

## 수온과 용존산소 변화에 따른 미더덕 *Styela clava*의 생존율 및 생리적 반응

신윤경\* · 박정준 · 박미선 · 명정인 · 허영백<sup>1</sup>

국립수산과학원 전략양식연구소 양식관리과  
<sup>1</sup>국립수산과학원 남동해수산연구소

### Effect of Temperature and Dissolved Oxygen on the Survival Rate and Physiological Response of the Warty Sea Squirt *Styela clava*

Yun Kyung Shin\*, Jung Jun Park, Mi Seon Park, Jeong In Myeong and Young Baek Hur<sup>1</sup>

Aquaculture Management Division, Aquaculture Research Institute, NFRDI,  
Busan 619-902, Korea

<sup>1</sup>Southeast Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

**Abstract** - Decrease in dissolved oxygen concentrations associated with temperature fluctuation is an important criteria to evaluate the mortality rate of the species. Based on this parameter, we investigated the survival rate, physiological response and histological change of warty sea squirt. It was found that the survival rate of the warty sea squirt species was 63.3% at 23°C and 56.6% at 26°C respectively. However, exposure of six days at 29°C caused deaths among species, which indicated the 6day-LT<sub>50</sub> of the tested species to be 24.58°C (19.48~35.48°C). Further, after 11 day of exposure, the dissolved oxygen concentration has been found to decrease, with the survival rate of 20% at 4.0 mg L<sup>-1</sup> and deaths at 2.0 mg L<sup>-1</sup>, thus 11day-LC<sub>50</sub> calculated to be 3.88 mg L<sup>-1</sup> (3.29~4.57 mg L<sup>-1</sup>). In addition, decrease in rate of oxygen consumption and excretion of ammonia was also noted at this critical water temperature and dissolve doxygen concentration. Moreover, there has been common histopathological changes were observed in warty sea squirt's gill pouch, digestive tract, and tunic as follows such as: proliferation of epithelial cells, condensation and necrosis, permeation of phagocyte and blood cell, loss of cilium and muscular fiber degeneration. Based on our study results, we suggest that these parameters can also be useful to evaluate the survival rate and physiological response in other species.

**Key words** : *Styela clava*, high temperature, hypoxia, mortality, physiological response

## 서 론

미더덕 *Styela clava*은 우리나라 전연안의 암반식식처

에 부착하여 고착생활을 하는 부유물 섭식자로 식용으로 사용되며, 진해만을 중심으로 미더덕양식이 발달되고 있어 남해안의 특산물로 알려지고 있다. 미더덕 양식은 2001년에 경상남도 진해만을 중심으로 시작되었으며 양식초기(2001년) 연간생산량은 15,084톤이었으나 2009년 3,845톤, 2013년에는 2,759톤으로 주로 여름철 대량폐사

\* Corresponding author: Yun Kyung Shin, Tel. 051-720-2431,  
Fax. 051-720-2439, E-mail. yunkshin@korea.kr

와 채묘부족으로 생산량이 감소하고 있다.

미더덕의 양식과 관련된 연구는 미더덕의 양식생태 (Ministry of Agriculture and Forestry 1997, 1997) 및 미더덕인공종묘생산기술개발 (NFRDI 2011) 및 미더덕 대량 폐사원인규명을 위한 분자유전학적 분석 (Ministry for Food Agriculture, Forestry and Fisheries 2011) 등이 보고되고 있으나 미더덕의 양식에 필요한 생태, 생리 등 생산량 감소에 따른 대량 폐사 원인을 분석할 수 있는 자료는 매우 부족하다.

일반적으로 변온동물은 환경에 수동적으로 순응하면서 변화된 온도에 장기간 유지되면 그들의 대사작용을 재조정하는 것으로 알려져 있다. 이러한 온도변화에 대한 대사작용의 온도보상 또는 온도순화는 이들 동물의 환경적 적응이라고 할 수 있다. 온도는 대사율, 활성도 및 에너지균형 등에 영향을 미치는 직접적인 요인이며 (Newell and Kofoed 1977), 여러 가지 다른 환경요인과 복합하여 영향을 미친다 (Venables 1981). 수중 내 용존산소 변화는 수온에 따라 변화하며, 대체로 많은 조간대 동물들은 서식지 환경에서 수중 내 산소 변화에 수시로 직면하고 있으며, 특히 정착성이거나 이동이 적은 수서동물의 경우 활동을 감소시키며, 에너지 이용을 감소시켜 저산소에 대한 저항을 증가시킨다 (DeZwaan and Wijsman 1976; Pamatmat 1980). 저산소에 대한 생물의 반응 (Herreid 1980)은 그 동물의 생리적 상태와 수온, 염분, pH 및 오염원 등의 환경에 의존하여 나타나므로 수온 및 용존산소에 대한 임계범위 설정은 양식생물의 적정수용력의 산정 및 폐사원인 규명에 필요한 자료로 활용될 수 있다.

미더덕의 대량폐사 요인은 미더덕 주산지인 진동만을 중심으로 여름철 빈산소 및 집중호우에 의한 저염분의 영향으로 추정하고 있으나 이에 관한 자료는 미우 미흡한 실정이다.

본 연구는 미더덕의 집단폐사가 주로 발생하는 여름철 고수온 및 빈산소에 의한 생물학적 지표를 찾아 대량폐사 원인 규명을 위한 기초자료로 활용하기 위하여 미더덕의 생존에 미치는 수온 및 빈산소 임계범위, 생리적 반응 및 조직학적 분석 등을 조사하였다.

## 재료 및 방법

실험에 사용된 미더덕은 경남 창원시 마산합포구 진동만 미더덕 양식장에서 채취하여 실험실로 옮긴 후 5톤 수조에서 실험조건에 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 순치기간 동안 수온  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ , 염분은  $33.5 \pm 0.5$  psu

으로 유지되었으며, 먹이는 시판중인 혼합규조류를 공급하였다. 실험에 사용된 개체의 크기는 체장  $29.8 \pm 4.6$  mm, 전중  $5.4 \pm 0.8$  g의 것을 사용하였다.

미더덕의 수온 및 용존산소내성 범위를 조사하기 위하여 실험수온은 15 (대조구), 20, 23, 26,  $29 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 실험용액의 용존산소 농도는 2, 3, 4, 5,  $8.5 \pm 0.5$  (대조구)  $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1}$ 를 설정하였다. 실험수행기간 동안 염분은 일반해수 ( $33.5 \pm 0.5$  psu)를 사용하였으며 광주기는 12L:12D를 유지하였다. 실험방법은 지수식 및 순환여과식으로 행하였으며, 수온은 수온자동조절기를 이용하여 수온조건을 조절하였다. 실험해수의 용존산소 농도는 질소가스와 공기를 주입시키면서 산소검량기 (Orbis 3600, Switzerland)를 사용하여 설정된 실험농도를 조절하였다. 생존율은 12시간 간격으로 냄새를 맡거나 침으로 자극을 주어 반응이 없으면 죽은 것으로 간주하여 구하였다. 각 실험수온에 노출된 미더덕의 산소소비율은 호흡챔버와 생물 호흡측정기 (Orbis 3600, Switzerland)를 이용하여 1시간 간격으로 24시간 측정 후 평균값을 사용하였다. 암모니아질소배설률은 산소소비율 측정과 동일한 호흡챔버에서 1시간 간격으로 실험용액을 2 mL 샘플하여 phenol-hypochlorite (Solorzano 1969)법을 이용하여 분석하였다. 실험수온에 따른 반수치사 수온은 (50% lethal temperature) probit법에 의해 분석하였다 (Finney 1971).

각 실험수온 및 용존산소 농도에 노출된 미더덕의 조직학적 반응을 관찰하기 위하여 미더덕의 새낭, 소화관 및 피낭을 적출하여 조직학적 분석을 실시하였다. 시료는 aqueous Bouin's fluid에 12시간 동안 고정 후, 24시간 동안 수세하였다. 그 후 단계별 ethanol 탈수과정 후 paraplast (McCormick, USA)에 포매하였다. 포매된 시료는 microtome (RM2235, Leica, Germany)을 이용하여 4~6  $\mu\text{m}$  두께로 연속 절편하여 조직표본을 제작하였다. 표본은 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E) 염색과 Alcian Blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시한 후 광학현미경 (Carl Zeiss, DE/ Axioscope A1)으로 관찰하였다.

## 결 과

미더덕에 미치는 수온의 영향을 알아보기 위하여 15 (대조구), 20, 23, 26,  $29 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 6일 동안 노출시키면서 생존율, 산소소비율, 암모니아질소 배설률 및 조직학적 반응을 조사하였다. 노출기간 동안 미더덕의 생존율은 수온  $29^\circ\text{C}$ 에서 6일째 모두 사망하였으며, 수온  $26^\circ\text{C}$

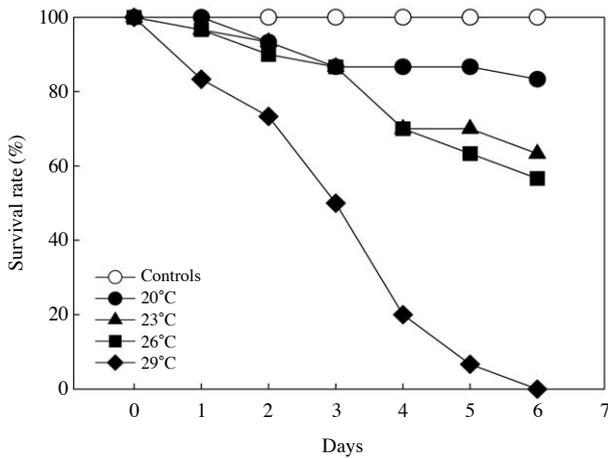


Fig. 1. Survival rate of warty sea squirt *Styela clava* with change of temperature.

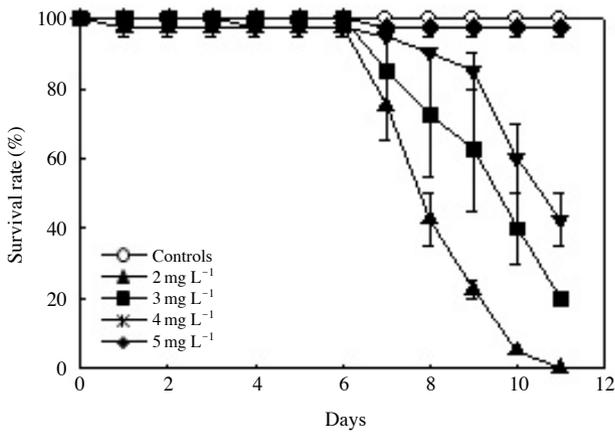


Fig. 2. Survival rate of warty sea squirt *Styela clava* with different dissolved oxygen concentrations.

에서 생존율은 56.6%, 수온 23°C에서 63.3%를 나타내어 노출 6일 동안의 반수치사수온 (6day-LT<sub>50</sub>)은 24.58°C (19.48~35.48°C)였다 (Fig. 1).

Fig. 2는 용존산소 농도 감소에 따른 미더덕의 생존율을 나타낸 것이다. 각 용존산소 농도에서 11일간 노출시키면서 미더덕의 생존율을 조사한 결과, 노출 7일째부터 용존산소농도 4.0 mg L<sup>-1</sup> 이하에서 폐사하기 시작하여 노출 11일째 생존율 20%였으며, 2 mg L<sup>-1</sup>에서 모두 폐사하여 반수치사용존산소 농도 (11day-LC<sub>50</sub>)는 3.88 mg L<sup>-1</sup> (3.29~4.57 mg L<sup>-1</sup>)였다 (Fig. 2).

수온상승에 따른 미더덕의 산소소비율은 각 실험수온에서 노출 6일째 측정하였으며, 수온 29°C에서는 실험 개체가 모두 사망하여 측정이 불가능하였다. 수온 12°C와 20°C에서 산소소비율은 0.21 및 0.25 mgO<sub>2</sub>/g DW/h으

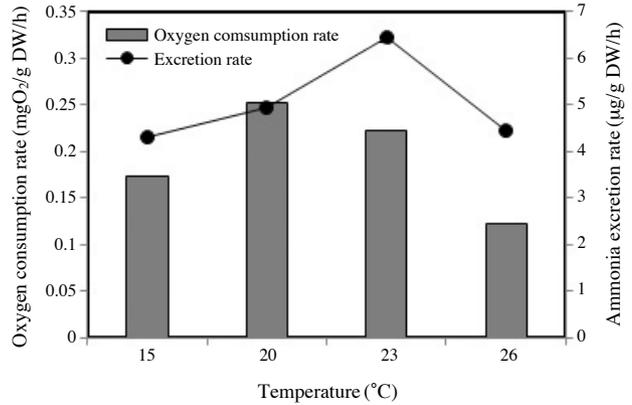


Fig. 3. Changes of oxygen consumption and ammonia excretion rate of warty sea squirt *Styela clava* exposed to the different temperature during 6 days.

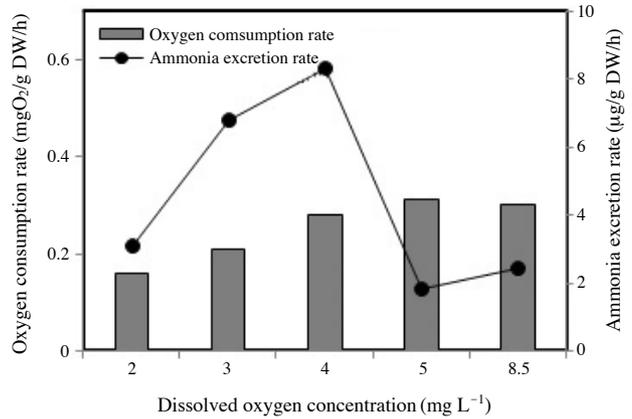
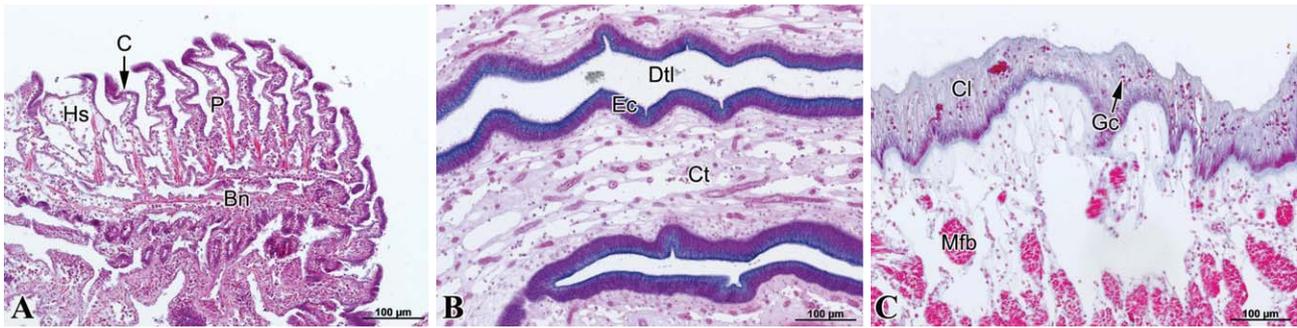


Fig. 4. Changes of oxygen consumption and ammonia excretion rate of warty sea squirt *Styela clava* exposed to different dissolved oxygen concentration during 6 days.

로 수온 상승에 따라 증가하였으나, 수온 26°C에서는 0.122 mgO<sub>2</sub>/g DW/h으로 현저히 감소하였다 (Fig. 3). 암모니아질소배설률은 산소소비율과 마찬가지로 수온 상승에 따라 증가하여 수온 20°C와 23°C에서 각각 4.3 µgNH<sub>4</sub>/g DW/h와 6.45 µgNH<sub>4</sub>/g DW/h으로 증가하였으나, 수온 26°C에서는 4.4 µgNH<sub>4</sub>/g DW/h으로 감소하였다 (Fig. 3).

용존산소 감소에 따른 미더덕의 산소소비율은 실험용액의 용존산소 농도 감소에 따라 감소하는 경향을 나타내었다 (Fig. 4). 실험용액의 용존산소 농도 5 mg L<sup>-1</sup> 이상에서 미더덕의 산소소비율은 0.35~0.4 mgO<sub>2</sub>/g DW/h였으며, 반면 실험용액의 용존산소 농도 2 mg L<sup>-1</sup>에 노출된 미더덕에서는 0.2 mgO<sub>2</sub>/g DW/h으로 대조구에 비해 산소소비율은 50%의 감소를 나타내었다 (Fig. 4).



**Fig. 5.** Histological light microscopy of the organs of warty sea squirt *Styela clava*. A: Branchial network, showing the numerous papillae (P) with hemolymph sinus (Hs). B: Digestive tract, note the epidermal layer composed simple columnar epithelial cells (Ec). C: Tunic, showing the eosinophilic granulocyte (Gc) in cuticle layer (Cl). C, cilia; Ct, connective tissue; Dtl, digestive tract lumen; Mfb, muscle fiber bundle.

수온 및 용존산소의 변화에 따른 미더덕의 새낭, 소화관 및 피낭의 조직학적 변화를 관찰하였다. Fig. 5는 미더덕의 새낭 소화관 및 피낭의 정상적인 기관계의 구조를 나타낸 것이다. 새낭은 다수의 새낭돌기(papillae)들이 일렬로 배열되어 있으며, 새낭돌기 내부는 혈구들이 존재하는 혈림프동이 관찰되었다. 새낭돌기의 자유면에는 다수의 섬모들이 존재하고 있었으며, 새낭의 상피세포층은 단층의 원주형상피세포로 구성되어 있었다(Fig. 5A).

소화관은 위와 장으로 구성되어 있으며, 외부로부터 상피층과 결합조직층으로 구성되어 있었다. 상피세포들은 단층의 원주형섬모세포로서 자유면에는 섬모들과 다수의 미세융모(microvilli)를 가지며, 소성의 결합조직층은 다수의 소화세관이 관찰되었다(Fig. 5B). 피낭의 조직학적 구조는 외부로부터 큐티클(cuticle), 기질(matrix)로 구성되어 있었다. 피낭은 다수의 주름들이 존재하고 있었는데 주름의 정단부에는 두께 100  $\mu\text{m}$  이상의 큐티클층으로 이루어져 있었다. 큐티클층은 막구조로 이루어진 비세포성 층으로서 다수의 과립세포들이 존재하고 있었다. 큐티클층의 하단에는 기질은 다수의 근섬유로 구성된 조밀한 구조로서 횡단과 종단으로 엮여 있는 근섬유 다발이 배열되어 있었다(Fig. 5C).

각 실험수온에 노출시킨 미더덕의 조직학적 영향을 분석하기 위하여 노출 6일째 수온 23°C 및 26°C에서 생존한 미더덕을 대상으로 분석하였다(Fig. 6).

수온 23°C에 노출된 미더덕의 새낭은 초자변성이 형성되었으며, 새낭돌기의 자유면에 존재하는 섬모들이 모두 탈락되었다(Fig. 6A). 26°C의 경우 상피세포 과증식, 상피세포 응축 및 괴사, 결합조직층 내에 식세포 및 혈구 침윤이 관찰되었다(Fig. 6B).

23°C의 수온에 노출된 소화관은 섬모가 탈락되고, 미세소관의 괴사 및 세포의 응축이 관찰되었다(Fig. 6C). 26°C의 경우 상피세포 응축, 섬모 탈락, 미세소관의 괴사 및 세포의 응축이 관찰되었다(Fig. 6D). 23°C의 수온에 노출된 피낭은 큐티클층의 소멸 및 기질에 존재하는 근섬유들의 초자변성이 확인되었으며(Fig. 6E), 26°C의 경우에는 과립세포 응축, 괴사 및 큐티클층 소멸, 식세포 및 혈구 침윤, 초자변성등과 같은 조직병리학적 증상이 관찰되었다(Fig. 6F).

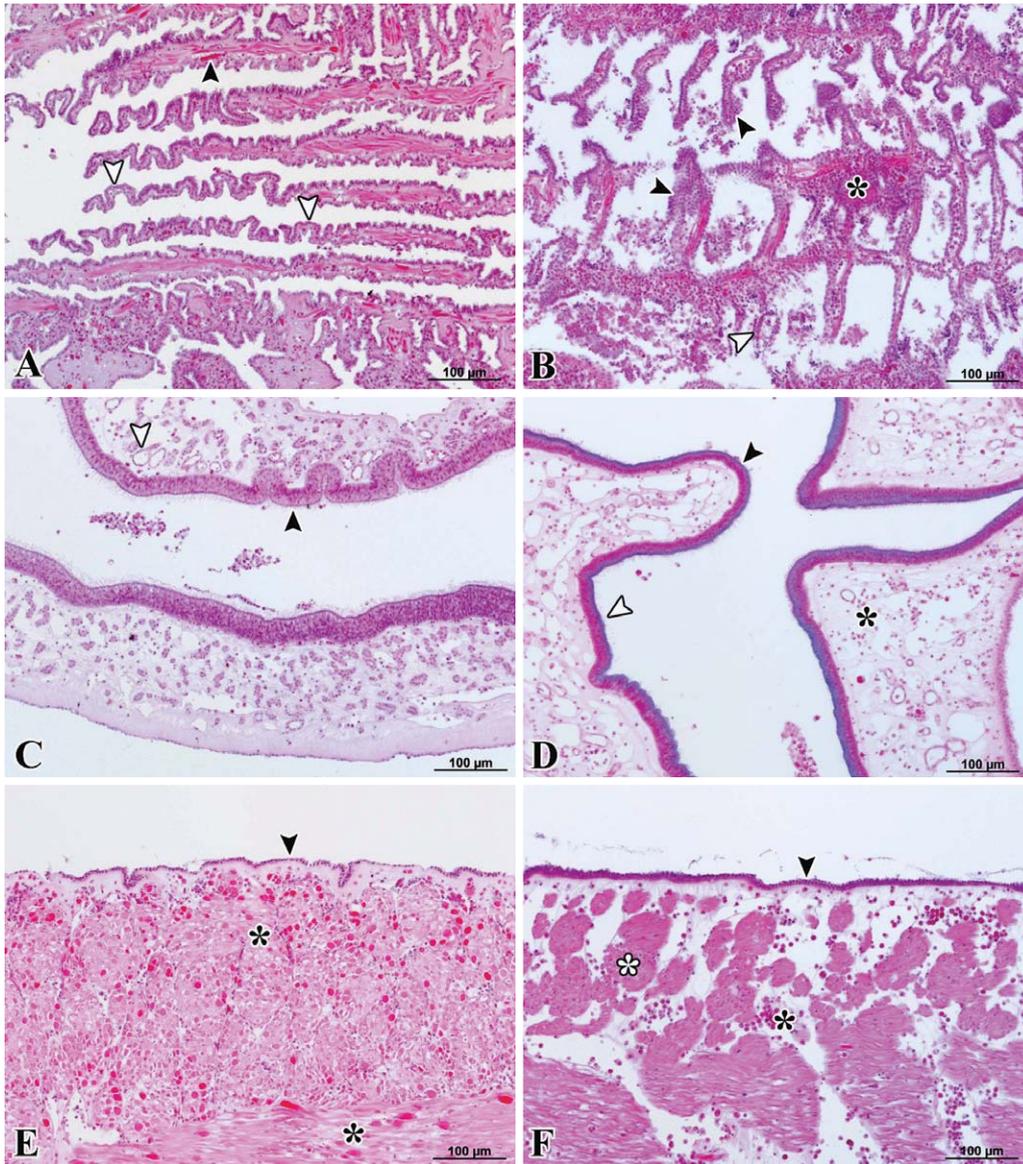
Fig. 7은 빈산소에 의한 미더덕의 병리조직학적 영향을 파악하기 위하여 반수치사용존산소 농도 이하에서 생존한 미더덕을 대상으로 분석하였다.

용존산소 농도 2 mg L<sup>-1</sup>에 노출된 미더덕의 새낭은 새낭돌기의 상피세포가 괴사되고, 결합조직층의 괴사가 관찰되었다(Fig. 7A). 4 mg L<sup>-1</sup>에 노출 경우 새낭돌기의 결합조직층은 액화괴사되어 농양이 형성되었으며, 미세섬유의 초자변성 및 식세포가 침윤되었다(Fig. 7B).

소화관의 경우에는, 2 mg L<sup>-1</sup>에서 소화관 상피세포 과증식 및 결합조직층 액화괴사가 관찰되었으며(Fig. 7C), 4 mg L<sup>-1</sup>에서는 섬모가 탈락되고 액화괴사 및 상피층이 괴사된 조직상이 관찰되었다(Fig. 7D). 피낭은 용존산소 농도 2 mg L<sup>-1</sup>에서 큐티클층이 소실되고, 기질이 괴사되었으며(Fig. 7E), 4 mg L<sup>-1</sup>에서는 과립세포의 응축, 기질 섬유다발 괴사, 큐티클층 균질화 및 과립세포 소실이 관찰되었다(Fig. 7F).

## 고 찰

연안에서 이루어지고 있는 한국의 양식어업은 연안의



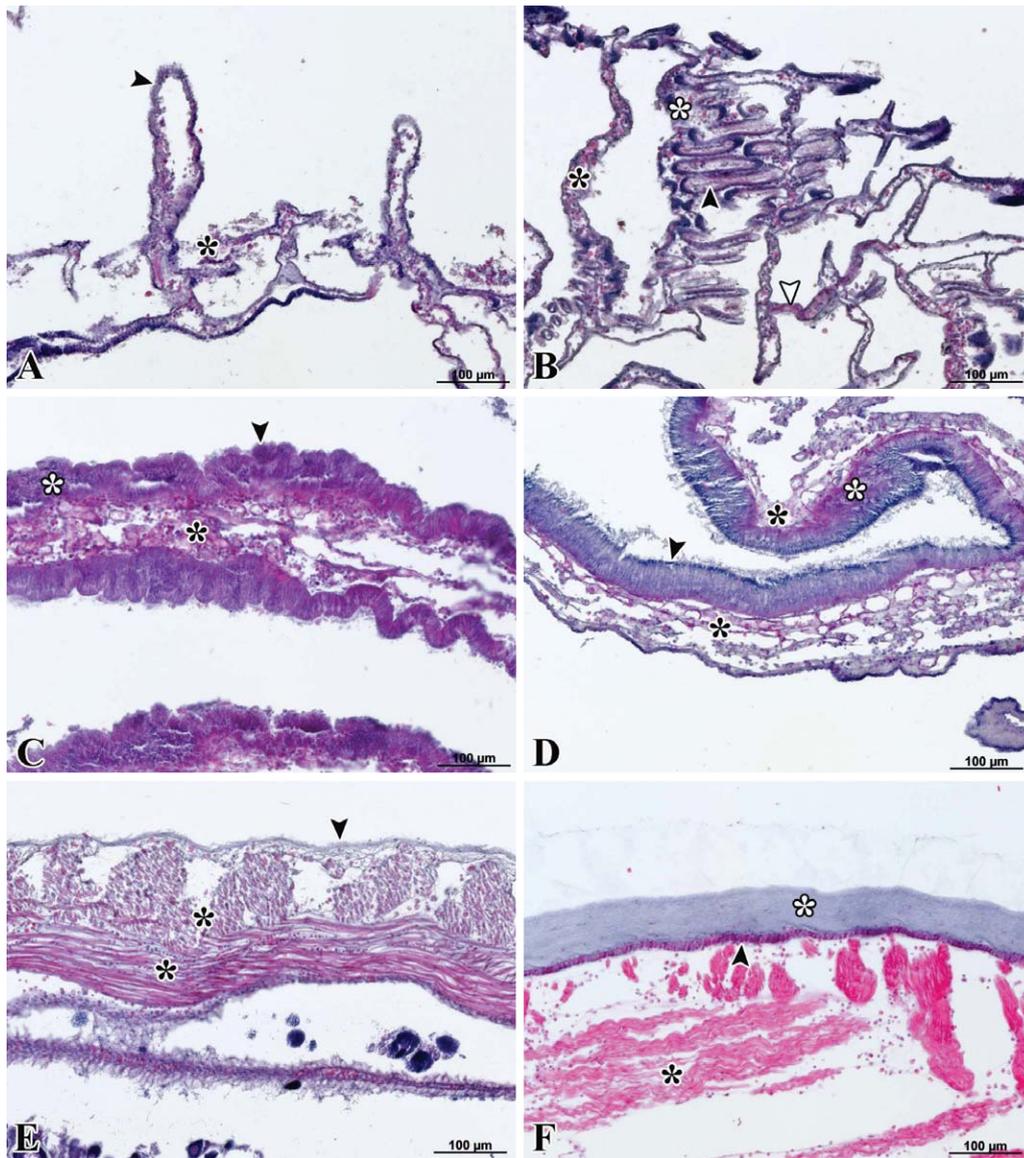
**Fig. 6.** Histopathological light microscopy of warty sea squirt *Styela clava* with the temperature variations. A: Branchial network at 23°C, A hyaline degeneration (black arrowhead), absent cilia (white arrowhead). B: Branchial network at 26°C, A hyperplasia of epithelial cells (black arrowhead), A condensation and necrosis of epithelial cells (white arrowhead), phagocytes infiltrations (asterisk). C: Digestive tract at 23°C, A absent cilia (black arrowhead), necrosis of fine fiber and condensation of fibrocytes in connective tissue (white arrowhead). D: Digestive tract at 26°C, A condensation of epithelial cells (black arrowhead), absent cilia (white arrowhead), necrosis of fine fiber and condensation of fibrocytes in connective tissue (asterisk). E: Tunic at 23°C, A absent cuticle layer (arrowhead), hyaline degeneration (asterisk). F: Tunic at 26°C, A absent cuticle layer (black arrowhead), phagocytes infiltration (black asterisk), hyaline degeneration (white asterisk).

환경적인 특성, 오염, 양식생물 밀식 등으로 양식장 관리에 대한 어려운 문제를 안고 있다.

본 연구는 미더덕 양식장에서 대량폐사가 주로 발생하는 여름철의 수온변화 및 빈산소 발생과 관련하여 미더덕의 수온 및 용존산소의 내성범위와 이에 따른 생리적 반응을 조사하여 미더덕의 폐사원인을 찾기 위한 기

초자료로 활용하고자 하였다.

일반적으로 환경변화에 따른 생물의 반응은 항상성을 유지하기 위하여 행동과 대사를 감소시키므로 외부변화에 대한 생물체의 반응한계능도를 설정하기 위하여 생존율, 성장, 대사, 조직학적 반응효소체계 및 혈액성상의 변화 등 다양한 측면에서 연구되어지고 있다.



**Fig. 7.** Histopathological light microscopy of warty sea squirt *Styela clava* with the change of dissolved oxygen concentration (DO). A: Branchial network at  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , note the necrosis of epithelial cells (arrowhead) and connective tissue (asterisk). B: Branchial network at  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , note the liquefaction necrosis with abscess formation in papilla (black arrowhead) and connective tissue (white asterisk), hyaline degeneration of the microfilament (white arrowhead), phagocytes infiltration in connective tissue (black asterisk). C: Digestive tract at  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , showing the epithelial cells hyperplasia (arrowhead), necrosis of the epithelial cell (white arrowhead) and liquefaction necrosis in connective tissue (black arrowhead). D: Digestive tract at  $4 \text{ mg L}^{-1}$ , cilia disappearance (arrowhead), necrosis of the epidermal layer (white arrowhead) and liquefaction necrosis in connective tissue (black arrowhead). E: Tunic at  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , note the absent cuticle layer (arrowhead) and matrix necrosis (asterisk). F: Tunic at  $4 \text{ mg L}^{-1}$ , showing the granulocyte condensation (arrowhead), necrosis of the fiber bundle in matrix (black asterisk) and the homogenated cuticle layer with the absent granulocyte (white asterisk).

온도는 여러 가지 환경요인 중에서도 염분에 따라 서식지가 구분되며 생물의 생명현상에 중요한 영향을 미친다. 대부분의 생물은 온도변화에 민감하며, 온도에 대한 적응의 폭이 좁다. 온도내성한계는 생물이 이전에 경험했던 비유전적 적응의 범위와 관련되어 있으며, 반면

에 동일한 환경조건하에서도 생물이 서로 다른 내성범위를 갖는 것은 그 생물이 가지는 한정된 유전적 범위로서 보고하고 있다(Otto 1973).

고수온에 대한 내성은 green abalone *Haliotis fulgens*의 경우  $48\text{h-LT}_{50}$ 이  $31.5^{\circ}\text{C}$ 였으며 (Leighton *et al.* 1981), 그리

**Table 1.** Histopathological characteristics in organs of warty sea squirt *Styela clava*

	Experimental temperature		Dissolved oxygen concentration	
	23°C	26°C	2 mg L <sup>-1</sup>	4 mg L <sup>-1</sup>
Branchial network	• Absent cilia	• Hyperplasia, necrosis of EC • PC infiltration	• Necrosis of EC and CT	• Liquefaction necrosis • Hyaline degeneration
Digestive tract	• Absent cilia • Necrosis of FF • Condensation of FC	• Absent cilia • Necrosis of FF • Condensation of FC	• Hyperplasia and necrosis of EC • Liquefaction necrosis	• Hyperplasia and necrosis of EC • Liquefaction necrosis
Tunic	• Absent CL • Hyaline degeneration	• Absent CL • PC infiltration	• Absent CL • Mx necrosis	• Homogenated CL

\* CL; cuticle layer, CT; connective tissue, EC; epithelial cell, FC; fibrocyte, FF; fine fiber, Mx; matrix, PC; phagocyte

고 열대지역 조간대 서식하는 *Brachidonetes demissus*는 수온 30°C에서 오랫동안 서식이 가능하며, 40°C에서는 일시적으로 생존이 가능하다(Read and Cumming 1967). 반면 본 연구에서 미더덕의 반수치사수온은(6day-LT<sub>50</sub>) 24.58°C으로 위에 언급된 패류의 상한치사수온에 비해 낮았으나 피낭류에 속하는 멧게의 서식수온은 8~25°C(NFRDI 2009)과 유사하다. 이러한 서식수온에 대한 내성의 차이는 생물의 특성, 중간 유사성, 분포지역, 개체의 활성 및 에너지대사 등과 관련하다(Ansell and McLachlan 1980).

산소는 모든 생물이 생명현상을 유지하는 데 필수적인 원소이며, 용존산소의 결핍은 생물상으로도 뚜렷이 구분되어 생물분포에 제한요인이 될 수 있다. 수중 내 용존산소의 감소에 의한 생물체의 반응은 혐기성대사가 증가하며, 먹이용 및 생식주기의 불균형, 성장, 감소, 호흡률과 배설률 등의 대사저하 및 활동성 감소 등과 같은 생물학적 요인에 영향을 미친다(Pamatmat 1980). 패류의 경우에는 에너지의 사용을 최소화하여 제한된 시간 동안 저산소 및 무산소상태에서도 생존할 수 있도록 생리적 반응을 조절하지만(Dezwaan and Wijsman 1976), 내성의 정도는 동물의 생리적 상태와 생물이 서식하고 있는 수온, 염분, pH 및 오염원 등 서식 생태에 따라 다르게 나타난다(Herleid 1980).

수온 20±1°C에서 미더덕의 용존산소에 대한 반수치사농도는(11day-LC<sub>50</sub>) 3.88 mg L<sup>-1</sup>이었다. 이는 피낭류인 멧게의 수온 12±1°C에서 5일 동안의 반수치사용존산소농도(5day-LC<sub>50</sub>) 3.55 mg L<sup>-1</sup>와(Shin *et al.* 2013) 비교하여 다소 내성이 강한 것으로 나타났다. 한편 패류인 꼬막 *Tegillarca granosa* (16day-LC<sub>50</sub>) 1.13 mg L<sup>-1</sup> (Shin *et al.* 2002), 바지락 *Ruditapes philippinarum* (6day-LC<sub>50</sub>) 2.40 mg L<sup>-1</sup> (Shin *et al.* 2001) 보다 높게 나타나 주기적으로 공기에 노출되는 시간이 길고 조간대 서식하고 있는 패

류보다는 저산소에 대한 내성이 낮은 것으로 여겨진다.

수온상승과 빈산소에 기인한 미더덕의 생리학적 반응은 수온과 용존산소농도별 산소소비율 및 암모니아질소 배설률 반응 그리고 미더덕의 새낭, 소화선 및 피낭의 조직학적 관찰을 통해 알 수 있었다. 미더덕의 수온상승에 따른 산소소비율은 수온 23°C 이상에서 감소하기 시작하여 수온 26°C에서는 수온 20°C에 비해 51% 감소하여 고수온에 대한 생리적 장애가 나타났다. 또한 수중 내 용존산소 농도 4 mg L<sup>-1</sup> 이하에서 미더덕의 산소소비율은 50% 이상 감소하였다. 이는 외부용존산소 농도에 따라 미더덕이 순간적으로 호흡률을 조절하는 것으로 여겨지지만, 임계용존산소농도 3.88 mg L<sup>-1</sup> 이하에서는 호흡조절 능력 없이 사망에 이르며, 이러한 결과는 피낭류인 멧게의 반수치사농도 3.55 mg L<sup>-1</sup> (Shin *et al.* 2013)와 유사하여 양식장에서 여름철 빈산소 발생시기에 피낭류의 대량폐사에 영향을 미칠 수 있는 주요 요인이 될 것으로 추정된다.

미더덕의 수온 상승 및 용존산소 농도 감소에 따른 새낭, 소화관 및 피낭의 병리조직학적 결과는 각 기관을 구성하고 있는 상피세포층의 증식, 응축 및 괴사, 식세포 및 혈구침윤, 섬모탈락, 근섬유 변성 등 조직학적 변성이 Table 1과 같이 공통적으로 관찰되었다.

유기호흡을 하는 대부분의 생물은 용존산소 농도 12 kPa와 공기중 포화도의 50% 감소까지는 정상적인 대사를 유지할 수 있으며 (Bayne and Newell 1983), 호흡조절 능력이 없는 경우에는 외부 산소의 농도에 의존하여 변화하는데 (Wilbur and Yonge 1966), 본 연구에서 미더덕의 호흡률은 수중의 용존산소 농도 5 mg L<sup>-1</sup> 이하에서 용존산소 감소에 따라 호흡률을 낮추어 대사를 조정하는 것으로 보아 외부산소농도에 의존하는 호흡조절능력 (Wilbur and Yonge 1966)이 없는 생물로 여겨지므로 여름철 미더덕 양식장 관리에 세심한 주의가 요구된다. 특

히 임계수온 및 용존산소 농도 이하에서 기관별 조직학적 병변, 대사율 감소 등의 영향은 수온 24°C 이상, 용존산소 3.8 mg L<sup>-1</sup> 이하에서 매우 민감한 생물이므로 수온 상승에 따라 높은 대사와 에너지소모의 증가(Widdows 1976)는 여름철에 양성되고 있는 미더덕의 생리활성에 많은 영향을 미칠 것으로 여겨진다.

## 적 요

미더덕의 집단폐사가 주로 발생하는 여름철 고수온 및 빈산소에 의한 생물학적 지표를 찾아 대량폐사 원인 구명을 위한 기초자료로 활용하기 위하여 수온상승 및 용존산소농도 감소에 따른 미더덕의 생존율, 생리적 반응 및 조직학적 변화 등을 조사하였다.

수온상승에 따른 생존율은 수온 23°C에서 63.3%, 26°C에서 56.6%였으며, 수온 29°C에서 노출 6일째 모두 사망하여 노출 6일 동안의 반수치사 수온은(6day-LT<sub>50</sub>)은 24.58°C(19.48~35.48°C)였다. 용존산소 농도 감소에 따른 생존율은 노출 11일째 용존산소농도 4.0 mg L<sup>-1</sup>에서 20%였으며, 2.0 mg L<sup>-1</sup>에서는 모두 사망하였고, 반수치사 용존산소 농도(11day-LC<sub>50</sub>)는 3.88 mg L<sup>-1</sup>(3.29~4.57 mg L<sup>-1</sup>)였다. 산소소비율과 암모니아질소 배설률은 임계수온 및 임계용존산소 농도이하에서 감소하였다.

수온 상승 및 용존산소 농도 감소에 따른 미더덕의 새낭, 소화관 및 피낭의 병리조직학적 결과는 각 기관을 구성하고 있는 상피세포층의 증식, 응축 및 괴사, 식세포 및 혈구침윤, 섬모탈락, 근섬유 변성 등의 변성이 공통적으로 관찰되었다. 미더덕은 수온 24°C 이상, 용존산소 3.8 mg L<sup>-1</sup> 이하에서 조직학적 병변, 대사율 감소 등으로 환경변화에 매우 민감한 생물이므로 여름철에 양성되고 있는 미더덕의 양식장관리에 세심한 관리가 요구된다.

## 사 사

이 연구는 국립수산물과학원 수산시험연구의 지원(RP-2014-AQ-069)에 의해 수행되었습니다.

## REFERENCES

- Ansall AD and A McLachlan. 1980. Upper temperature tolerance of three molluscs from South African sandy beaches. J. Expt. Mar. Biol. Ecol. 48:243-251.
- Bayne BL and RC Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. pp.407-515. In The Mollusca, Vol. 4 (Wilbur KM and AS Saleuddin eds.). Academic Press, New York.
- DeZwaan A and TCM Wijsman. 1976. Anaerobic metabolism in bivalvia (Mollusca). Characteristics of anaerobic metabolism. Comp. Biochem. Physiol. 54B:313-317.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis, 3rd ed. Cambridge University Press. London, pp.333.
- Herreid CF. 1980. Hypoxia in invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. 67A:311-320.
- Leighton DL, MJ Byhower, JC Kelly, GN Hooker and DE Morse. 1981. Acceleration of development and growth in young green abalone (*Haliotis fungens*) using warmed effluent sea water. J. World Maricult. Soc. 12:170-180.
- Ministry of Agriculture and Forestry. 1997. Studies on the development of aquaculture technology for ascidians, *Styela clava* Herdman. pp.1-195.
- Ministry for Food Agriculture, Forestry and Fisheries. 2011. Molecular genetic analysis for characterization of causing agents of Warty sea squirt mass mortality. pp.1-20.
- National Fisheries Research & Development Institute. 2009. The studies on stability of cultured sea squirt aquaculture fisheries. pp.93-107.
- National Fisheries Research & Development Institute. 2011. The Reacher and development of artificial seed production of tunicate *Styela clavad*. Annual Report, pp.1-56
- Newell RC and LH Kofoed. 1977. Adjustment of the components of energy balance in the gastropod *Crepidula formicata* in response to thermal acclimation. Mar. Biol. 44:275-286.
- Otto RG. 1973. Temperature tolerance of the mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard). J. Fish Biol. 5:575-585.
- Pamatmat MM. 1980. Faculative anaerobiosis of benthos. pp.69-90. In Marine benthic dynamics (Tenore KR and BC Coull eds.). Univ. of South Carolina, Columbia.
- Read KRH and KB Cumming. 1967. Thermal tolerance of the bivalve molluscs *Modiolus modiolus* L., *Mytilus edulis* L. and *Brachidonetes demissus dillwyn*. Com. Biochem. Physiol. 22:149-155.
- Shin YK, JJ Park, JC Jun, JI Myeong and SJ Yang. 2013. Effect of dissolved oxygen on occurrence of tunic softness syndrome in sea squirt *Halocynthia roretzi*, Tongyeong, South Coast of Korea. Korean J. Environ. Biol. 31:204-212.
- Shin YK, TS Moon and CH Wi. 2002. Effects of the dissolved oxygen concentration on the physiology of the Manila clam, *Tegillarca granosa* (Linnaeus). J. Korean Fish. Soc. 35:485-489.

- Shin YK, Y Kim and EY Chung. 2001. Effects of the dissolved oxygen concentration on the physiology of the manila clam, *Ruditapes philippinarum*. J. Korean Fish. Soc. 34:190-193.
- Solorzano L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. Limnol. Ocean 14:799-801.
- Venables BJ. 1981. Oxygen consumption in a tropical beach amphipod, *Talorchestia margaritae* Stephenson, Effects of size and temperature. Crustacea 41:89-94.
- Widdows J. 1976. Physiological adaptation of *Mytilus edulis* to cycle temperatures. J. Comp. Physiol. 105:115-128.
- Wilbur KM and CM Yonge. 1966. Physiology of mollusca. Academic press, New York and London, Volume II, pp.201-203.

Received: 11 July 2014

Revised: 10 September 2014

Revision accepted: 11 September 2014