

해양생태독성평가를 위한 열대 요각류 *Nitocra* sp.의 이용 가능성

이균우*, 최영웅
한국해양과학기술원

The availability of tropical copepod *Nitocra* sp. for marine ecotoxicological evaluation

Kyun-Woo Lee*, Young-Ung Choi

Marine Life & Ecosystem Division, Korea Institute of Ocean Science & Technology

요약 열대지역과 같은 특정지역에서 오염물질의 독성평가 시, 그 지역의 생태환경에 적합한 위해성평가를 위해서는 그 지방 고유의 생물에 대한 독성실험이 요구된다. 따라서 본 연구는 열대에서 분리한 열대 요각류 *Nitocra* sp.를 독성실험생물로 사용하기 위해 이들을 안정적으로 배양/유지하기 위한 최적배양환경조건과 해양생태독성평가 가능성을 조사하였다. 최적 배양환경요인으로 수온, 염분 및 먹이에 대해 조사하였으며 생태독성평가는 급성독성과 만성독성 실험으로 나누어 실시하였다. 최적배양조건 실험데이터의 통계분석을 위해 One-way ANOVA test를 실시하였다. 최적배양환경조건을 조사한 결과, *Nitocra* sp.는 수온 29°C, 염분 24~34‰에서 먹이로 *Tetraselmis suecica*를 공급하였을 때, 비교적 빠른 발달기간과 높은 생존율을 보였다. 최적배양조건을 바탕으로 구리와 비소에 대한 독성평가를 실시한 결과, 구리와 비소의 각 노출농도에 따라 민감하게 잘 반응해서 반수치사농도 즉 LC₅₀값과 영향을 미치지 않는 농도인 NOEC값을 얻을 수 있었다. 만성독성시험 결과, 구리와 비소노출 모두, 성비와 생산력은 유의적인 차이가 없었던 반면, 발달기간과 생존율은 농도에 따라 반응을 보였기 때문에 중발점으로 사용이 가능한 것으로 나타났다. 본 연구를 종합해 보았을 때, 열대 요각류인 *Nitocra* sp.는 열대 해양독성물질 평가를 위한 생태독성실험생물로 사용이 가능할 것으로 판단되며 차후 다양한 독성물질의 평가에 활용이 기대된다.

Abstract Indigenous species are needed for more accurate toxicity assessments in tropical regions. Thus, we determined not only the optimum culture conditions for stable maintenance of *Nitocra* sp. isolated from tropical regions but also the availability of copepods for marine ecotoxicological evaluation. Experiments on temperature, salinity, and diet as factors for optimum culture conditions as well as acute and chronic toxicity tests for ecotoxicological assessment were carried out. Data on optimum culture conditions were analyzed for statistically significant observations using one-way analysis of variance (ANOVA). Optimum temperature and salinity for *Nitocra* sp. were 29°C and 24~39‰, and *Nitocra* sp. fed *Tetraselmis suecica* had relatively faster development and higher survival than other microalga. Under optimum culture conditions, toxicity tests were carried out. The LC₅₀ level and NOEC (no observed effect concentration) levels of copper and arsenic were calculated in the acute toxicity test. In the chronic test of Cu and As, developmental time and survival traits were usable endpoints for toxicity assessments. As a result, tropical copepod *Nitocra* sp. seems to be a potential candidate organism for marine ecotoxicological evaluation.

Keywords : Tropical, Copepod, *Nitocra* sp., Ecotoxicological evaluation, Endpoint

본 논문은 한국해양과학기술원 연구과제(PE99243, PO01285)로 수행되었음.

*Corresponding Author : Kyun-Woo Lee(Korea Institute of Ocean Science & Technology)

Tel: +82-31-400-7827 email: kyunu@kiost.ac.kr

Received October 4, 2016

Revised October 31, 2016

Accepted November 10, 2016

Published November 30, 2016

1. 서론

과학과 산업의 발달에 따라 해양오염은 전 세계에서 광범위하게 발생하고 있으며 극지나 열대해역과 같은 청정해역도 인간의 활동 증가로 인한 오염정도가 증가하여 세계적 걱정거리가 되고 있다. 특히, 열대 산호초 지역은 전 해양에서 가장 높은 생물 다양성과 생산성을 가지며 일부 선진국에서는 열대해역의 중요성을 인식하고 해양 생물과 기후변동 연구를 진행 중에 있다[1-2]. 생활폐수, 플라스틱, 농약, 중금속, 기름 또는 화학물질 누출사고 및 대기를 통해 이동하는 잔류유기오염물질 (POPs) 등은 열대 해양오염의 원인이 되며 이들은 열대 해양생물에 직/간접적으로 악영향을 미친다. 특히, 대부분의 열대 해양은 빈영양 환경에 의한 제한적인 분해 미생물군의 서식으로 다른 해역보다 오염에 더 민감한 것으로 알려져 있다[1]. 따라서 열대 해양생태계는 전 지구적으로 보호되어야 할 필요성이 있으며 열대 해양오염에 대한 지속적인 모니터링과 생물영향평가는 반드시 필요하다.

해양에는 다양한 요각류가 서식하며 이들은 대부분 1차 소비자로서 생산자와 소비자사이의 에너지흐름을 연결해 주는 핵심적인 역할을 수행한다. 또한 이들은 짧은 생활사를 가지고 취급이 쉽기 때문에 지속적이고 일정한 배양/유지를 통해 필요시에 즉시 안정적으로 사용할 수 있을 뿐 아니라 작은 크기는 오염물질의 독성평가지 사용되는 독성물질의 양을 최소화할 수 있는 장점이 있어 다양한 기관에서 독성실험생물로 개발하기 위한 지속적인 노력이 진행되고 있다 [4-7]. 특정지역에서 오염물질의 독성평가 시, 그 지역의 생태환경에 적합한 위해성평가를 위해서는 그 지방 고유의 생물에 대한 독성실험이 요구된다. 예를 들어, 같은 종일지라도 온대지역과 열대 지역에 서식하는 생물의 특정 독성에 대한 민감성은 확연히 다르게 나타난다[2, 8-12]. 이러한 차이에도 불구하고 현재까지 열대역 생태독성실험을 위해 개발된 시험생물은 온대생물에 비해 매우 한정적이며[8], 국내에서는 아직까지 열대시험생물에 대한 연구가 시도된 바 없다. 현재 우리나라의 한국해양과학기술원은 극지와 열대국가에 연구기지를 운영하고 있고 이는 국가경쟁력도의 확대와 생물자원부국실현이라는 측면에서 그 가치가 지속적으로 증가되고 있어 열대시험생물개발에 대한 당위성을 부여할 수 있다. 따라서 본 연구는 열대해양생태독성평가를 위한 독성실험생물의 개발을 위해, 열대역에서

요각류인 *Nitocra* sp.를 분리한 다음 최적배양환경을 조사하였으며, 표준독성물질인 구리와 비소에 노출하여 독성평가가능성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 요각류의 채집 및 동정

열대 요각류 *Nitocra* sp.는 마이크로네시아 Chuuk주 Weno섬 인근 rock pool (7°24'40.3"N; 151°52'27.1"E)에서 채집하였다. 채집지역의 염분, 수온, pH 및 DO는 각각 37‰, 36.6°C, 8.43 및 12.05 mg/L였다. 채집된 요각류는 해부현미경하에서 isolation되었고 수온 29±1°C, 염분 33 ‰에서 먹이로 식물플랑크톤인 *Tetraselmis suecica*와 *Isochrysis galbana*를 공급하면서 2014년 4월부터 현재까지 한국해양과학기술원에서 배양/유지되고 있다. 식물플랑크톤은 Lee and Choi[13-15]의 방법에 따라 배양되었다. 요각류의 DNA동정을 위해 18s rDNA 유전자를 사용하였으며 밝혀진 염기서열은 GenBank Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 통하여 동정하였다.

2.2 *Nitocra* sp.의 최적 배양환경조건규명

Nitocra sp.의 안정적인 배양을 위해 이들의 최적배양 조건을 조사하였다. 염분(24, 29, 34, 39 및 44‰), 수온(25, 29, 33, 37 및 41°C) 및 먹이(*Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis* sp., *Rhodomonas* sp. 및 *Chaetoceros simplex*)에 따른 *Nitocra* sp.의 발달 기간 및 생존률을 조사하였다. 12 well culture plate (배양수 2 mL)에 갓 부화한 nauplius를 접종하여 1일 간격으로 발달단계를 관찰하였다. 수온별 실험을 위해 설정 온도가 일정하게 유지되는 multi-thermo 배양기 (비전과학, VS-1203P9)를 사용하였으며, 염분별 실험은 증류수 및 증발법을 사용하여 각각의 설정염분으로 조정한 후 29°C로 유지되는 배양기(대한과학, SIR-250) 내에서 실시하였다. 모든 실험에서 먹이는 각 well 당 약 4 µg (건중량) 되도록 유지하였으며, 실험기간 동안 환수는 실시하지 않았다.

2.3 생태독성평가를 위한 endpoint 조사 및 생태독성평가 적용

2.3.1 급성독성시험

Nitocra sp.를 이용한 급성독성시험을 위한 표준독성 물질로 구리 (CuSO₄ 5H₂O, Sigma, USA, > 99% pure) 와 비소 (sodium *m*-arsenite (NaAsO₂, Sigma, USA, 94% pure)를 사용하였다. 실험 요각류로 24 h이 지나지 않은 성체 암컷을 사용하였고 12 well culture plate (Nunc, Inc., USA; working volume, 4mL)에 각 hole당 10 마리를 수용하여 34%, 29°C에서 48 h 동안 폐사율을 조사하였다. 각 중금속의 처리농도는 Cu는 0, 0.032, 0.063, 0.13, 0.25, 0.5, 1 mg/L, As는 0, 0.32, 0.63, 1.25, 2.5, 5.0 mg/L로 설정하였다. *Nitocra* sp.의 폐사율은 입체현미경 하에서 1분 이상 움직임이 없는 개체를 계수하여 계산하였다. 모든 실험은 3반복 실시하였다. 실험결과는 probit 분석법에 의해 LC₁₀ 및 LC₅₀값을 얻었고 Dunnett's test에 의해 NOEC (no observed effect concentration)를 계산하였다.

2.3.2 만성독성시험

Nitocra sp.의 개체발생기간과 성체까지의 생존율, 성비 및 생산력 조사를 위한 실험으로 Lee et al. (2008)의 방법[16]에 근거하여, 부화 후 24시간이 지나지 않은 *Nitocra* sp.의 nauplius (N1~N2기)를 일정농도의 각 배양수 4 mL가 담겨있는 12 wells tissue culture plate에 각각 10 마리를 넣고 20°C, 32 psu에서 광주기 12L:12D 하에서 먹이로 *Tetraselmis suecica* (10,000 cells/mL)를 1일 1회 공급하여 배양하였다. 배양수는 1일 1회 환수하였으며 nauplius기는 ~50%, copepodite 변태이후는 ~100% 환수를 실시하였다. Nauplius기부터 copepodite기와 성체 (암컷의 포란시기)까지의 개체발생기간 (N-C 및 N-A) 과 성숙 후 이들의 생존율 및 성비를 스테레오현미경하에서 관찰 후 기록하였다. 다시 포란한 암컷개체를 1 마리씩 분리하여 12 wells tissue culture plate에 넣고 위와 같은 환경조건에서 성체암컷의 첫 번째 nauplius 생산수 (fecundity)를 조사하였다. Fecundity는 부화한 nauplius를 성체암컷과 분리한 다음 현미경하에서 계수하는 방법으로 측정하였다. 모든 실험은 3반복 실시하였다.

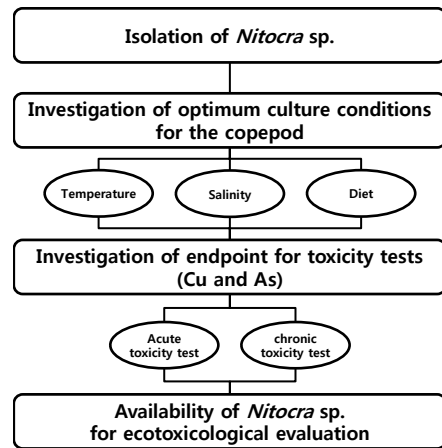


Fig. 1. Schematic diagram of this study

2.4 데이터 분석

최적배양조건 실험에서 염분, 수온 및 먹이에 따른 *Nitocra* sp.의 발달기간과 생존결과의 통계분석을 위해 One-way ANOVA test를 실시하였으며, 처리평균간의 유의성($P < 0.05$)은 Duncan의 다중검정법(Duncan's multiple range test)으로 분석하였다. 모든 통계 분석은 SPSS Version 17.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하여 실시하였다.

3. 실험결과

3.1 *Nitocra* sp.의 최적 배양환경조건규명

Nitocra sp.의 배양을 위한 최적수온 조사 결과, 수온이 높을수록 빠른 발달기간을 보였으나 37°C 이상에서는 생존하지 못하고 폐사하였다. 생존율은 29°C 실험구에서 91.7%로 가장 높게 나타났으며($P < 0.05$), 25°C와 33°C는 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$; Table 1).

염분실험결과, nauplius에서 copepodite까지의 발달기간(N-C)은 29‰에서 가장 빠른 발달을 보였고 가장 느린 발달을 보인 44‰ 실험구와 통계적인 차이를 보였다. nauplius에서 성체까지 발달기간(N-A)도 N-C와 비슷한 경향을 보였으나 모든 실험구간에서 유의적인 차이는 나타나지 않았다($P > 0.05$). 생존율은 44‰에서 30.8%로 다른 실험구에 비해 가장 낮았고($P < 0.05$), 다른 실험구는 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$; Table 2).

Table 1. The developmental phase and survival of *Nitocra* sp. cultured with *Tetraselmis suecica* at the different temperatures*

Temperature (°C)	Developmental time		Survival (%)
	N-C (day)	N-A (day)	
25	4.7±0.65 ^c	9.7±0.50 ^c	69.2±8.01 ^b
29	3.7±0.65 ^b	8.1±0.83 ^b	91.7±5.07 ^c
33	3.2±0.42 ^a	7.4±0.53 ^a	69.2±9.00 ^b
37	- ¹	-	0.0±0.00 ^a
41	-	-	0.0±0.00 ^a

¹not available

N, nauplius; C, copepodite; A, adult.

*Values (mean±S.D) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

Table 2. The developmental phase and survival of *Nitocra* sp. cultured with *Tetraselmis suecica* at the different salinities*

Salinity (%)	Developmental time		Survival (%)
	N-C (day)	N-A (day)	
24	3.9±1.06 ^{ab}	7.6±1.19 ^a	53.3±4.51 ^b
29	3.4±0.79 ^a	7.4±0.52 ^a	66.7±5.25 ^b
34	3.5±1.13 ^{ab}	7.9±1.45 ^a	69.2±7.60 ^b
39	4.0±1.54 ^{ab}	8.0±1.22 ^a	69.2±15.28 ^b
44	4.5±1.27 ^b	8.5±1.29 ^a	30.8±10.10 ^a

N, nauplius; C, copepodite; A, adult.

*Values (mean±S.D) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

Table 3. The developmental phase and survival of *Nitocra* sp. cultured with different alga at 29°C, 34‰ salinity.

Alga	Developmental time		Survival (%)
	N-C (day)	N-A (day)	
<i>Tetraselmis suecica</i>	4.2±0.10 ^a	8.7±0.21 ^a	80.0±10.00 ^d
<i>Isochrysis galbana</i>	5.1±0.20 ^b	9.1±0.36 ^b	53.3±11.55 ^{bc}
<i>Nannochloropsis</i> sp.	-	-	0.0±0.00 ^a
<i>Rhodomonas</i> sp.	4.9±0.35 ^b	9.6±0.15 ^c	43.3±11.54 ^b
<i>Chaetoceros simplex</i>	4.8±0.20 ^b	9.5±0.06 ^{bc}	63.3±5.77 ^c

¹not available

N, nauplius; C, copepodite; A, adult.

*Values (mean±S.D) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

Nitocra sp.의 배양을 위한 최적먹이조사결과, nauplius에서 copepodite까지의 발달기간은 *T. suecica*를 공급한 실험구가 다른 실험구에 비해 가장 빠른 것으로 나타났으며($P<0.05$), *Nannochloropsis* sp.를 제외한 다른 실험구는 통계적 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 성체까지 발달기간은 *T. suecica*를 공급한 실험구가 8.7일로 가장 빨랐으며 *Rhodomonas* sp. 공급구는 9.6일로 다른 실험구에 비해 유의적으로 느린 것으로 나타났다($P<0.05$). *Nannochloropsis* sp.를 공급한 실험구는 copepodite기까지 발달하지 못하고 폐사하였다(Table 3).

3.2 *Nitocra* sp.를 이용한 독성시험

표준독성물질로 구리와 비소를 사용하여, 성체암컷과 갯 부화한 유생을 대상으로 급성독성평가를 실시한 결과, 무영향관찰농도(NOEC)는 구리에 대해 0.13-0.32 mg/L, 비소에 대해 1.25-2.5 mg/L으로 나타났으며, nauplius와 성체암컷 모두, 구리에 노출시, 반수치사농도(LC₅₀)가 각각 0.46 mg/L와 0.96 mg/L로 비소노출시(nauplius: 4.58 mg/L, 성체 : 6.43 mg/L)보다 낮게 나타나 구리의 급성독성이 강한 것으로 나타났다. 또한 전체적으로 nauplius가 성체암컷보다 약 2배정도 민감한 것으로 나타났다(Table 4).

만성독성실험 결과, 구리노출 시, 0.13 mg/L에 노출된 실험구의 *Nitocra* sp.의 성숙기간(N-A)은 대조구에 비해 유의적으로 빠르게 나타났으며($P<0.01$), 최고 노출농도인 0.25 mg/L의 농도에서는 nauplius 기간(N-C)과 N-A 모두 대조구에 비해 유의적으로 길게 나타났다($P<0.001$). 생존율은 0.25 mg/L 실험구가 50%로 가장 낮게 나타났으며($P<0.01$) 0.25 mg/L보다 낮은 농도에서는 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다($P>0.05$; Fig. 2). 비소노출 시, 1.25 mg/L 농도 실험구의 N-A와 2.5 mg/L 실험구의 N-C는 대조구에 비해 유의적으로 길게 나타났으며($P<0.01$) 2.5 mg/L 농도에서는 copepodite기까지 발달하였으나 성체까지는 발달하지 못하였다. 1.25 mg/L의 농도에서 생존율은 40%로 대조구에 비해 낮게 나타났으며 2.5 mg/L에서는 변태이후 전량 폐사하였다($P<0.001$; Fig. 3).

Table 4. EC₁₀, EC₅₀, 95% confidence intervals (CI) and no observed effect concentration (NOEC) for *Nitocra* sp. nauplius (N1-2) and adult female exposed to copper and arsenic for 48 hours.

	Heavy metals	NOEC* (mg/L)	LC ₁₀ (95% CI; mg/L)	LC ₅₀ (95% CI; mg/L)
Nauplius	Cu	0.13	0.26 (0.19-0.31)	0.46 (0.39-0.53)
	As	1.25	2.49 (1.82-3.03)	4.58 (3.90-5.38)
Adult	Cu	0.32	0.50 (0.33-0.64)	0.96 (0.80-1.14)
	As	2.5	3.34 (2.43-4.09)	6.43 (5.45-7.59)

*NOEC was calculated by Dunnett's test.

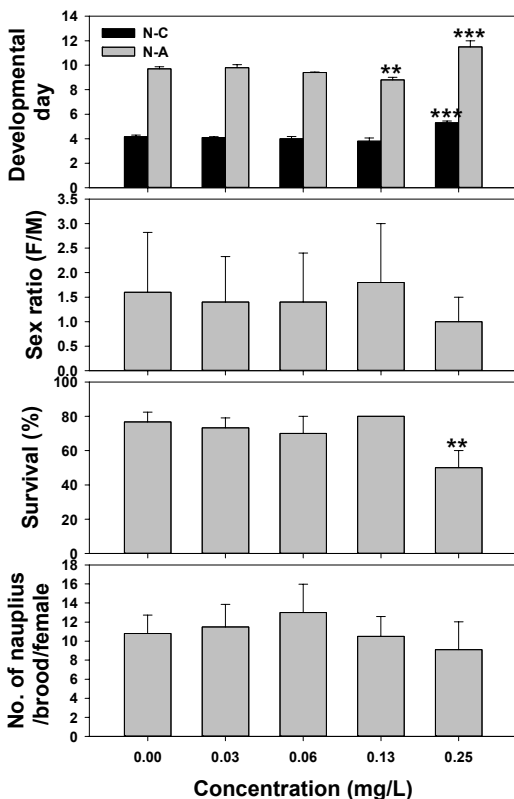


Fig. 2. Developmental time (N - C, nauplius to copepodid and N - A, nauplius to adult), sex ratio, survival and fecundity of *Nitocra* sp. exposed to different concentrations of copper.

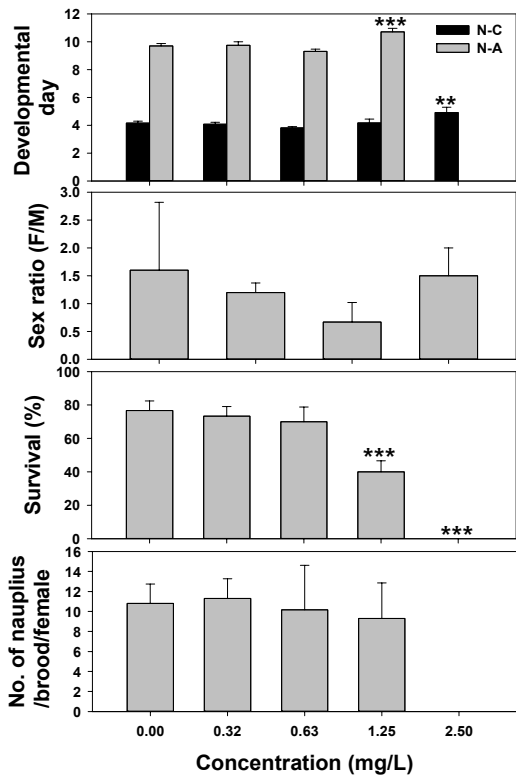


Fig. 3. Developmental time (N - C, nauplius to copepodid and N - A, nauplius to adult), sex ratio, survival and fecundity of *Nitocra* sp. exposed to different concentrations of arsenic.

4. 고찰

4.1 *Nitocra* sp.의 최적 배양환경조건규명

본 연구에서, *Nitocra* sp.의 배양을 위한 최적 수온은 29°C인 것으로 나타났다. *Nitocra* sp.는 수온이 높을수록 빠른 발달을 보였지만 33°C에서는 생존율이 69%로 오히려 낮아져 안정적인 배양을 위해서는 33°C이하가 적합할 것으로 판단된다. 열대 요각류인 *N. affinis*도 본 연구와 비슷한 경향을 보여 35°C에서 발달이 다소 지연되거나 유의적 차이를 보이지 않는 것($P>0.05$)으로 나타났다[17].

염분별 실험에서 발달기간은 염분에 따라 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 본 실험에 사용된 *Nitocra* sp.는 염분변화가 심한 조수웅덩이에서 분리되었으며 보통 이러한 환경에 서식하는 저서성 요각류는 대부분 광염종으로 극심한 염분 변화에도 잘 적응하는 것으로 알

려져 있다[18-19]. 다만, 44%에서는 성체까지 생존율이 다른 실험구에 비해 낮게 나타나 최적배양을 위해서는 이보다 낮은 염분에서 배양되어야 할 것으로 판단된다.

먹이별 실험에서, *Nitocra* sp.의 빠른 발달과 높은 생존율을 보인 먹이로 *T. suecica*가 가장 효율적이었으며 다음으로 *C. simplex*였다. Matias-Peralta et al.[17]의 연구에서도 *N. affinis*의 배양을 위해 *C. calcitrans*, *T. tetrathele*를 혼합-공급하여 본 연구와 유사한 결과를 얻었지만 본 연구에서는 성장하지 못하고 폐사원인이 되었던 *Nannochloropsis oculata*도 추가적으로 사용하여 본 연구와 상반된 결과를 보였다.

4.2 *Nitocra* sp.를 이용한 독성시험

일반적으로 수서생물의 급성독성시험에 사용되는 종말점(endpoint)은 폐사(mortality)나 운동능력저해(immobilization)과 같은 비교적 판단하기 쉬운 명확한 반응이다. 본 연구에서, *Nitocra* sp.의 운동능력저해의 정도는 명확한 구분이 어려웠으므로 가장 명확한 반응인 폐사를 선택하였다. 표준독성물질로 구리와 비소를 사용하여 급성독성평가를 실시한 결과, 각 독성물질의 노출 농도에 따라 *Nitocra* sp.가 민감하게 잘 반응하여 반수치 사농도 즉 LC₅₀값과 독성을 미치지 않는 농도인 NOEC 값을 어렵지 않게 얻을 수 있었다. 따라서 *Nitocra* sp.를 이용한 특정 독성물질의 급성독성시험시 종말점(endpoint)으로 폐사(mortality)의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

만성독성실험 결과, 구리와 비소노출 모두, 성비와 nauplius 생산력은 유의적인 차이가 없었던 반면, 발달 기간과 생존율은 농도에 따라 명확한 반응을 보였기 때문에 만성독성시험에서 종말점으로 사용이 가능할 것으로 판단된다. 조건대 서식 요각류인 *Tigriopus japonicus*도 구리와 비소의 노출에 있어서 성비와 nauplius 생산력이 대조구와 통계적인 차이를 보이지 않아서 본 연구와 비슷한 경향을 보였다[16].

구리 노출실험에서, 0.13 mg/L 농도에서 오히려 대조구에 비해 발달기간이 짧게 나타났다. 이것은 호르메시스 효과(hormesis effect)로 간단히 설명될 수 있지만 또 다른 이유로, 절지동물의 발달과 탈피에 중요한 역할을 하는 ecdysteroid 조절에 관여하는 cytochrome P450 효소가 구리에 의해 발현되어 *Nitocra* sp.의 탈피주기를 가속화시켰기 때문일 수 있다[20-23].

5. 결론

본 실험을 종합해 보았을 때, *Nitocra* sp.의 안정적인 최적배양조건은 빠른 발달과 높은 생존율 측면에서, 수온 29℃, 염분 24-39‰에서 먹이로 *Tetraselmis suecica*를 공급하는 것으로 나타났다. 위 배양조건을 적용하여 구리와 비소의 급성독성과 만성독성을 시험한 결과, *Nitocra* sp.의 폐사, 발달기간 및 생존율과 같은 명확한 종말점을 얻을 수 있었다. 따라서 열대 요각류인 *Nitocra* sp.를 열대해양독성물질평가를 위한 생태독성실험생물로 사용이 가능할 것으로 판단되며 차후 다양한 독성물질의 평가에 활용이 기대된다.

References

- [1] L. Hansen, "Increasing the resistance and resilience of tropical marine ecosystems to climate change", in *Buying time: a user's manual*, edited by L.J. Hansen, J.L. Biringer, and J.R. Hoffman, pp. 157-176. 2003.
- [2] P. L. Howe, A. J. Reichelt-Brushett, and M. W. Clark, "*Aiptasia pulchella* : a tropical cnidarian representative for laboratory ecotoxicological research", *Environl. Toxicol. Chem.* 31, pp. 2653-2662. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/etc.1993>
- [3] K. W. Lee, S. Raisuddin, D. S. Hwang, H. G. Park, and J. S. Lee, "Acute toxicities of trace metals and common xenobiotics to the marine copepod *Tigriopus japonicus*: Evaluation of its use as a benchmark species for routine ecotoxicity tests in Western Pacific coastal regions", *Environ. Toxicol.* 22, pp. 532-538. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/tox.20289>
- [4] OECD, "OECD validation report of the full life-cycle test with the harpacticoid copepods *Nitocra spinipes* and *Amphiascus tenuiremis* and the clanoid copepod *Acartia tonsa*—Phase I. Organization for economic cooperation and development", Brussels Belgium. (79. ENV/JM/MONO). 2007.
- [5] USEPA, "Short term methods for measuring the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms", third ed United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. (EPA-821-R-02-014). 2002.
- [6] ISO, "Water quality—determination of acute lethal toxicity to marine copepods (copepoda, crustacea)", Draft International Standard ISO/DIS 14669. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. 1999.
- [7] ASTM, "Standard guide for conducting renewal microplate-based life-cycle toxicity tests with a marine meiobenthic copepod. E2317-04", American Society for Testing Materials International, West Conshohocken, PA, USA. 2004.
- [8] R. van Dam, A. Harford, M. Houston, A. Hogan, and A.

- Negri, "Tropical marine toxicity testing in Australia: a review and recommendations", *Australasian J. Ecotox.* 14, pp. 55-88. 2008.
- [9] F. Gissi, M. T. Binet, and M. S. Adams, "Acute toxicity testing with the tropical marine copepod *Acartia sinjiensis*: Optimization and application", *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 97, pp. 86-93. 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.008>
- [10] A. Rose, A.-M. Carruthers, J. Stauber, R. Lim, and S. Blockwell, "Development of an acute toxicity test with the marine copepod *Acartia sinjiensis*", *Australasian J. Ecotox.* 12, pp. 73-81. 2006.
- [11] K. Kwok, K. Leung, G. Lui, S. Chu, P. Lam, D. Morrill, L. Maltby, T. Brock, P. Van den Brink, M. Warne, and M. Crane, "Comparison of tropical and temperate freshwater animal species' acute sensitivities to chemicals: implications for deriving safe extrapolation factors", *Integr. Environ. Assess. Manag.* 3, pp. 49-67. 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ieam.5630030105>
- [12] M. Ismail, S. M. Phang, S. L. Tong, and M. T. Brown, "A modified toxicity testing method using tropical marine microalgae", *Environ. Monit. Assess.* 75, pp. 145-154. 2002.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1014483713719>
- [13] K. W. Lee, and Y. W. Choi, "Mass culture of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov", *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 17, pp. 262-266. 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2016.17.8.262>
- [14] K. W. Lee and Y. U. Choi, "Population growth of a tropical tintinnid, *Metacylis tropica* on different temperature, salinity and diet", *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 17, 322-328. 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2016.17.9.322>
- [15] K. W. Lee, J. H. Kang, and H. G. Park, "Effect of food concentration on grazing, growth and fecundity of cyclopoid copepod *Paracyclops nana*", *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 13, 5206-5210. 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2012.13.11.5206>
- [16] K. W. Lee, S. Raisuddin, D. S. Hwang, H. G. Park, H. U. Dahms, I. Y. Ahn, and J. S. Lee, "Two-generation toxicity study on the copepod model species *Tigriopus japonicus*", *Chemosphere* 72, pp. 1359-1365. 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.023>
- [17] H. Matias-Peralta, F. M. Yusoff, M. Shariff, and A. Arshad, "Effects of some environmental parameters on the reproduction and development of a tropical marine harpacticoid copepod *Nitocra affinis* f. *californica* Lang", *Mar. Pollut. Bull.* 51, pp. 722-728. 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.02.047>
- [18] R. McAllen and E. Brennan, "The effect of environmental variation on the reproductive development time and output of the high-shore rockpool copepod *Tigriopus brevicornis*", *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 368, pp. 75-80. 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2008.10.013>
- [19] R. McAllen and A. Taylor, "The effect of salinity change on the oxygen consumption and swimming activity of the high-shore rockpool copepod *Tigriopus brevicornis*", *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 263, pp. 227-240. 2001.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00308-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00308-2)
- [20] A. C. Bejarano, G. T. Chandler, L. J. He, and B. C. Coull, "Individual to population level effects of South Louisiana crude oil water accommodated hydrocarbon fraction (WAF) on a marine meiobenthic copepod", *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 332, pp. 49-59. 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2005.11.006>
- [21] B. H. Hansen, D. Altin, K. M. Hessen, U. Dahl, M. Breitholtz, T. Nordtug, and A. J. Olsen, "Expression of ecdysteroids and cytochrome P450 enzymes during lipid turnover and reproduction in *Calanus finmarchicus* (Crustacea : Copepoda)", *Gen. Comp. Endocrinol.* 158, pp. 115-121. 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.05.013>
- [22] A. Tan and S. R. Palli, "Edysone receptor isoforms play distinct roles in controlling molting and metamorphosis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*", *Mol. Cell. Endocrinol.* 291, pp. 42-49. 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2008.05.006>
- [23] K. W. Lee, W. J. Shim, U. H. Yim, and J. H. Kang, "Acute and chronic toxicity study of the water accommodated fraction (WAF), chemically enhanced WAF (CEWAF) of crude oil and dispersant in the rock pool copepod *Tigriopus japonicus*", *Chemosphere* 92, pp. 1161-1168. 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.080>

이 균 우(Kyun-Woo Lee)

[정회원]



- 2001년 2월 : 강릉원주대학교 해양생명공학과 (이학석사)
- 2004년 2월 : 강릉원주대학교 해양생명공학과 (이학박사)
- 2013년 8월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 선임연구원

<관심분야>
해양생물학, 해양환경독성학

최 영 응(Young-Ung Choi)

[정회원]



- 2002년 2월 : 제주대학교 수산생물학과 (이학석사)
- 2006년 8월 : 제주대학교 수산생물학과 (이학박사)
- 2012년 7월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 책임연구원

<관심분야>
해양생물학, 번식생리학