

수온에 의한 멧게 (*Halocynthia roretzi*)의 물렁증 유도과 생리 및 조직학적 반응

신윤경 · 박정준 · 명정인 · 김혜진¹ · 이정식^{1,*}

국립수산과학원 전략양식연구소 양식관리과, ¹전남대학교 수산생명의학과

Induction of Soft Tunic Syndrome by Water Temperature and Physiological and Histological Responses of the Sea Squirt, *Halocynthia roretzi*

Yun Kyung Shin, Jung Jun Park, Jeong In Myeong, Hyejin Kim¹ and Jung Sick Lee^{1,*}

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

¹Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

Abstract - In this study, we investigated the changes in the physiological and histological traits of a sea squirt (*Halocynthia roretzi*) with the emergence of the soft tunic syndrome induced by the water temperature control (6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 and 27°C). It was observed that the induction rate of the soft tunic syndrome was highest at 15°C, but lowest at 24°C. Based on the tunic color condition and contraction strength, the whole process were classified into 4 stages as S0, S1, S2 and S3. Interestingly, there were significant differences in oxygen consumption and filtration rate were observed during S0-S3. The most distinctive aspects were change of blood cell composition at stage S3, whereas multi-vacuole cell ratio was decreased by 1/2 and morula cell ratio expanded about 10 times during S0-S3. Further, change of organ structure started following the syndrome such as degeneration of epithelial cells, microfilaments, increment in hemocytes and damage in muscle fiber have been detected in tunic, siphon, branchial sac, body wall musculature and pyloric gland. Briefly, our study results indicated that the normal physiological functions of the sea squirt can be affected due to the soft tunic syndrome induced by water temperature.

Key words : *Halocynthia roretzi*, soft tunic syndrome, physiological changes, water temperature

서 론

한국에서 해초강 멧게과(Pyuridae)에는 5속(*Boltenia*, *Halocynthia*, *Herdmania*, *Microcomus*, *Pyura*) 16종이 보

고 되어있다(KSSZ 1997). 이 가운데 멧게(*Halocynthia roretzi*)는 수온이 낮고 조류 소통이 원활한 바위 등의 단단한 기질에 부착하여 서식하는 해양고착성으로 체 표면이 피낭으로 감싸여져 있어 피낭류라고도 한다.

한국에서 멧게의 양식생산량은 2002년 10,579톤, 2010년 6,364톤, 2013년 10,282톤으로 불규칙한 변동 경향을 나타내고 있는데, 이러한 주요 요인은 물렁증(soft tunic syndrome)에 의한 대량폐사에 기인하는 것으로 보고되

*Corresponding author: Jung Sick Lee, Tel. 061-659-7172, Fax. 061-659-7172, E-mail. ljs@chonnam.ac.kr

고 있다. 멍게의 물렁증은 피낭이 얇아지며, 팽압이 저하되면서 탄력성이 감소되어 상품가치의 저하는 물론, 대량폐사의 원인으로 보고되었다(NFRDI 2009).

멍게 물렁증의 발생에 관한 연구는 수온과 수용밀도(Shin *et al.* 2011b), 바이러스(Song *et al.* 2009), 원인체 미생물(Kim *et al.* 2010) 및 체내 기생충(Kumagai *et al.* 2010, 2011; Shin *et al.* 2011a; Kim *et al.* 2014) 등이 보고되고 있다.

일반적으로 수서동물의 생리기능에 영향을 미치는 외부환경요인은 수온, 염분농도, 용존산소, 먹이 및 병원생물 등을 들 수 있으며, 이 가운데 온도는 대사율, 활성도 및 에너지 균형 등에 영향을 미치는 직접적인 요인이다(Newell and Kofoed 1977; Bayne and Newell 1983).

남해안에 소재하고 있는 멍게 양식장은 주로 통영, 거제 연안에 위치하고 있으므로 수온, 염분농도 및 용존산소 등 환경 변화에 대한 영향을 받는다. 물렁증 발생은 산란 후 멍게가 주로 성장하는 시기인 2~5월에 주로 발생하며(NFRDI 2009), 물렁증이 발생하면 대부분 치료가 어려운 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 물렁증 치료가능성 및 이에 대한 대책을 위한 기초자료를 얻기 위해서 물렁증 진행단계에 따른 대사변화, 면역학적 및 조직병리학적 반응 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용된 멍게는 2012년 9월 남해안의 한산·거제만에 위치한 멍게 양식장에서 채집하였다. 채집한 멍게는 수온 $18 \pm 1^\circ\text{C}$, 염분농도 32 ± 0.5 psu 조건에서 7일간 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 실험에는 개체의 피낭 탄성, 체색, 피낭 돌기의 형태 등의 기준(Kitamura *et al.* 2010; Shin *et al.* 2011a)에 의해 물렁증 증상이 없는 개체들을 사용하였다. 실험에 사용한 개체는 인공종묘생산 후 20~24개월 된 것으로 체고 70.7~86.3 mm, 전중 61.9~93.8 g이었다.

2. 방법

1) 물렁증 유도 및 사육조건

물렁증은 수온을 조절하여 유도하였다. 실험수온은 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 이었으며, 염분농도는 32 ± 0.5 psu를 유지하였다. 수온은 냉각기와 히터를 이용하여

조절하였다. 사육수는 병원균을 제거하기 위해 UV 조사 후, $\phi 10 \mu\text{m}$ 이하로 여과한 해수를 사용하였다. 먹이는 *Isocrysis galbana*와 *Chaetoceros sp.*를 1:1로 혼합하여 매일 2회 공급하였다. 실험기간은 35일이었으며, 실험수조는 100 L 용량으로 실험개체는 각 실험수조 당 120마리씩 수용하였다.

2) 물렁증 단계 구분 및 유도율

멍게의 물렁증 진행단계는 개체의 피낭 탄성, 체색, 피낭 돌기의 형태 등의 특징을 고려하여 4단계(S0, S1, S2, S3)로 구분하였으며, 물렁증 발생 여부는 실험수온별 24시간 간격으로 확인하였다. S0는 정상개체로서 수관의 수축반응이 1~2초 내에 이루어지고 돌기가 수직으로 형성되어 있는 상태를 기준으로 하였다. S1은 수관의 형태가 뚜렷하지 못하고 부어오른 형태를 보이며, S2는 피낭이 얇아지고 늘어나기 시작하고 섭이능력이 감소하며 S3에는 아치사 또는 사망단계로서 수관의 수축력이 없어지는 상태를 기준으로 하였다.

3) 산소소비율과 여수율

실험생물의 산소소비율은 용량 1.5L의 호흡측정 챔버를 사용하였으며, 호흡측정기 내 용존산소의 농도는 용존산소측정기(Orbis, 3600 made by Switzerland)를 이용하여 실험 전후 용존산소의 차로써 구하였다. 여수율은 수온 $15 \pm 1^\circ\text{C}$, 염분농도 32 ± 1 psu에서 Cole and Hepper (1954)의 방법에 의하여 1 L 용량의 수조에 0.001%의 neutral red 해수를 넣은 다음 실험동물을 넣고 실험 전후의 색소과립 제거율을 spectrophotometer의 파장 500 nm에서 측정하여 계산하였다.

$$FR = (\text{Log } C_o - \text{Log } C_t) * M / \text{Loge} * t$$

FR: filtration rate

C_o: 0.001% neutral red concentration

C_t: neutral red concentration after t time

M: volume

t: time

4) 혈구 구성비

혈구는 2 mL 1회용 주사기로 체강액을 추출하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 1시간 동안 전고정하였다. 그 후, 1000 rpm으로 5분간 원심분리 하여 혈구 pellet을 제작하여 전고정액으로 12시간 동안 재고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (OsO₄) (Sigma)로 1~2시간 후고정한 다음 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol로 단계별 탈수하였다.

이후 에폭시 수지로 포매하고, 1~0.5 μm 두께의 semithin section을 만든 다음 toluidine blue로 염색하여 관찰하였다. 혈구의 종류는 Shin *et al.* (2012)의 보고에 따라 여섯 가지로 구분하였다. 혈구의 종류별 분포율은 image analyzer (IMT-VT Image analysis, IMT Inc., USA)를 이용하여 분석하였으며, 혈구의 구분과 명칭은 Milanesi and Burighel (1978), Burighel and Cloney (1997) 및 Shin *et al.* (2012)의 방법을 따랐다. Image analyzer로부터 얻어진 자료는 Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)을 이용하여 통계분석을 실시하였다.

5) 조직학적 분석

피낭, 수관부, 새낭, 육질부 및 소화관을 적출하여 조직학적 분석을 실시하였다. 시료는 aqueous Bouin's fluid에 12시간 동안 고정된 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 μm 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 광학현미경으로 관찰하였다.

6) 통계학적 분석

자료 분석에 사용한 통계처리는 SPSS-통계패키지를 이용하여 ANOVA test를 실시한 후 각 값에 대한 평균값을 Duncan's multiple range test를 통해 유의수준 95%로 검정하였다.

결 과

1. 수온에 따른 물렁증 유도율

수온조절에 의한 멩계의 물렁증 유도율은 Table 1에

나타내었다. 다양한 수온조건에 노출된 멩계에서 물렁증은 노출 10일째 수온 15°C 조건에서 처음 나타나기 시작하여 35일째 수온 9°C에서 82%, 수온 15°C에서 100%의 물렁증 발생률을 나타냈다. 수온 18°C 이상에서 물렁증 발생률은 3.5~8.7%로 수온 15°C 이하 조건에 비해 현저히 낮게 나타났다.

2. 산소소비율과 여수율의 변화

물렁증 진행단계에 따른 멩계의 산소소비율은 정상개체인 S0에서 0.82±0.14 mg O₂/g DW/h로 물렁증이 진행되고 있는 S1-S3에 비해 유의하게 높았다 (p<0.05). 그러나 물렁증이 진행되는 S1-S3에서 산소소비율은 0.57~0.48 mg O₂/g DW/h로 S1에서 다소 높았으나 유의한 차이는 나타나지 않았다 (p>0.05) (Fig. 1).

멩계의 여수율은 산소소비율과 유사한 경향을 보였다. 정상개체인 S0에서 여수율은 0.68±0.18 L/g DW/h, S1에서는 0.45±0.13 L/g DW/h로 물렁증 S0에 비해 여수율은 34% 감소하였다. 아치사단계인 S3에서 여수율은 0.26±0.07 L/g DW/h로 S0에 비해 62% 감소하여 물렁증 단

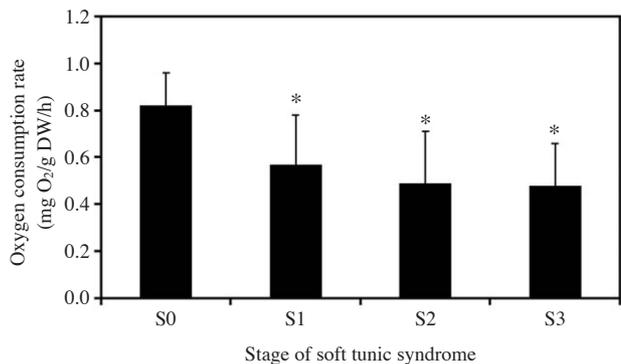


Fig. 1. Variations of oxygen consumption rate with soft tunic syndrome of the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. S0, stage-0; S1, stage-1; S2, stage-2; S3, stage-3. *Duncan's multiple range test: p<0.05.

Table 1. Occurrence rate of soft tunic syndrome of the sea squirt, *Halocynthia roretzi* with water temperature

Exposure time (day)	Occurrence rate of soft tunic syndrome (%)								
	6°C	9°C	12°C	15°C	18°C	21°C	24°C	27°C	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	4	0	0	0	0	
15	0	1	0	73	0	0	0	0	
20	1	3	3	79	0	0	0	0	
25	2	30	30	84	0	0	0	0	
30	8	63	62.5	92	0	0	0	0	
35	20	82	81.6	100	6.1	8.7	3.5	4.3	

계가 진행될수록 여수율은 현저히 감소하였다(Fig. 2).

3. 혈구 구성비의 변화

물렁증 진행단계에 따른 여섯 종류 혈구(hyalinocyte, granulocyte, phagocyte, nephrocyte, morula cell, multi-vacuole cell)의 조성비 변화는 Fig. 3과 같다.

S0에서 혈구의 종류별 구성비는 multi-vacuole cell이

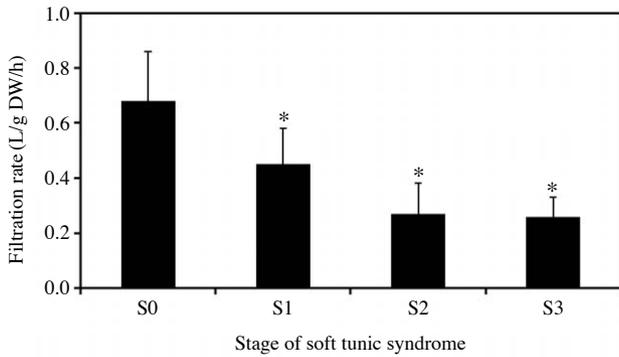


Fig. 2. Variations of filtration rate with soft tunic syndrome stage of the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. S0, stage-0; S1, stage-1; S2, stage-2; S3, stage-3. * Duncan's multiple range test: $p < 0.05$.

69.4%로 가장 높았으며, morula cell이 3.3%로 가장 낮았다. 멍게의 물렁증 진행단계에 따른 혈구의 조성비 변화는 혈구종류별로 다소 차이는 있었으나 특히, multi-vacuole cell과 morula cell에서 뚜렷한 변화를 보였다. Multi-vacuole cell은 S0, S1, S2, S3에서 각각 69.4, 33.2, 37.4, 32.1%로 약 1/2의 감소를 나타냈다. 반면, morula cell은 S0, S1, S2, S3에서 각각 3.3, 33.2, 33.0, 35.4%로 약 10배의 증가를 보였다.

4. 기관계의 조직학적 변화

1) 피낭

멍게의 피낭은 기저막으로 부터 상피층, 기질 및 큐티클로 구성되어 있었다. 상피층은 단층으로 섬모원주형 상피세포들과 점액세포들로 구성되어 있었다. 기질은 결합조직층으로 미세섬유들이 규칙적인 동심원상으로 치밀하게 배열된 구조이며, 큐티클은 가장 바깥쪽의 치밀한 막 구조였다. S0에서 피낭의 뚜렷한 구조적 이상은 확인되지 않았다(Fig. 4A). S1에서는 기질부의 미세섬유들 간격이 불규칙하고 느슨해진 것이 확인되었다(Fig. 4). S2와 3에서는 상피층의 위축과 일부 상피세포들의 탈락이 관찰 되었다(Fig. 4C, D). 그리고 상피층 근처의

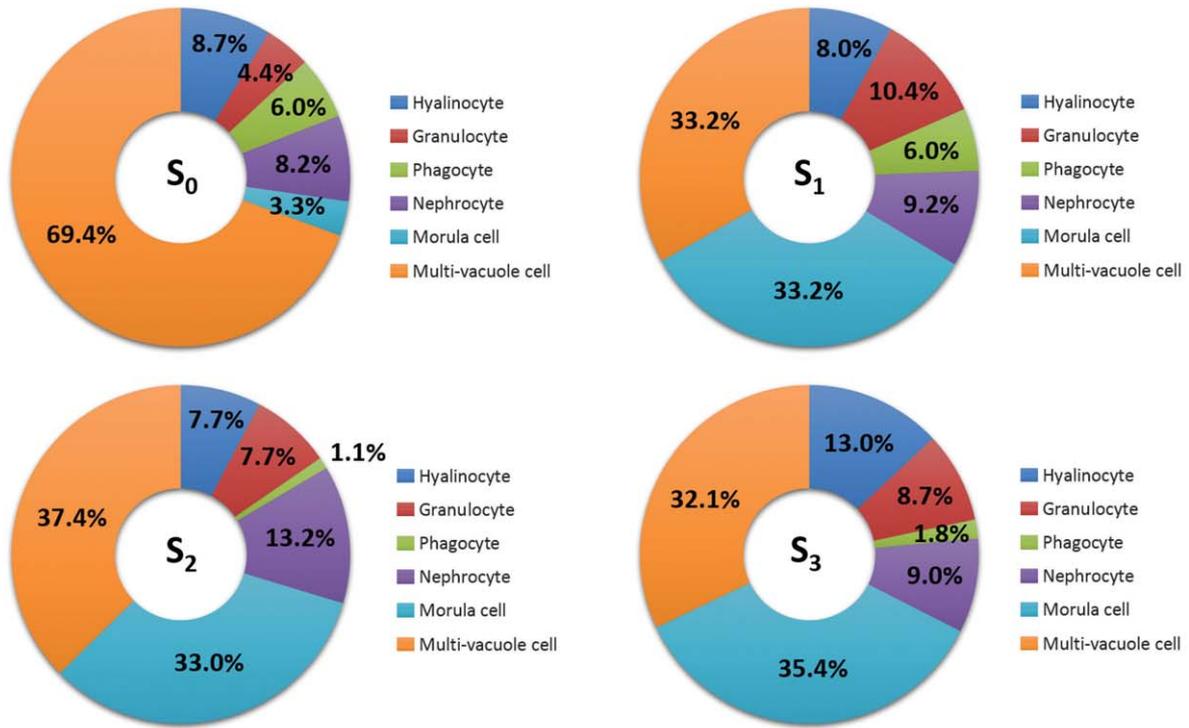


Fig. 3. The compositional ratio of hemocytes with soft tunic syndrome stage of the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. S0: stage-0, S1: stage-1, S2: stage-2, S3: stage-3.

기질부 미세섬유들은 간격이 더욱 느슨해지고 분절화 되는데, 이러한 변성은 기저막에서 부터 큐티클 쪽으로 진행되는 양상이었다 (Fig. 4C, D).

2) 수관

수관 횡단면의 조직학적 구조는 가운데 근육층을 중심으로 양쪽으로 결합조직층, 상피층, 기질 및 큐티클로 구성되는데, 상피층, 기질 및 큐티클의 구조는 피낭과 동일하였다. S0에서는 가운데 결합조직층의 일부 조직학적 변성을 제외하고는 뚜렷한 구조적 이상은 나타나지 않았다 (Fig. 5A). S1에서 상피층은 결합조직과 함께 근육층으로부터 분리되고, 기질부의 미세섬유들의 간격이 넓어지는 변성이 나타났다 (Fig. 5B). S2에서는 근섬유의 갈라짐과 분절화가 뚜렷하였으며 (Fig. 5C), S3에서는 상

피층과 인접한 기질부 미세섬유층의 공포화와 피사 및 근섬유 다발의 붕괴가 확인되었다 (Fig. 5D).

3) 새낭

아가미는 피낭 내부 체벽 근육층의 안쪽에 주머니 형태인 새낭으로 위치하며, 새낭 측벽에는 새공 구조들이 종과 횡으로 배열된 격자모양이었다. 새공 상피세포들은 입방형 또는 섬모원주형 세포였다. S0에서 아가미 새공의 구조적 이상은 확인되지 않았다 (Fig. 6A). S1에서는 새공 상피세포들의 비대와 새공의 직경 감소가 나타났으며 (Fig. 6B), S2에서는 혈구의 증가, 새공 상피세포들의 공포변성 및 측면 섬모의 소실 (Fig. 6C), S3에서는 새공 상피세포들의 변성 및 붕괴로 대부분의 새공이 폐쇄된 조직상을 보였다 (Fig. 6D).

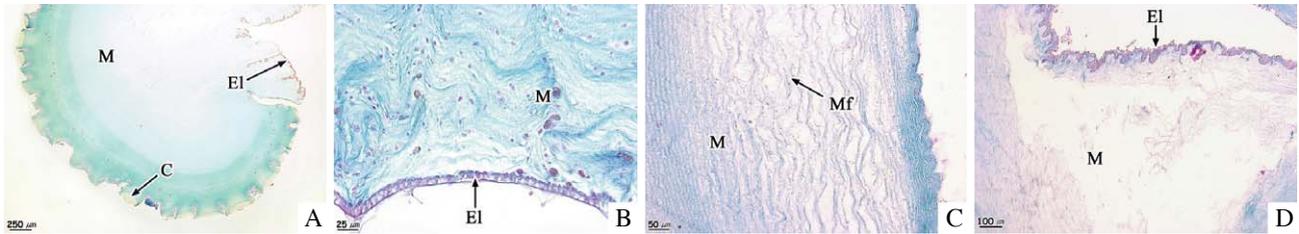


Fig. 4. Histopathological change of tunic with the process of soft tunic syndrome in the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. A: S0; B: S1; C: S2; D: S3. C, cuticle; EI, epithelial layer; M, matrix; Mf, microfilaments.

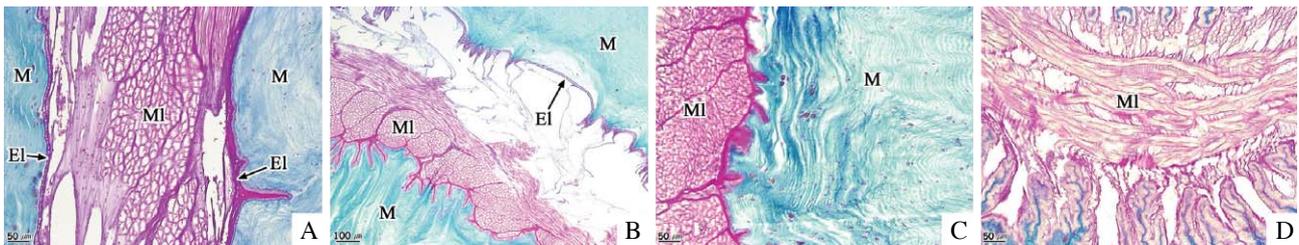


Fig. 5. Histopathological change of siphon with the process of soft tunic syndrome in the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. A: S0; B: S1; C: S2; D: S3. EI, epithelial layer; M, matrix; MI, muscle layer.

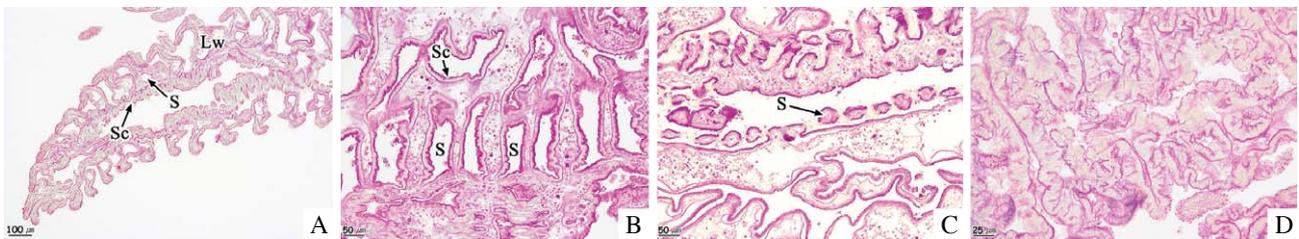


Fig. 6. Histopathological change of branchial sac with the process of soft tunic syndrome in the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. A: S0; B: S1; C: S2; D: S3. Lw, lateral wall; S, stigma; Sc, stigmatal cell.

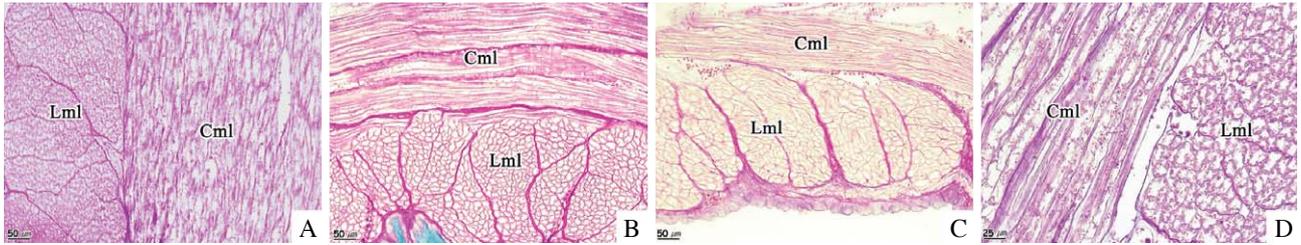


Fig. 7. Histopathological change of body wall musculature with the process of soft tunic syndrome in the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. A: S0; B: S1; C: S2; D: S3. Cml, circular muscle layer; Lml, longitudinal muscle layer.

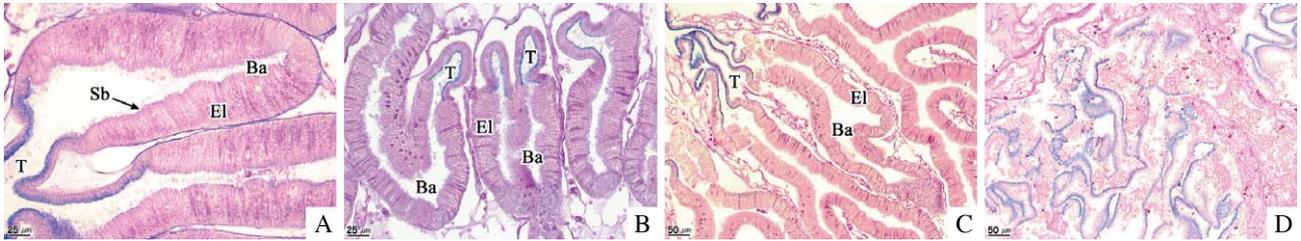


Fig. 8. Histopathological change of pyloric gland with the process of soft tunic syndrome in the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. A: S0; B: S1; C: S2; D: S3. Ba, blind ampulla; El, epithelial layer; Sb, striated border; T, tubule.

4) 육질부

육질부는 상피층, 결합조직층 및 근육층으로 구성되는데, 근육층은 근섬유 다발들이 발달된 종주근과 환상근층으로 구분할 수 있었다. S0에서는 일부 근섬유 다발의 구성이 느슨해진 것이 관찰되었으며 (Fig. 7A), S1에서는 근섬유 다발이 전체적으로 느슨해지며, 일부 근섬유 다발에서 공포화가 나타났다 (Fig. 7B). S2와 3에서는 종주근층과 환상근층 사이의 결합조직층의 분리, 근섬유의 갈라짐 및 분절화 그리고 근섬유들의 붕괴가 확인되었다 (Fig. 7C, D).

5) 소화선

소화선은 다세포선으로 다수의 관포상선 (tubuloacinar gland)들로 구성되는데, 상피층은 단층이며, 상피세포들의 형태는 섬모원주형이었다. 상피세포의 길이는 기저쪽의 세관부에 비해 맹낭부에서 더 길다. 맹낭부의 상피세포 세포질에는 H-E 염색과 AB-PAS (pH 2.5)에 음성으로 반응하는 미세공포들이 분포한다. S0에서 소화선의 구조적 이상은 확인되지 않았다 (Fig. 8A). S1에서는 소화선 세관 기저부 상피층 기저막의 박리와 맹낭부 상피층의 위축이 나타나며 (Fig. 8B), S2에서는 맹낭부 상피층 기저막의 박리와 맹낭부 상피층이 일부 붕괴된 조직상이 확인되었다 (Fig. 8C). S3에서는 소화선 세관 기저부 및 맹낭부 상피층의 붕괴가 확인되었다 (Fig. 8D).

고 찰

일반적으로 수서생물의 대사활동은 수온에 의해 조절되며 생물의 모든 생화학적 생리적 활성에 영향을 미친다. 수온의 증가는 대사율을 증가시키고 대사율의 증가에 따라 산소의 요구가 많아지므로 수온의 증가에 의해서 체내 생리적 리듬을 교란시키는 박테리아 등의 병원균을 증식시킬 수 있는 원인이 되므로 수서생물의 건강에 영향을 미칠 수 있다 (Magnuson *et al.* 1979). 멧게의 적정 성장수온은 12~20°C로 25°C 이상에서는 대사장애가 나타나며, 26.5°C에서는 수관을 닫고 호흡활동을 정지하며 이러한 조건이 일정기간 지속될 경우 사망한다 (Zhang and Lim 1990).

물렁증 발생은 멧게 주성장시기인 11월부터 이듬해 6월까지 수온이 18°C 이하인 겨울철에 주로 발생하며, 먹이 발생량이 높은 내만에 소재한 양식장에서 많이 발생한다 (NFRDI 2009). 본 연구 결과, 물렁증 발생률은 수온 6°C~35일 조건에서 20%, 9°C~35일 조건에서 82%로 9°C 이상에서 급격히 발생하여 주성장수온인 15°C에서 35일 만에 100%를 보였다. 그러나 18°C 이상에서 물렁증 발생률은 4.3~8.7%으로 매우 낮아 멧게에서 발생하는 물렁증은 수온과 상관성이 있는 것으로 나타났다. 멧게의 물렁증 진행은 수온 9°C의 경우 S0에서 S1로 진

행되는 데 소요되는 시간은 22 ± 1 일, S1에서 S2는 3 ± 1 일, S2에서 S3로 진행되는 데 소요되는 시간은 2 ± 1 일로 초기 물렁증 잠복기간은 약 20일 전후로 추정되며, 물렁증이 한번 발생하게 되면 S2 이후 빠르게 진행되므로, 이는 멧게양식장에서 수온 $10 \sim 18^\circ\text{C}$ 시기에 대량폐사로 이어지는 주요 요인이 되는 것으로 보인다.

멧게류와 같은 고착생물의 경우 활동량이 적으므로 호흡량이 적고 혈액 내 분화된 호흡수송체의 조절 없이 호흡할 수 있도록 적응되어 있다. 또한 먹이섭취는 비선택적으로 부유물을 여과섭취하며, 먹이의 농도에 따라 섭취율이 다르다(Jørgensen 1949, 1955; Stuart and Klumpp 1984). *Ascidia nigra*의 산소소비율은 28°C 에서 $806 \mu\text{L O}_2/\text{h/gDW}$ (Goodbody 1974)이며, *Crassostrea virginica*는 수온 24°C 에서 $645 \sim 1504 \mu\text{L O}_2/\text{h/gDW}$ (Goodbody 1974)이다. 본 연구에서 멧게의 산소소비율은 수온 12°C 에서 $0.82 \text{ mg O}_2/\text{h/gDW}$ 으로 각 종간에 산소소비율의 차이는 있으나, 이는 서로 다른 수온에 순치된 결과로 여겨지며, 고착생물이라 하더라도 종간 차이가 있는 것으로 여겨진다.

멧게 피낭의 물렁증 특징은 초기단계인 S1에서 수축반응이 대조구에 비해 느려지며, 피낭지수, 피낭색 및 형태 등 다양한 변화를 보이며 호흡률, 배설물 및 여수율 등의 대사반응에도 장애가 나타났다.

여수율은 정상단계인 S0에 비해 S2이후에 60% 감소하였는데 이는 수관을 통한 먹이공급 및 호흡에도 영향을 미칠 것으로 추정되며, 체내 대사의 장애로 인해 수관의 기능이 저하됨으로써 입수관으로 들어온 외액이 출수관을 통해 배출되지 못함으로서 체내 보유하는 체액의 양이 증가하는 것으로 추정된다. 이는 피낭의 조직학적 변화에서도 관찰이 가능하다.

*Botrylloides leachi*에서 vacuolated cell들은 주로 대사물질의 저장 기능을 가지며 (Cima *et al.* 2001), morula cell은 전자밀도가 높은 물질들로 채워진 다수의 액포를 함유하는데, 이들의 크기와 수는 동일종에서도 차이가 있다 (Hirose *et al.* 2003). *Botryllus schlosseri*에서 morula cell의 액포는 phenoloxidase와 quinone을 함유한다 (Frizzo *et al.* 2000; Ballarin *et al.* 2001). Phenoloxidase와 quinone은 항산화 및 전자전달계의 기능에 관여하는 물질이라는 점에서 물렁증 진행에 따라 대사물질의 축적은 감소하고 반면, 에너지 소비는 증가하는 특징의 설명이 가능할 것이다.

피낭에서 확인된 조직학적 이상 가운데 상피층의 변성은 기질합성 기능의 저하로 이어질 것으로 판단되며, 이

러한 현상은 멧게의 팽압을 감소시키는 중요한 요인으로 생각된다. 일반적으로 미세섬유의 기능은 세포 내 골격으로 다양한 연체동물의 세포질에서 당김세사(tonofilament)로서 세포의 형태유지에 중요한 기능을 한다 (Singley 1982; Lee *et al.* 2014). 또한 멧게류의 여수율 또는 먹이섭취율은 먹이 농도, 입수관의 직경, 출수관의 배출빈도 등을 일시적으로 변화시켜 조절한다 (Armswryth *et al.* 2001). 멧게의 수관부에서 피낭을 구성하는 미세섬유층과 근육층의 변성은 멧게에서 물을 흡입하는 능력을 감소시킴으로써 멧게의 팽압 감소와 호흡 및 먹이섭취능력을 저하시키는 요인 가운데 하나로 판단된다. 새공 및 새공 상피세포들의 구조적 이상의 결과는 개체의 호흡 및 여과기능의 저하를 유발하는 변성으로 판단된다. 육질부 근육층의 변성은 수관부의 조직학적 변성과 함께 물을 흡입하는 능력을 감소시킴과 동시에 멧게의 팽압을 저하시키는 요인으로 판단된다. 소화선은 삼투조절, 효소분비와 pH 조절에 의한 화학적 소화 및 배설기능을 수행하는 기관인데 (Burighel and Cloney 1997), 소화선의 조직학적 변성은 소화선의 비정상적인 대사를 유발하는 지표 가운데 하나로 판단된다.

위의 결과를 종합하여 보면 멧게의 물렁증은 수온 $9 \sim 15^\circ\text{C}$ 에서 주로 발생하며 S1에서 약 20일의 잠복기간이 지나면 비정상적인 대사장애가 유발되어 물렁증은 빠르게 진행되고 폐사에 이르는 것으로 추정된다.

적 요

수온조절 ($6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27^\circ\text{C}$)에 의해 유도된 멧게의 물렁증 진행에 따른 생리학적 특성을 연구하였다. 수온조절에 의한 물렁증 유도율은 수온 15°C 에서 가장 높았으며, 24°C 에서 가장 낮았다. 물렁증은 피낭 색깔 및 탄성을 기준으로 S0, S1, S2, S3의 4단계로 구분하였다. 정상개체와 물렁증을 가진 개체들 사이에서 산소소비율과 여수율은 유의한 차이를 보였다. S0에 비해 S3단계에서 혈구 구성비의 가장 뚜렷한 변화는 multi-vacuole cell은 약 1/2 감소하였으며, morula cell은 약 10배 증가하였다. 기관계 구조의 변화는 피낭, 수관, 새낭, 육질부, 소화선에서 상피세포의 변성, 미세섬유의 변성, 혈구의 증가 및 근섬유의 변형이 확인되었다. 이러한 모든 특징들은 멧게의 정상적인 생리학적 기능에 영향을 미칠 수 있다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원 수산시험연구(멍게 물렁증 원인체 특성 및 양식방법 개선 연구) 연구의 지원(RP-2014-AQ-068)에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Armsworthy SL, BA MacDonald and JE Ward. 2001. Feeding activity, absorption efficiency and suspension feeding processes in the ascidian, *Halocynthia pyriformis* (Stolidobranchiata: Ascidiacea): responses to variations in diet quantity and quality. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 260:41-69.
- Ballarin L, A Franchini, E Ottaviani and A Sabbadin. 2001. Morula cells as the major immunomodulatory hemocytes in ascidians: Evidences from the colonial species *Botryllus schlosseri*. *Biol. Bull.* 201:59-64.
- Bayne BL and RC Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. pp.407-515. In the *Mollusca*, Vol. 4. (Wilburg KM and ASM Saleuddin eds.). Academic Press, London.
- Burighel P and RA Cloney. 1997. Urochordata: Ascidiacea. pp. 221-647. In *microscopic anatomy of invertebrates*, Vol. 15, Hemichordata, Chaetognatha, and the invertebrate chordates (Harrison FW and EE Ruppert eds.). Wiley-Liss, New York.
- Cima F, A Perin, P Burighel and L Ballarin. 2001. Morpho-functional characterization of haemocytes of the compound ascidian *Botrylloides leachi* (Tunicata, Ascidiacea). *Acta. Zool.* 82:261-274.
- Cole HA and BT Hepper. 1954. The use of neutral red solution for the comparative study of filtration rate of lamellibranchs. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 20:197-203.
- Frizzo A, L Guidolin, L Ballarin, B Baldan and A Sabbadin. 2000. Immunolocalization of phenoloxidase in vacuoles of the compound ascidian *Botryllus schlosseri* morula cells. *Ital. J. Zool.* 67:273-276.
- Goodbody I. 1974. The physiology of Ascidians. *Ade. Mar. Biol.* 12:1-149.
- Hirose E, M Shirae and Y Saito. 2003. Ultrastructures and classification of circulating hemocytes in 9 botryllid ascidians (Chordata: Ascidiacea). *Zool. Sci.* 20:647-656.
- Jørgensen CB. 1949. Feeding-rates of sponges, lamellibranchs and ascidian. *Nature* 163:912.
- Jørgensen CB. 1955. Quantitative aspects of filter-feeding in invertebrates. *Biol. Rev.* 30:391-454.
- Kim HJ, JS Park, KH Park, YK Shin and KI Park. 2014. The kinetoplastid parasite *Azumiobodo hoyamushi*, the causative agent of soft tunic syndrome of the sea squirt *Halocynthia roretzi*, resides in the East Sea of Korea. *J. Invertebr. Pathol.* 116:36-42.
- Kim SH, HO Yang, YC Sohn and HC Kwon. 2010. *Aeromicrobium halocynthiae* sp. nov., a taurocholic acid-producing bacterium isolated from the marine ascidian *Halocynthia roretzi*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60:2793-2798.
- Kitamura SI, SI Ohtake, JY Song, SJ Jung, MJ Oh, BD Choi, K Azumi and E Hirose. 2010. Tunic morphology and viral surveillance in diseased Korean ascidians: soft tunic syndrome in the edible ascidian, *Halocynthia roretzi* (Drasche), in aquaculture. *J. Fish Dis.* 33:153-160.
- KSSZ (Korean Society of Systematic Zoology). 1997. List of animals in Korea (excluding insects). Academy Press, Seoul.
- Kumagai A, A Suto, H Ito, T Tanabe, JY Song, SI Kitamura, E Hirose, T amaishi and S Miwa. 2011. Soft tunic syndrome in the edible ascidian *Halocynthia roretzi* is caused by a kinetoplastid protist. *Dis. Aquat. Organ.* 95:153-161.
- Kumagai A, A Suto, H Ito, T Tanabe, K Takahashi, T Kamaiishi and S Miwa. 2010. Mass mortality of cultured ascidians *Halocynthia roretzi* associated with softening of the tunic and flagellate-like cells. *Dis. Aquat. Organ.* 90:223-234.
- Lee DG, MW Park, BH Kim, H Kim, MA Jeon and JS Lee. 2014. Microanatomy and ultrastructure of outer mantle epidermis of the cuttlefish, *Sepia esculenta* (Cephalopoda: Sepiidae). *Micron* 58:38-46.
- Magnuson JJ, LB Crowder and PA Medvick. 1979. Temperature as an ecological resource. *Amer. Zool.* 19:331-343.
- Milanesi C and P Burighel. 1978. Blood cell ultrastructure of the ascidian *Botryllus schlosseri*. I. Hemoblast, granulocytes, macrophage, morula cell and nephrocyte. *Acta. Zool.* 59:135-147.
- Newell RC and LH Kofoed. 1977. Adjustment of the components of energy balance in the gastropod *Crepidula fornicata* in response to thermal acclimation. *Mar. Biol.* 44:275-286.
- NFRDI. 2009. The studies on stability of cultured sea squirt aquaculture fisheries. Project report. NFRDI, Busan.
- Shin YK, HJ Kim, KI Park, MS Choi, JC Jun and EO Kim. 2011a. Occurrences of bi-flagellated protists in the tunics of ascidians *Halocynthia roretzi* with tunic-softness syndrome collected from Tonyeong, South coast of Korea. *J. Fish Pathol.* 24:197-204.
- Shin YK, JC Jun, EO Kim and YB Hur. 2011b. Physiological changes and energy budget of the sea squirt *Halocynthia roretzi* from Tongyeong, south coast of Korea. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:366-371.
- Shin YK, JC Jun, MH Son, H Kim and JS Lee. 2012. Classification and ultrastructure of hemocytes in the tunicate (*Hal-*

- ocynthia roretzi*) (Ascidiacea: Pyuridae). Kor. J. Fish. Aquat. Sci. 45:480-485.
- Singley CT. 1982. Histochemistry and fine structure of the ectodermal epithelium of the sepiolid squid *Euprymna scolopes*. Malacologia 23:177-192.
- Song JK, HM Yun, BD Choi, MJ Oh and SJ Jung. 2009. Isolation of marine birnavirus from ascidian *Halocynthia roretzi*, and its relation with tunic softness syndrome. J. Fish. Pathol. 22:229-237.
- Stuart V and DW Klumpp. 1984. Evidence for food-resource partitioning by kelp-bed filter feeders. Mar. Ecol. Prog. Ser. 16:27-37.
- Zhang CI and HS Lim. 1990. Population ecological study of cultured sea squirt (*Halocynthia roretzi*) and management implications. J. Aquaculture 3:49-63.

Received: 5 August 2014

Revised: 10 September 2014

Revision accepted: 11 September 2014