장률이 감소하기 시작하여, 농도가 증가할수록 개체군 성장률이 급격하게 감소하였으며, 실험 최고농도인 1.250 mg L<sup>-1</sup>에서는 개체군이 증가하지 않았다.

## 3. 생존율 및 개체군 성장률을 이용한 독성평가

Chlorothalonil이 *B. plicatilis*의 생존율과 개체군 성장률에 미치는 영향을 독성치로 나타냈다 (Table 2). NOEC는 각각 0.020 mg L<sup>-1</sup>, 0.156 mg L<sup>-1</sup>로 나타났고, LOEC는 각각 0.039 mg L<sup>-1</sup>, 0.313 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다. EC<sub>50</sub>은 각각 0.057 mg L<sup>-1</sup>, 0.506 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다.

## 고 찰

과거에 널리 사용되었던 TBT와 같은 유기주석화합물은 어패류 등의 해양생물에게 imposex, DNA 손상 및 기형 현상을 유발하는 것으로 알려지면서, TBT를 대체할 신방오물질이 만들어져 사용되고 있다 (Almeida *et al.* 2017). 하지만, 신방오물질의 사용이 점차 증가하여 해양 환경 내 잔류 농도에 기인하는 비표적 독성영향이 있다 (Oliveira *et al.* 2017). 본 연구결과에서도 chlorothalonil에 노출된 *B. plicatilis*의 생존율 및 개체군 성장률은 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈고, 독성영향은 표준독성 반응인 sigmoid 곡선 형태를 나타내, *B. plicatilis*는 chlorothalonil 농도가 증가할수록 개체군 성장률이 감소하고 사망률이 증가할 것으로 판단된다. 하지만 노출시간이 증가할수록 독성이 증가하는 일반적인 경향과는 다르게 chlorothalonil에 노출된 로티퍼는 24시간 생존율의 독성이 더 높게 나타

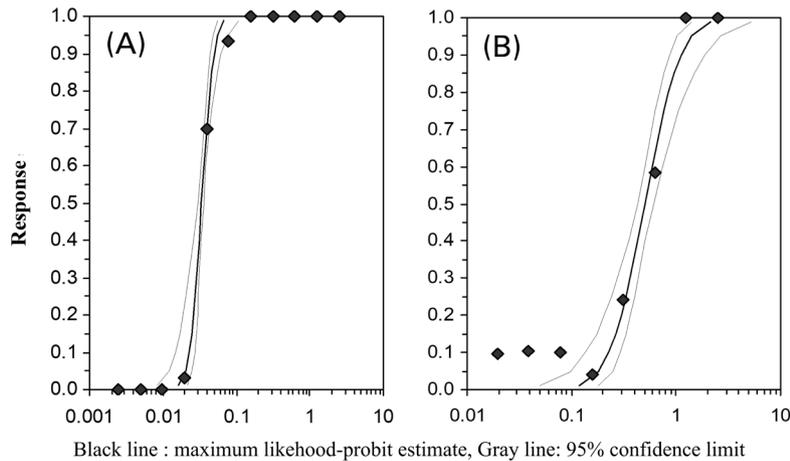


Fig. 4. Concentration-response after chlorothalonil treatment using survival rate (A) and population growth rate (B) of *Brachionus plicatilis*.

났다. 이러한 결과는 chlorothalonil, DCOIT, dichlorluanid와 같은 살충제 (pesticide) 기원의 방오물질에서 나타났으며 (Park 2020), 먹이생물로 공급되는 녹조류 *C. vulgaris*가 chlorothalonil과 같은 살충제 성분을 흡수 및 농축하기 때문에 chlorothalonil의 농도변화에 따라 로티퍼 개체군성장률의 독성영향이 낮게 나타난 것으로 판단된다 (Hussein et al. 2017). 현재 미국을 비롯한 선진국에서는 다양한 종류의 지표 생물을 이용해 신방오물질의 생태독성평가가 수행되어 왔지만 (Fernández-Alba et al. 2002; Devilla et al. 2005; Jung et al. 2017), 국내에서는 신방오물질의 해양 내 잔류가 확인되었음에도 불구하고 지표 생물을 이용한 생태독성평가는 미흡한 실정이다 (Lee et al. 2011; Hwang et al. 2018).

Chlorothalonil은 일반적으로 신경계에 작용하여 뉴런 말단의 GABA-A receptor의  $NA^+$  흡수를 차단하는 메커니즘을 사용하여 방오능을 발휘하는 것으로 알려져 있다 (Arora et al. 2013). 따라서, *B. plicatilis*의 신경세포체 말단에 chlorothalonil이 작용하여 신경전달물질의 흡수를 방해해 정상적인 생리활동을 저해하는 것으로 판단된다. 또한, chlorothalonil의 탄소 고리에 결합된 염소 이온 ( $Cl^-$ )이 *B. plicatilis*의 세포막 인지질 (Phospholipid)과 결합하여 염화 인지질 (Chlorinated phospholipid)을 생성해, 생체 내 염증 반응을 통해 독성영향을 일으킬 것으로 판단된다 (Arora et al. 2013).

Chlorothalonil은 다양한 해양생물에게 독성영향을 미치는 것으로 보고되고 있다 (Jung 2012; Amara et al. 2018). 물벼룩 (*Daphnia magna*)의 생식작용을 저해하며 ( $EC_{50}$ : 28  $\mu g$

$L^{-1}$ ), 유령명게 (*Ciona intestinalis*)의 난모세포 기형에 관여 ( $EC_{50}$ : 42  $\mu g L^{-1}$ )하는 것으로 나타났으며 (Ernst et al. 1991; Bellas 2006), 바다 송사리 (*Oryzias melastigma*)의 치어발생을 저해 ( $LC_{50}$ : 110  $\mu g L^{-1}$ )하는 것으로 나타났다 (Bao et al. 2011). 또한, 일반적으로 chlorothalonil에 가장 민감하게 반응하는 생물은 로티퍼로 알려져 있으며 (de Campos et al. 2021), chlorothalonil은 다른 살충제 기원의 방오물질과 비교하여 로티퍼 및 플랑크톤 갑각류 (planktonic crustaceans)에서 가장 강한 독성영향을 나타내는 방오물질 중 하나였다 (Table 3).

주요 해운 선진국의 통계(2000~2019)에 따르면 대한민국은 세계 5위 수준의 선대를 운용하는 것으로 나타났다 (Kim et al. 2014). 많은 선박이 운용됨에 따라 선박의 유지, 보수 및 물리적인 충격으로 인해 탈락된 신방오물질은 해양환경에 잔류하여 지속적으로 방오물질의 방출이 예상된다 (Kim et al. 2014). 특히 chlorothalonil은 국내 전 해역에서 다른 방오물질에 비해 잔류농도가 높게 검출되어 (Lee et al. 2011), 생태학적으로 양식산업 방면에서 중요한 역할을 담당하는 로티퍼와 같은 해양생물에게 독성영향을 나타낼 것으로 예측된다. 따라서 지속적인 모니터링 연구를 통해 chlorothalonil의 잔류농도 및 거동 분석이 필요하며, 장기적으로 방오도료 물질로서 chlorothalonil의 사용을 제한 및 규제하기 위한 방안이 필요하다고 판단된다. 본 연구 결과는 chlorothalonil에 대한 *B. plicatilis* 생존율과 개체군 성장률을 이용한 생태독성 시험결과를 바탕으로 해양환경 내 chlorothalonil의 독성을 평가하기 위한 기초연구자료를

**Table 3.** Toxicity to rotifer and planktonic crustaceans of an antifouling agent ( $\text{mg L}^{-1}$ )

Species	End points	Chlorothalonil	Dichlofluanid	Sea-Nine 211 (DCOIT)	Copper pyrithione	Zinc pyrithione	Reference
Rotifer	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)	0.057 (0.049–0.066)					This study
	72 h, EC <sub>50</sub> (95% CL)	0.506 (0.424–0.606)					
<i>Brachionus plicatilis</i>	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)					0.07 (0.06–0.07)	Garaventa et al. 2010
	48 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)					0.02 (0.02–0.03)	
	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)			0.150 (0.066–0.342)			Figueiredo et al. 2019
<i>Philodina acuticomis</i>	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)	0.0015 (0.001–0.0024)					Hagen et al. 2010
Planktonic crustacean							
<i>Amphiascus tenuiremis</i>	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)	Female, 0.053 (0.046–0.061)					Bejarano et al. 2005
	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)	Male, 0.027 (0.023–0.031)					
	48 h, LC <sub>50</sub> (Mean $\pm$ SD)	2.683 $\pm$ 0.102	154.944 $\pm$ 49.428	0.318 $\pm$ 0.092	0.319 $\pm$ 0.016	3.14 $\pm$ 0.187	Jung et al. 2017
<i>Artemia</i> sp.	24 h, EC <sub>50</sub> (95% CL)					19.57 (11.31–33.87)	Garaventa et al. 2010
	48 h, EC <sub>50</sub> (95% CL)					11.19 (6.56–19.09)	
	48 h, LC <sub>50</sub> (95% CL)					35.74 (26.24–48.48)	
<i>Artemia salina</i>	24 h, LC <sub>50</sub> (SD)	1.00 (0.80–1.20)			0.83 (0.58–1.07)	3.17 (2.45–3.88)	Koutsafis and Aoyama 2007

Table 3. Continued

Species	End points	Chlorothalonil	Dichlofluanid	Sea-Nine 211 (DCOIT)	Copper pyriithione	Zinc pyriithione	Reference
<i>Balanus amphitrite</i>	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)				0.063 (0.059-0.067)	0.210 (0.200-0.230)	Bao et al. 2011
	24 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)					2.415 (1.298-4.495)	Sanchez-Bayo and Goka 2006
<i>Cyprretta seuratti</i>	48 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)					0.524 (0.167-1.643)	
	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)	0.067 (0.053-0.084)			0.011 (0.0087-0.013)	0.029 (0.019-0.044)	Bao et al. 2011
<i>Elasmopus rapax</i>	4 days, LC <sub>50</sub> (95% CI)					0.0215 (0.0143-0.0325)	Bao et al. 2012
	7 days, LC <sub>50</sub> (95% CI)					0.0112 (0.0083-0.0151)	
<i>Heptacarpus futilirostris</i>	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)					0.120 (0.0923-0.157)	Mochida et al. 2006
	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)	Embryo, 0.396 (0.331-0.473)					
<i>Palaeomonetes pugio</i>	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)	Larvae, 0.050 (0.044-0.055)					Key et al. 2003
	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)	Adult, 0.153 (0.120-0.195)					
<i>Tigriopus japonicas</i>	24 h, EC <sub>50</sub> (95% CI)	0.016 (0.014-0.018)					Onduka et al. 2012
	96 h, LC <sub>50</sub> (95% CI)	0.091 (0.086-0.096)			0.030 (0.026-0.036)	0.170 (0.150-0.190)	Bao et al. 2011

CI: Confidence intervals, CL: Confidence limit, SD: Standard deviation

제시하고 다른 방오물질의 독성 세기를 비교할 수 있는 유용한 자료로 활용될 수 있을 것이다.

## 적 요

어류 치어기의 주요 먹이로 생물로 사용되는 해산 로티퍼 (*Brachionus plicatilis*)의 생존율 및 개체군 성장률을 이용하여, 국내 연안에 잔류하고 있는 것으로 알려진 신방오물질인 chlorothalonil의 독성을 평가하고자 하였다. *B. plicatilis*의 생존율은 0.039 mg L<sup>-1</sup>에서 유의하게 감소하기 시작하여, chlorothalonil의 농도가 증가할수록 감소하는 농도의존성을 나타냈다. 생존율의 무영향농도는 0.020 mg L<sup>-1</sup>, 최소영향농도는 0.039 mg L<sup>-1</sup>, 반수영향농도는 0.057 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다. 개체군 성장률 또한 생존율과 마찬가지로 0.313 mg L<sup>-1</sup>에서부터 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 개체군 성장률의 무영향농도는 0.156 mg L<sup>-1</sup>, 최소영향농도는 0.313 mg L<sup>-1</sup>, 반수영향농도는 0.506 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다. 본 연구 결과, 해양 생태계 내에서 신방오물질인 chlorothalonil의 잔류 농도가 0.039 mg L<sup>-1</sup> 이상일 경우 *B. plicatilis*에게 독성영향을 줄 것으로 예상되며, 본 연구의 생태독성 시험결과를 바탕으로 해양환경 내 chlorothalonil의 독성을 평가하기 위한 기초연구자료 및 다른 방오물질과의 독성영향을 비교평가할 수 있는 자료로 활용될 수 있을 것이다.

## 사 사

본 연구는 2021년도 국립수산과학원 경상공제 (R2021 033) 연구비 지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위해평가센터에서 수행하였다.

## REFERENCES

- Almeida JR, M Correia da Silva, E Sousa, J Antunes, M Pinto and V Vasconcelos. 2017. Antifouling potential of nature-inspired sulfated compounds. *Sci. Rep.* 7:42424.
- Amara I, W Miled, RB Slama and N Ladhari. 2018. Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 57:115-130.
- Arora SK, P Batra, T Sharma, BD Banerjee and S Gupta. 2013. Role of organochlorine pesticides in children with idiopathic seizures. *ISRN Pediatrics.* 2013:849709.
- Bao WWW, JWY Yeung and KMY Leung. 2012. Acute and sub-lethal toxicities of two common pyrethroid antifouling biocides to the marine amphipod *Elasmopus rapax*. *Toxicol. Environ. Health Sci.* 4:194-202.
- Bao WWW, KMY Leung, JW Qiu and MHW Lam. 2011. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Mar. Pollut. Bull.* 62:1147-1151.
- Bejarano AC, GT Chandler and AW Decho. 2005. Influence of natural dissolved organic matter (DOM) on acute and chronic toxicity of the pesticides chlorothalonil, chlorpyrifos and fipronil on the meiobenthic estuarine copepod *Amphiascus tenuiremis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 321:43-57.
- Bellas J. 2006. Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. *Sci. Total Environ.* 367:573-585.
- De Campos BG, J Figueiredo, F Perina, DMS Abessa, S Loureiro and R Martins. 2021. Occurrence, effects and environmental risk of antifouling biocides (EU PT21): Are marine ecosystems threatened? *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* in press. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1910003>
- Darbre PD. 2015. What are Endocrine disrupters and where are they found? pp. 3-26. In: *Endocrine Disruption and Human Health.* Academic Press. Cambridge, MA.
- DeLorenzo ME and MH Fulton. 2012. Comparative risk assessment of permethrin, chlorothalonil, and diuron to coastal aquatic species. *Mar. Pollut. Bull.* 64:1291-1299.
- Devilla RA, MT Brown, M Donkin, GA Tarran, J Aiken and JW Readman. 2005. Impact of antifouling booster biocides on single microalgal species and on a natural marine phytoplankton community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 286:1-12.
- EPA. 1999. Reregistration eligibility decision (RED) chlorothalonil. Environmental Protection Agency. Washington. D.C.
- Ernst W, K Doe, P Jonah, J Young, G Julien and P Hennigar. 1991. The toxicity of Chlorothalonil to aquatic fauna and the impact of its operational use on a pond ecosystem. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21:1-9.
- Fernández-Alba AR, MD Hernando, L Piedra and Y Chisti. 2002. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Anal. Chim. Acta* 456:303-312.
- Figueiredo J, T Oliveira, V Ferreira, A Sushkova, S Silva, D Carneiro, DN Cardoso, SF Gonçalves, F Maia, C Rocha, J Tedim, S Loureiro and R Martins. 2019. Toxicity of innovative anti-fouling nano-based solutions in marine species. *Environ. Sci.*

- Nano 5:1418–1429.
- Garaventa F, C Gambardella, AD Fino, M Pittore and M Faimali. 2010. Swimming speed alteration of *Artemia* sp. and *Brachionus plicatilis* as a sub-lethal behavioural end-point for ecotoxicological surveys. *Ecotoxicology* 19:512–519.
- Hagen T, G Allinson, A Wightwick, SA Salzman and D Nugegoda. 2010. Utilization of a new bdelloid rotifer (*Philodina acuticornis odiosa*) assay to evaluate the effect of salinity on the toxicity of chlorothalonil. *Toxicol. Environ. Chem.* 92:743–748.
- He S, P Li and Z Li. 2021. Review on endocrine disrupting toxicity of triphenyltin from the perspective of species evolution: aquatic, amphibious and mammalian. *Chemosphere* 269:128711.
- Hwang UK, H Choi, YH Park, NY Park, SJ Jang, SM Lee, YS Choi, JY Yang and JW Lee. 2018. Toxicity assessment of antifouling agent using the survival and population growth rate of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Korean J. Environ. Biol.* 36:392–399.
- Hussein MH, AM Abdullah, NI Badr El-Din and ESI Mishaqa. 2017. Biosorption potential of the microchlorophyte *Chlorella vulgaris* for some pesticides. *J. Fertil. Pestic.* 8:2471–2728.
- Jung SM. 2012. Development of new antifouling systems based on nontoxic self-polishing copolymer coatings. Ph.D. thesis. Soonchunhyang University. Asan, Korea.
- Jung SM, JS Bae, SG Kang, JS Son, JH Jeon and HJ Lee. 2017. Acute toxicity of organic antifouling biocides to phytoplankton *Nitzschia pungens* and zooplankton *Artemia* larvae. *Mar. Pollut. Bull.* 124:811–818.
- Key PB, SL Meyer and KW Chung. 2003. Lethal and sub-lethal effects of the fungicide Chlorothalonil on three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *J. Environ. Sci. Health Part B* 38:539–549.
- Kim NS, WJ Shim, UHYim, SH Hong, SY Ha and GM Han. 2014. Assessment of TBT and organic booster biocide contamination in seawater from coastal areas of South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 78:201–208.
- Koutsaftis A and I Aoyama. 2007. Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Sci. Total Environ.* 387:166–174.
- Lee JW, H Choi, YH Park, Y Lee, S Heo and UK Hwang. 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 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.
- Mochida K, K Ito, H Harino, A Kakuno and K Fujii. 2006. Acute toxicity of pyrrithione antifouling biocides and joint toxicity with copper to red sea beam (*Pagrus major*) and toy shrimp (*Heptacarpus futilirostris*). *Environ. Toxicol. Chem.* 25:3058–3064.
- MOF. 2018. Marine Environment Standard Method, Part 3 Marine Organism Standard Method. Ministry of Oceans and Fisheries. Sejong, Korea. pp. 115–123.
- Oliveira IB, KJ Groh, R Schönerberger, C Barroso, KVThomas and MJ Suter. 2017. Toxicity of emerging antifouling biocides to non-target freshwater organisms from three trophic levels. *Aquat. Toxicol.* 191:164–174.
- Onduka T, A Kakuno, K Kono, K Ito, K Mochida and K Fujii. 2012. Toxicity of chlorothalonil to marine organisms. *Fish. Sci.* 78:1301–1308.
- Park YH. 2020. Studied on ecotoxicity assessment of new antifouling agents using marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. Incheon National University. Incheon, Korea.
- Rodriguez-Grimon R, N Campos and I Castro. 2020. Imposex Incidence in gastropod species from Santa Marta coastal zone, Colombian Caribbean Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 105:728–735.
- Sánchez-Bayo F and K Goka. 2006. Influence of light in acute toxicity bioassays of imidacloprid and zinc pyrrithione to zooplankton crustaceans. *Aquat. Toxicol.* 78:262–271.
- Soroldoni S, F Abreu, IB Castro, FA Duarte and GLL Pinho. 2017. Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment? *J. Hazard. Mater.* 330:76–82.
- Yee MSL, PS Khiew, WS Chiu, YF Tan, YY Kok and CO Leong. 2016. Green synthesis of graphene-silver nanocomposites and its application as a potent marine antifouling agent. *Colloids Surf. B-Biointerfaces* 148:392–401.
- Zhao X, Y Su, J Cao, Y Li, R Zhang, Y Liu and Z Jinag. 2015. Fabrication of antifouling polymer-inorganic hybrid membranes through the synergy of biomimetic mineralization and nonsolvent induced phase separation. *J. Mater. Chem. A* 3:7287–7295.
- Zhang M, Z Xu, Y Teng, P Christie, J Wang, W Ren, Y Luo and Z Li. 2016. Non-target effects of repeated chlorothalonil application on soil nitrogen cycling: The key functional gene study. *Sci. Total Environ.* 543:636–643.