

〈Original article〉

## 거친대추멍게 (*Ascidrella aspersa*: Ascidiacea, Phlebobranchia, Ascidiidae)의 알 발육에 미치는 수온과 염도의 영향

김동현 · 김민경 · 박주언 · 김동건<sup>1</sup> · 윤태중<sup>2</sup> · 신 숙\*

삼육대학교 생명과학과, <sup>1</sup>삼육대학교 스미스교양대학, <sup>2</sup>삼육대학교 해양생명자원연구소

### Effects of Temperature and Salinity on Egg Development of *Ascidrella aspersa* (Ascidiacea, Phlebobranchia, Ascidiidae)

Donghyun Kim, Min Kyung Kim, Juun Park, Dong Gun Kim<sup>1</sup>, Tae Joong Yoon<sup>2</sup> and Sook Shin\*

Department of Life Science, Sahmyook University, Seoul 01795, Republic of Korea

<sup>1</sup>Smith Liberal Arts College, Sahmyook University, Seoul 01795, Republic of Korea

<sup>2</sup>Institute of Marine Life Resources, Sahmyook University, Seoul 01795, Republic of Korea

**Abstract** - This study was performed to investigate the effects of water temperature and salinity on the egg development and larval attachment of *Ascidrella aspersa*. The egg development and larval attachment were examined in 12 different water temperatures (6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 and 28°C) and two salinity conditions (30 and 34 psu). The hatching and developmental rates of *A. aspersa* showed a tendency to increase with increasing water temperature regardless of salinity and to decrease after the optimal water temperature range. The optimal water temperatures for the hatching and development of egg of *A. aspersa* were in the range of 20–22°C. The low threshold water temperature was not different between 1.5 and 1.8°C at 30 and 34 psu, respectively. The attachment rate showed the optimal water temperature range of 16–22°C irrespective of the salinity and the attachment time increased continuously with increasing water temperature. Experimental results showed that optimum development and survival temperature of the egg and larvae of *A. aspersa* were in the range of 20–22°C regardless of the salinity conditions. The results can be used to predict the distribution and occurrence of *A. aspersa*, and to prevent economic damages caused by its spread.

**Keywords** : *Ascidrella aspersa*, egg development, larval attachment, temperature, salinity

## 서 론

해양 고착성 저서동물인 거친대추멍게 (*Ascidrella aspersa*)는 척삭동물문 (phylum Chordata) 해초강 (class Ascidiacea) 편새해초목 (order Phlebobranchia) 대추멍게과

(family Ascidiidae)에 속하며, ‘유럽산 멍게 (European sea squirt)’로 알려져 있다 (Inglis *et al.* 2008; Mackenzie 2011). Müller에 의해 1776년도에 노르웨이의 크리스티아니아 피오르드 (Christiania fjord)에서 처음 기록된 후 (Berrill 1928), 스코틀랜드, 영국 해협, 아일랜드해, 프랑스, 지중해 등의 유럽 지역에서 보고 되었다 (Millar 1952; Pirie and Bell 1984; Kott 1985; Hily 1991; Cohen *et al.* 2000; Mackenzie 2011). 국내의 경우, Pyo *et al.* (2012)에 의해 2010년에 동해안(감

\* Corresponding author: Sook Shin, Tel. 02-3399-1717, Fax. 02-3399-1729, E-mail. shins@syu.ac.kr

포, 강구, 강릉, 거진, 공현진, 구룡포, 기사문, 남애, 대진, 목호, 방어진, 사천, 아야진, 양포, 어달, 임원, 장호, 주문진, 초곡, 초도) 및 남해안(광양, 대변, 부산, 송정, 장생포, 통영)과 2011년에 서해안(군산, 목포, 비응, 인천)에서 서식이 확인되었으며, 본 연구진의 조사 결과, 2014년 이후 제주도 지역을 포함한 한반도 전 지역에서 분포가 확인되었다.

해양 외래종인 거친대추명게 (*A. aspersa*)는 단체명게 (solitary sea squirt)로서 자연 상태에서 약 18개월 정도 생존하는 것으로 보고되며, 여름시기에 유생이 부착하여 성장을 시작하고, 수온이 낮아지는 겨울철에는 성장을 멈추는 것으로 알려져 있다 (Millar 1952). 낮은 수심의 조간대 지역에서부터 수심 80 m에서도 발견되며, 자연 암반 (rock)을 비롯하여 항구의 항벽 (harbor wall), 밧줄 (rope), 부두 말뚝 (wharf piles) 등 주로 단단하고 거친 표면에 부착하여 서식한다 (Curtis 2005; Inglis *et al.* 2008). 빠른 성장률과 높은 밀도로 군락을 형성하여 침입한 지역의 해양저서동물 군집의 생물다양성을 감소시키며 (Curtis 2005; Mackenzie 2011; Picton and Morrow 2016), 특히, 먹이 경쟁이나 포식의 위협이 적은 환경인 양식장 등에서 굴, 가리비 등의 양식종의 성장을 저해하여 양식 산업에 경제적 피해를 주고 있다 (Carman *et al.* 2010; Park *et al.* 2017). 따라서 거친대추명게의 확산 방지 및 방제를 위한 생태자료의 확보를 위하여 노르웨이와 독일에서 수온에 따른 알 발생 및 유생의 발육에 관한 연구 (Knaben 1952; Nierman-Kerkenberg and Hofmann 1989), 인도에서 성체의 수온과 염도 내성 범위에 관한 연구 (Nagabhushanam and Krishnamoorthy 1992), 그리고 영국과 일본에서 생활사와 개체군 동태에 대한 연구 등이 수행되었다 (Millar 1952; Kanamory *et al.* 2017). 국내에서도 거친대추명게에 의한 굴이나 가리비 양식장의 피해 사례가 보고되었으나 (Park *et al.* 2017), 이의 효과적인 관리 및 방제를 위한 발육, 분포, 확산 등에 대한 생태적 정보는 부족한 실정이다.

거친대추명게 등을 비롯한 해초류의 분포와 확산에 영향을 주는 중요한 요인으로 수온과 염도 등이 보고되었으며 (Nierman-Kerkenberg and Hofmann 1989; Carver *et al.* 2006), 수온과 염도에 대한 내성은 지리적인 개체군 또는 생태형 (ecotype) 사이에서 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Nagabhushanam and Krishnamoorthy 1992; Carver *et al.* 2006). 따라서 본 연구에서는 실내에서의 거친대추명게 알의 발육 및 유생의 부착 실험을 통하여 국내에 서식하는 거친대추명게의 수온 및 염도에 따른 부화율, 발육률, 부착률 등을 조사하였으며, 이를 바탕으로 거친대추명게의 국내 해양생태계에서의 확산 및 방제를 위한 기초 자료를 확보하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 개체

실험에 사용된 거친대추명게는 경상남도 통영시 도남동에 위치한 통영해양스포츠센터 (N34°49'42.2", E128°26'06.9") 내 요트장에서 스쿠버 다이빙 (scuba diving)을 통해 2017년 6월 1일과 7월 1일에 채집하였다. 채집된 개체는 실험실로 운반하여 실내 해수 수조 (가로 90 cm × 세로 90 cm × 높이 50 cm)에서 1주일 이내의 안정화 기간을 거친 후 실험에 사용되었다. 안정화 기간 동안 수조의 수온과 염도 조건은 채집지역과 유사하게 각각  $11 \pm 1^\circ\text{C}$ 와  $33 \pm 1$  psu로 유지하였으며, 먹이는 명게류 사육에 일반적으로 사용되는 황색편모조류 2종 (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*)과 규조류 1종 (*Pavlova lutherii*)을 각각 1 L씩 혼합 (총 3 L)하여 1 회/일 공급하였다 (Lee *et al.* 2009).

### 2. 거친대추명게의 인공 수정

거친대추명게 알의 인공수정은 Lee *et al.* (2009)의 방법을 참고하여, 여과 해수가 담긴 플라스틱 밀폐용기 (가로 28 cm × 세로 29 cm × 높이 16 cm)에 정자와 난자를 혼합하여 약 30~60분 동안 교반기 (HY-HS11, Korea) 위에서 해수의 흐름을 형성하며, 수정을 유도하였다. 난할이 시작되면 120  $\mu\text{m}$  밀러가제 (Muller gauze)로 불필요한 물질들을 제거하는 1차 세란을 한 후, 수정되지 않은 정자를 제거하기 위해 60  $\mu\text{m}$  밀러가제로 2차 세란을 하였다.

### 3. 거친대추명게 알의 부화 및 유생의 부착 실험

거친대추명게의 수정란은 각 실험 염도 조건의 여과된 해수가 5 mL씩 담겨있는 24 well plate (Cat. 32024, SPL Life Science)의 각 well (지름 15.5 mm × 높이 17.5 mm)에 피펫 (pipet)을 이용하여 한 개씩 분주한 후, 플라스틱 밀폐용기에 넣어서 각 실험 온도로 조정된 해수 수조에서 알의 부화 및 유생의 부착을 유도하였다. 거친대추명게 알 발육의 최적 수온 및 염도 조건을 파악하기 위해 12개의 수온 조건 (6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28°C)과 2개의 염도 조건 (30, 34 psu)에서 수온 및 염도별로 24 well plate에 1반복으로 하여 총 8회 반복으로 실시하였다. 각 실험 조건당 총 192개의 수정란이 사용되었다. 염도 34 psu의 경우, 정수 (purified water)에 인공 해수염 (Instant Ocean Reef Crystals salt, Aquarium systems, France)을 혼합하여 해수에 첨가하였고, 염도 30 psu 경우, 해수에 정수를 혼합하여 염도를 조정하였다. 해수 수조의 수온은 냉각기 (DA 500B, Daeil

cooler, Korea)와 자동온도조절기(OKE-6422H, Sewon, Korea)를 이용하여 조절하였고, 실험 해수의 수온과 염도는 다기능수질측정기(Pro Plus, YSI, USA)를 이용하여 측정하였다. 거친대추명게의 알은 8시간 간격으로 해부현미경(SMZ1000, Nikon, Japan)하에서 부화와 부착 여부 및 각각의 시간을 조사하였다.

#### 4. 자료 분석

부화율(hatching rate)은 알에서 부화한 유생(larvae)의 비율(부화한 유생 수/총 알 수)로 산출하였고, 발육률(development rate)은 알에서 부화까지 걸린 시간을 측정 후 역수(1/시간)로서 산출하였다. 부착률(settlement rate)은 알에서 부화한 후 부착한 유생의 수로 산출하였고, 부착시간률(rate of settlement time)은 알에서 부착까지 걸린 시간을 측정 후 역수(1/시간)로서 산출하였다. 거친대추명게의 부화율, 발육률, 부착률 그리고 부착시간은 SAS software를 활용하여 필요 시 t-test, 일원 분산분석(one-way ANOVA), 그리고 Tukey's HSD 방법을 이용한 다중비교검정(multiple comparison test)을 수행하였다(SAS institute 2004).

회귀분석(linear regression model)을 이용한 선형모형을 통하여 발육률이 "0"이 되는 수온을 저온 발육임계수온으로 산출하였으며, 일반적인 무척추동물의 온도 발육 분석에 많이 사용되는 Sharpe-Schoolfield (SS) model (Sharpe and DeMichele 1977; Schoolfield *et al.* 1981)을 변형한 Sharpe-Schoolfield-Ikemoto (SSI) model (Ikemoto 2005, 2008)을 활용하여 비선형발육모형으로 수온과 발육과의 관계를 추정하였다. 거친대추명게의 비선형발육모형의 추정에 사용된 방정식은 다음과 같다.

$$\gamma(T) = \frac{\rho_{\Phi} \frac{T}{T_{\Phi}} \exp \left[ \frac{\Delta H_A}{R} \left( \frac{1}{T_{\Phi}} - \frac{1}{T} \right) \right]}{1 + \exp \left[ \frac{\Delta H_L}{R} \left( \frac{1}{T_L} - \frac{1}{T} \right) \right] + \exp \left[ \frac{\Delta H_H}{R} \left( \frac{1}{T_H} - \frac{1}{T} \right) \right]}$$

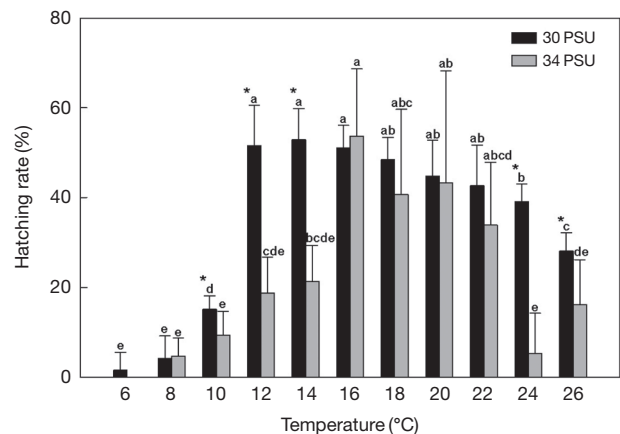
$\gamma(T)$ 는 절대온도(°K)에서의 발육률(1/발육기간),  $R$ 은 기체상수(1.987 cal deg<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>),  $\Delta H_A$ 는 모델에서 가정한 속도조절효소(rate-controlling enzyme)가 촉매하는 반응의 활성화엔탈피(cal mol<sup>-1</sup>)의 변화,  $\Delta H_L$ 는 속도조절효소가 저온에 의해 50% 활성화되는 것과 관련된 엔탈피(cal mol<sup>-1</sup>)의 변화,  $\Delta H_H$ 는 발육상온에서 이와 관련된 엔탈피(cal mol<sup>-1</sup>)의 변화를 의미한다.  $T_L$ 는 속도조절효소가 저온에 의해 50% 정도 활성을 나타내는 온도(°K),  $T_H$ 는 속도조절효소가 고온에 의해 50% 정도 활성을 저해 받게 되는 온도(°K),  $T_{\Phi}$ 는 효소가 활성 상태에 있을 확률이 최대(°K)인 내적 최적 온도,  $\rho_{\Phi}$

는 효소의 불활성이 없다고 가정할 때 내적 최적온도  $T_{\Phi}$ (1/일)에서의 발육률을 의미한다(Ikemoto *et al.* 2013). 각각의 매개변수는 R로 작성된 매개변수 추정 프로그램을 활용하여 추정하였다(Ikemoto *et al.* 2013).

## 결 과

### 1. 수온과 염도에 따른 거친대추명게 알의 부화율

거친대추명게의 알은 염도 30 psu에서 28°C를 제외한 모든 실험 수온 조건(6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26°C)에서 부화하였으며, 부화율은 1.56~52.88%로 나타났다(Fig. 1). 염도 34 psu에서는 수온 6°C와 28°C를 제외한 모든 수온 조건에서 부화가 일어났으며, 부화율은 4.70~53.66%를 보였다(Fig. 1). 두 염도 조건 모두에서 수온이 증가함에 따라 부화율이 증가하였으며, 염도 30 psu에서는 14°C 이후에 그리고 염도 34 psu에서는 16°C 이후에 점진적으로 감소하는 경향이 나타났다(Fig. 1). 염도 30 psu 조건의 경우, 수온 6, 8, 10, 26°C에서 1.56~28.13%로 상대적으로 낮은 부화율을 보인 반면에, 수온 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24°C에서 39.06~52.88%로 유의하게 높은 부화율을 나타냈다( $F_{10,77} = 77.42, p < 0.05$ ) (Fig. 1). 염도 34 psu의 경우, 수온 8, 10, 12, 14, 24, 26°C에서 4.70~21.35%로 유의하게 낮은 부화율을 보였고, 수온 16, 18, 20, 22°C에서 33.85~53.66%로

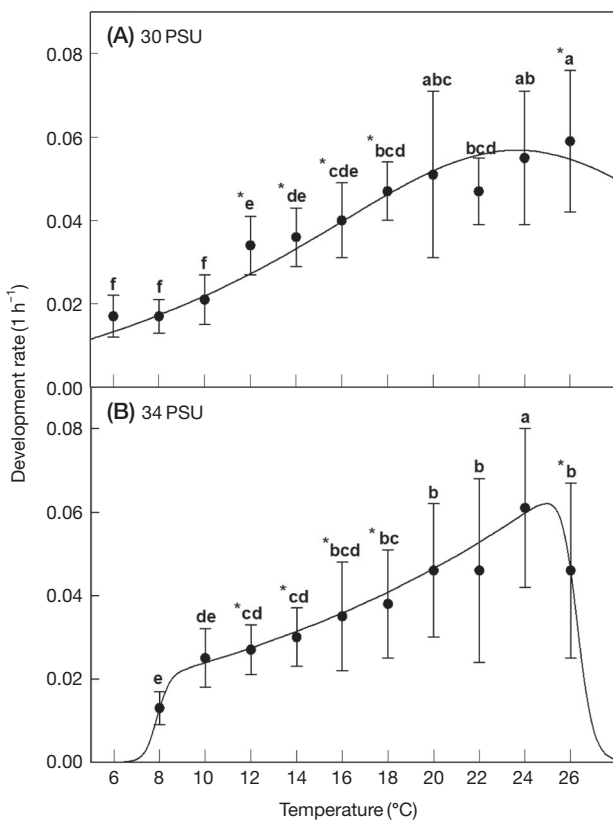


**Fig. 1.** Hatching rate of *A. aspersa* at various combinations of temperature and salinity. Each bar is the mean obtained from 6°C to 26°C experimental conditions, and vertical lines indicate the standard deviation. Means with the same letter are not significantly different whereas means with the other letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). \*Significant differences in temperature are shown in the two salinity conditions ( $p < 0.05$ ).

상대적으로 높은 부화율을 나타냈다( $F_{10,77} = 12.76, p < 0.05$ ) (Fig. 1). 각 실험 수온에서 두 염도 조건 간의 부화율 차이 비교시, 수온 10, 12, 14, 24, 26°C에서는 부화율은 유의한 차이를 나타냈으나 ( $t_{8,76-14} = 2.62-9.69, p < 0.05$ ), 수온 8°C ( $t_{14} = -0.24, p = 0.8173$ ), 16°C ( $t_{14} = -0.47, p = 0.6434$ ), 18°C ( $t_{14} = 1.14, p = 0.2726$ ), 20°C ( $t_{14} = 0.17, p = 0.8691$ ), 22°C ( $t_{14} = 1.54, p = 0.1455$ )에서의 부화율은 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

## 2. 수온과 염도에 따른 거친대추명게 알의 발육률

거친대추명게 알의 발육률은 염도 30 psu의 경우, 수온 26°C에서 가장 높았고 ( $0.059 \pm 0.017$ ), 수온 8°C에서 가장 낮았으며 ( $0.017 \pm 0.004$ ), 염도 34 psu의 경우, 수온 24°C에서 가장 높았고 ( $0.061 \pm 0.019$ ), 수온 8°C에서 가장 낮았다 ( $0.013 \pm 0.004$ ) (Fig. 2). 각 염도 조건에서 발육률은 수온 조



**Fig. 2.** Developmental rate of *A. aspersa* at various combinations of temperature and salinity. Each scatter is the mean obtained from 6°C to 26°C experimental conditions, and vertical lines indicate the standard deviation. Means with the same letter are not significantly different whereas means with the other letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). \*Significant differences in temperature are shown in the two salinity conditions ( $p < 0.05$ ).

**Table 1.** Developmental time (h) of *A. aspersa* from egg to larva at various combinations of temperature (T) and salinity (psu).

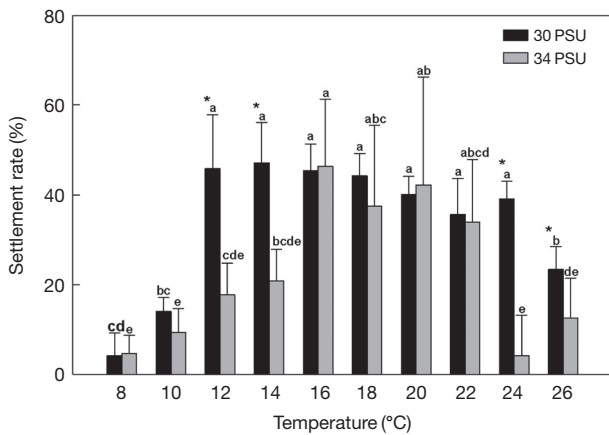
| T (°C) | Developmental time (h) (mean $\pm$ SD) |                 |
|--------|--|-----------------|
|        | 30 psu                                 | 34 psu          |
| 6      | 60.0 $\pm$ 13.9                        | —               |
| 8      | 61.0 $\pm$ 10.8                        | 82.2 $\pm$ 21.5 |
| 10     | 49.8 $\pm$ 13.0                        | 44.4 $\pm$ 14.9 |
| 12     | 31.3 $\pm$ 7.7                         | 39.9 $\pm$ 10.3 |
| 14     | 29.0 $\pm$ 7.3                         | 35.7 $\pm$ 13.5 |
| 16     | 26.9 $\pm$ 10.6                        | 32.8 $\pm$ 13.4 |
| 18     | 22.1 $\pm$ 4.4                         | 31.6 $\pm$ 15.0 |
| 20     | 23.7 $\pm$ 12.3                        | 25.1 $\pm$ 12.3 |
| 22     | 22.6 $\pm$ 7.2                         | 27.5 $\pm$ 13.5 |
| 24     | 19.5 $\pm$ 5.2                         | 18.2 $\pm$ 5.8  |
| 26     | 18.6 $\pm$ 6.3                         | 26.2 $\pm$ 10.5 |

건에 따라 통계적으로 서로 유의한 차이를 나타냈다(30 psu:  $F_{10,718} = 50.16, p < 0.05$ ; 34 psu:  $F_{9,502} = 20.20, p < 0.05$ ) (Fig. 2A, B). 발육시간과 발육률은 염도 30 psu의 경우, 수온 6, 8, 10°C에서 약 49.8~61시간, 0.017~0.022로 상대적으로 낮은 발육률을 보였으며, 수온 20, 24, 26°C에서 약 18.6~23.7시간, 0.050~0.060로 상대적으로 높은 발육률을 보였다 ( $F_{10,718} = 50.16, p < 0.05$ ) (Fig. 2A, Table 1). 염도 34 psu의 경우, 수온 8, 10°C에서 상대적으로 낮은 발육률을 보였으며, 수온 16, 18, 20, 22, 24, 26°C에서 상대적으로 높은 발육률을 보였다 ( $F_{9,502} = 20.20, p < 0.05$ ) (Fig. 2B). 두 염도 조건 간에서 수온 12, 14, 16, 18, 26°C의 발육률은 유의한 차이를 나타냈으나 ( $t_{83-190} = 2.94-6.47, p < 0.05$ ) (Fig. 2A, B), 수온 8°C ( $t_{15} = 2.07, p = 0.0564$ ), 10°C ( $t_{45} = -1.71, p = 0.0943$ ), 20°C ( $t_{167} = 1.53, p = 0.1288$ ), 22°C ( $t_{145} = 0.36, p = 0.7182$ ), 24°C ( $t_{86} = -1.15, p = 0.2526$ )에서의 발육률은 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2A, B).

SSI model에 의해 추정된 발육 곡선과 매개변수를 Fig. 2와 Table 3에서 나타내었다. 염도 30과 34 psu 조건 모두 수온이 높아짐에 따라 발육률이 증가되는 경향을 보였으나, 염도 30 psu에서는 저온과 고온 범위에서 서서히 감소되는 경향을 보인 반면, 염도 34 psu에서는 급격히 감소되는 경향을 보였다(Fig. 2). 회귀분석에 의한 저온 발육임계수온(low developmental threshold water temperature)은 염도 30 psu에서 약 1.5°C ( $Y = 0.0022X - 0.0033$ )와 염도 34 psu에서 약 1.8°C ( $Y = 0.0025X - 0.0045$ )로 추정되었다. 저온 발육임계수온은 두 염도 조건 간에 큰 차이를 보이지 않았다.

## 3. 수온과 염도에 따른 거친대추명게 유생의 부착률

거친대추명게 유생은 실험 온도 범위 내에서 염도 30 psu, 수온 14°C에서  $47.14 \pm 8.55\%$ 로 가장 높은 부착률을 나타



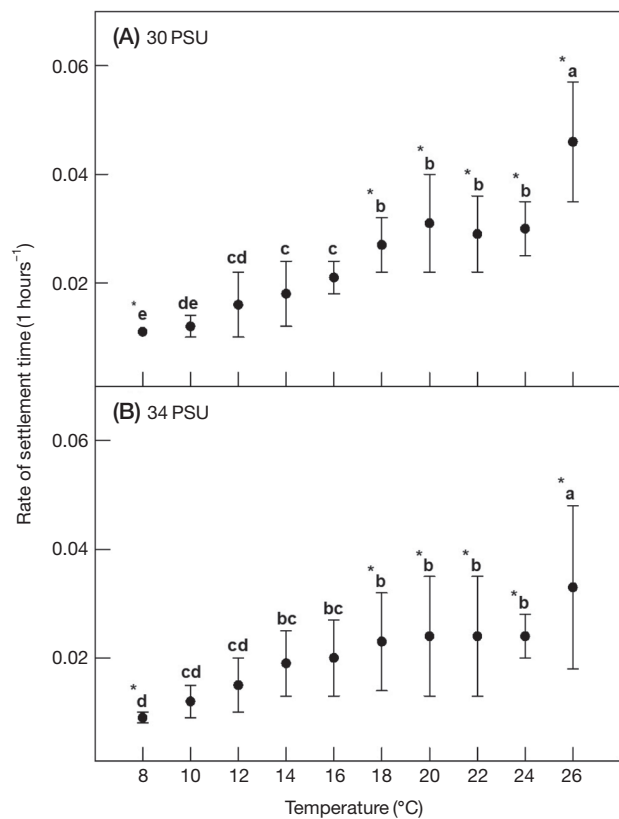
**Fig. 3.** Settlement rate *A. aspersa* at various combinations of temperature and salinity. Each bar is the mean obtained from 8°C to 26°C experimental conditions, and vertical lines indicate the standard deviation. Means with the same letter are not significantly different whereas means with the other letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). \*Significant differences in temperature are shown in the two salinity conditions ( $p < 0.05$ ).

냈으며, 수온 8°C에서는  $4.16 \pm 4.98\%$ 로 가장 낮은 부착률을 나타내었다(Fig. 3). 염도 30 psu, 수온 12°C에서 부착률이 급격히 증가하였으며, 수온 26°C에서 급격하게 감소하였다(Fig. 3). 또한, 염도 34 psu, 수온 16°C에서 부착률이 급격히 증가하였으며, 22°C 이후 부착률이 급격히 감소하였다(Fig. 3). 염도 30 psu 조건의 경우, 수온 8, 10, 26°C에서 4.16~23.43%로 상대적으로 낮은 부착률을 보인 반면에, 수온 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24°C에서 38.56~47.14%로 유의하게 높은 부착률을 나타냈다( $F_{10,77} = 62.67, p < 0.05$ )(Fig. 3).

염도 34 psu 조건의 경우, 수온 8, 10, 24°C에서 4.18~9.39%로 유의하게 낮은 부착률을 보였고, 12, 14, 16, 18, 20, 22°C에서 17.70~46.36%로 상대적으로 높은 부착률을 나타냈다( $F_{10,77} = 11.62, p < 0.05$ )(Fig. 3). 두 염도 조건 간에 수온 12, 14, 24, 26°C에서 부착률은 유의한 차이를 나타냈으나( $t_{14} = 3.03-12.81, p < 0.05$ )(Fig. 3), 수온 8°C( $t_{14} = -0.24, p = 0.8173$ ), 10°C( $t_{14} = 2.14, p = 0.0502$ ), 16°C( $t_{14} = -0.18, p = 0.8588$ ), 18°C( $t_{14} = 1.02, p = 0.3255$ ), 20°C( $t_{14} = -0.24, p = 0.8116$ ), 22°C( $t_{14} = 0.83, p = 0.4210$ )에서의 부착률은 유의한 차이를 보이지 않았다( $t_{14} = -0.24-2.14, p > 0.05$ )(Fig. 3).

#### 4. 수온과 염도에 따른 거친대추명게 유생의 부착시간

부화한 거친대추명게 유생이 부착하는 데까지 경과된 시간은 염도 30 psu, 수온 26°C에서 가장 높았으며( $0.046 \pm$



**Fig. 4.** Rate of settlement time of *A. aspersa* at various combinations of temperature and salinity. Each scatter is the mean obtained from 8°C to 26°C experimental conditions, and vertical lines indicate the Standard deviation. Means with the same letter are not significantly different whereas means with the other letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). \*Significant differences in temperature are shown in the two salinity conditions ( $p < 0.05$ ).

0.011), 염도 34 psu, 수온 8°C에서 가장 낮았다( $0.009 \pm 0.001$ )(Fig. 4). 부착시간은 모든 염도 조건에서 수온이 낮을수록 부착시간이 느렸고, 수온이 높아질수록 부착시간이 점차 빨라지는 경향을 보였다(Fig. 4, Table 2).

염도 30 psu 조건의 경우, 부착시간과 부착시간률(1/h)은 수온 8, 10, 12, 14, 16°C에서 약 49.9~93.0시간, 0.011~0.020으로 상대적으로 느리게 부착하였고, 수온 18, 20, 22, 24, 26°C에서 약 23.1~39.0시간, 0.027~0.046으로 유의하게 빠르게 부착하였다( $F_{9,645} = 114.10, p < 0.05$ )(Fig. 4A, Table 2). 염도 34 psu 조건의 경우, 수온 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24°C에서 약 43.4~113.3시간, 0.009~0.024으로 상대적으로 느리게 부착하였고 26°C에서 약 35.3시간, 0.033로 유의하게 빠르게 부착하였다( $F_{9,465} = 14.49, p < 0.05$ )(Fig. 4B, Table 2). 두 염도 조건 간에 수온 8, 18, 20, 22, 24, 26°C의 부착시간은 유의한 차이를 나타냈으나( $t_{9,27-141} =$

**Table 2.** Settlement time (h) of *A. aspersa* from egg to settlement at various combinations of temperature (T) and salinity (psu).

| T (°C) | Settlement time (h) (mean ± SD) |              |
|--------|---------------------------------|--------------|
|        | 30 psu                          | 34 psu       |
| 8      | 93.0 ± 2.8                      | 113.3 ± 18.8 |
| 10     | 83.7 ± 12.3                     | 84.9 ± 16.4  |
| 12     | 69.8 ± 25.6                     | 74.7 ± 24.5  |
| 14     | 62.3 ± 26.1                     | 59.9 ± 24.1  |
| 16     | 49.9 ± 8.7                      | 59.9 ± 26.2  |
| 18     | 39.0 ± 7.6                      | 52.9 ± 26.7  |
| 20     | 36.2 ± 12.6                     | 54.9 ± 28.1  |
| 22     | 37.4 ± 14.8                     | 50.1 ± 23.5  |
| 24     | 34.6 ± 8.0                      | 43.4 ± 8.3   |
| 26     | 23.1 ± 5.9                      | 35.3 ± 13.9  |

**Table 3.** Parameter estimates and  $\gamma(T)$  values for the development rate function (Schoolfield *et al.* 1981) fitted to the mean rate vs constant data for of *A. aspersa*.

| Parameters   | Salinities (psu) |           |
|--------------|------------------|-----------|
|              | 30               | 34        |
| $T_{\Phi}^a$ | 283.6562         | 289.3675  |
| $P_{\Phi}^b$ | 0.02426          | 0.03635   |
| $H_A^c$      | 17176.71         | 10363.49  |
| $H_L^d$      | -50358.9         | -578981.5 |
| $H_H^e$      | 42268.95         | 510563.4  |
| $T_L^f$      | 272.0217         | 281.0196  |
| $T_H^g$      | 298.1527         | 299.4113  |
| R-square     | 0.9252           | 0.9646    |

<sup>a</sup> $T_{\Phi}$  is the intrinsic optimum temperature at which the probability of enzyme being in the active state is maximal (K), <sup>b</sup> $P_{\Phi}$  is the developmental rate at the intrinsic optimum temperature  $T_{\Phi}$  (1/day) assuming no enzyme inactivation, <sup>c</sup> $H_A$  is the enthalpy of activation the reaction that is catalyzed by the enzyme (cal/mol), <sup>d</sup> $H_L$  is the change in enthalpy associated with low temperature inactivation of the enzyme (cal/mol), <sup>e</sup> $H_H$  is the change in enthalpy associated with high temperature inactivation of the enzyme (cal/mol), <sup>f</sup> $T_L$  is the temperature at which the enzyme is 1/2 active and 1/2 low temperature inactive (K), <sup>g</sup> $T_H$  is the temperature at which the enzyme is 1/2 active and 1/2 high temperature inactive (L).

0.89–4.45,  $p < 0.05$ ) (Fig. 4A, B), 수온 10°C ( $t_{43} = -0.11$ ,  $p = 0.9154$ ), 12°C ( $t_{136} = 1.49$ ,  $p = 0.1376$ ), 14°C ( $t_{143} = -0.15$ ,  $p = 0.8774$ ), 16°C ( $t_{175} = 0.88$ ,  $p = 0.3781$ )에서 유의한 차이를 보이지 않았다 ( $t_{43-143} = -0.11-1.49$ ,  $p > 0.05$ ) (Fig. 4A, B).

## 고 찰

### 1. 수온과 염도에 따른 거친대추명게 알의 부화율과 발육률

변온동물인 거친대추명게의 부화 및 성장은 수온이 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 일정 수온 범위에서 수온이 높아지면 부화율이 높아지고 부화와 성장이 빨

라지는 반면, 수온이 감소하거나 최적 수온 범위보다 높아지는 경우, 부화율이 낮아지고 부화 및 성장이 느려지는 경향을 보인다 (Kanamori *et al.* 2017). 또한 거친대추명게의 성숙속은 개체의 크기에 의해 결정되며, 약 17~25 mm 일 때부터 정자의 발달이 먼저 시작되고, 약 22~30 mm 일 때부터는 난자가 발달하는 것으로 보고되었다 (Millar 1952; Kanamori *et al.* 2017). 이와 같이 수온이 증가하면 부화율이 높아지고 부화 및 성장이 빨라지며 성숙속도 빨라져 밀도 증가에 큰 영향을 미칠 수 있다. 본 연구결과에서도 염도에 상관없이 수온의 증가에 따라 부화율이 빨라지는 경향을 보였으며 최적 수온 범위를 지나 감소하는 경향을 보였다. 그러나 동일한 수온 조건에서 염도의 차이에 따라 부화율이 증가하는 경향에서는 차이를 보였다 (Fig. 1). 거친대추명게는 연 최저수온이 8°C 이상인 지역에서 정상적인 부화 및 발육이 가능한 것으로 알려져 있다 (Kanamori *et al.* 2017). 본 연구결과에서는 염도 30 psu에서 수온이 6°C인 경우에도 일부 부화가 일어났으며, 염도 30 psu에서 염도 34 psu보다 부화를 위한 수온 범위가 더 넓어지는 것으로 확인되었다. 거친대추명게와 같은 해초강에 속하는 붉은명게 (*Halocynthia aurantium*)도 염도가 낮은 경우 (20 psu), 알의 부화가 일어나지 않았으나 염도가 높아짐에 (25~34 psu) 따라 각 실험 수온에서 부화율이 높아지는 경향을 보였으며 (Lee *et al.* 2009), 주름미더덕 (*Styela plicata*)의 경우에도 낮은 염도 조건 (22, 26 psu)에서는 부화가 일어나지 않았으나 염도 조건이 높아짐 (30~34 psu)에 따라 정상적으로 발육하는 것으로 보고되었다 (Thiyagarajan and Qian 2003). 또한 거친대추명게의 발육률 추정곡선에서도 34 psu에서 8°C와 26°C에서 급격하게 발육률이 감소하는 경향으로 보아 거친대추명게는 발육률에 있어서 염도 30 psu에서 34 psu보다 넓은 수온 내성 범위를 가지는 것으로 생각된다.

거친대추명게는 수온 8, 20, 23°C에서 부화까지 각각 39, 17, 15시간이 소요된다고 보고되었으나 (Knaben 1952; Nierman-Kerkenberg and Hofmann 1989), 본 연구에서는 염도에 관계없이 각각 수온 8, 20, 24°C에서 더 긴 발육시간이 요구되었으며, 수온 8°C에서는 염도 34 psu에서 유의하게 긴 시간이 필요하였다 (Fig. 2, Table 1). 또한 우렁쟁이 (*Halocynthia roretzi*) 알의 경우, 수온 6.5~8°C에서 72시간, 12.5~13.5°C에서 40.5시간, 18~20.5°C에서 23.5시간이 소요되어 더 긴 시간이 요구되었다 (Park *et al.* 1991).

염도 30 psu에서는 수온 12~24°C 범위에서 다른 수온보다 높은 부화율을 보였으며, 저온 (6~14°C)과 고온 (24~26°C) 조건 시, 염도 간에 부화율의 차이가 나타나는 것으로 보아 염도에 관계없이 거친대추명게는 16~22°C가 부화율에 최적인 수온 범위로서 생각되며, 각 염도 조건에서

의 발육률을 고려하면 20~22°C의 최적 발육 수온(optimal developmental threshold water temperature) 범위를 가지는 것으로 추정된다.

## 2. 수온과 염도에 따른 유생의 부착률과 부착시간

거친대추명게의 알은 부화하여 유생(larvae)이 된 후, 바다 속을 부유하다가 적합한 서식지인 바위, 배 밑바닥, 부표 등에 도달하면 부착하여 고착성 어린 개체(juvenile)로 변태(metamorphosis)하여 성체로 발달하나 부착에 실패하는 경우는 죽는다(Lee *et al.* 2009). 따라서 거친대추명게 유생의 부착률은 부화율과 더불어 거친대추명게의 밀도에 큰 영향을 미치는 요소로 생각되며, 부화율과 발육률과 유사하게 수온과 염도 조건에 영향을 받는 것으로 보고되고 있다(Lee *et al.* 2009; Feng *et al.* 2010). Feng *et al.* (2010)은 미더덕류인 *Styela canopus* 유생의 초기 부착에 미치는 수온의 영향에 대한 연구에서 염도 27 psu 조건에서 수온이 12°C에서 30°C로 증가함에 따라 부착률이 67.5%에서 31.6%로 감소한다고 보고하였다. 그러나 붉은명게(*Halocynthia aurantium*)는 8~24°C의 수온 범위에서 20 psu 조건에서는 부착이 일어나지 않았으나, 24 psu를 제외하고는 모든 수온 조건에서 염도 조건(25~34 psu)이 높아짐에 따라 부착률이 증가하였고 각 염도 조건에서 수온이 증가함에 따라 부착률이 증가하다가 20°C 이후 감소하는 경향을 보였다(Lee *et al.* 2009). 본 연구 결과, 거친대추명게는 붉은명게와 유사하게 수온이 높아짐에 따라 부착률이 증가하는 양상을 보였으나 염도 조건에 따라 24°C (34 psu) 또는 26°C (30 psu) 이후 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 거친대추명게가 붉은명게 보다 더 고온 조건에서 생존할 수 있음을 보여주었으며 수온에 대한 내성 범위가 더 넓을 것으로 생각된다. 거친대추명게의 부착률은 염도 조건에 관계없이 16~22°C의 수온 범위 내에서 최적 상태를 보여주었다.

거친대추명게의 유생은 수온 20°C에서 부착까지 22시간이 소요되었다(Nierman-Kerkenberg and Hofmann 1989). 우렁쟁이(*Halocynthia roretzi*)의 경우, 수온 6.5~8°C에서 40.5시간, 12.5~13.5°C에서 65시간, 18~20.5°C에서 105시간이 소요되었다고 보고하였다(Park *et al.* 1991). 본 연구 결과, 거친대추명게는 염도 조건에 관계없이 수온이 높아짐에 따라 부착시간이 지속적으로 감소하여 우렁쟁이 등과는 다른 경향을 보였다.

Nagabhushanam와 Krishnamoorthy (1992)는 수온에 대한 거친대추명게 성체의 내성 범위에 대한 연구에서 수온 15°C에서는 70%, 16~26°C에서는 100%의 개체가 생존하였고, 이 범위보다 낮거나 높은 경우에는 100% 사망하였으며, 염

도 28~35 psu에서 모든 개체가 생존하였지만 이 범위보다 낮거나 높은 경우에는 100% 사망한다고 보고하였다.

본 연구 결과에서 거친대추명게의 알의 부화율과 발육률, 유생의 부착률과 부착시간, 그리고 성체의 생존 온도 범위(Nagabhushanam and Krishnamoorthy 1992) 등을 고려할 때, 거친대추명게의 최적 발육 및 생존 수온 범위는 약 20~22°C 정도일 것으로 추정되며 염도 34 psu보다는 30 psu가 더 적합할 것으로 추정된다. 본 연구에서는 실험 염도 조건이 부족하여 거친대추명게의 최적 염도 조건을 추정하는 것은 불가능하였다. 그러나 국내 서식종인 붉은명게(*H. aurantium*), 우렁쟁이(*H. roretzi*) 등과 비교하여 볼 때 보다 높은 수온 조건과 낮은 염도 조건에서 거친대추명게의 생존(발육률, 부착률 등) 가능성이 높은 것으로 추정되며, 앞으로 기후 변화로 인한 국내 연안의 해수 온도 상승으로 인하여 양식산업 등에서 거친대추명게의 확산 및 대발생으로 경제적 피해가 증가할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 국내 양식장에서의 거친대추명게에 의한 경제적 피해가 증가하고 있는 시점에서 이의 확산을 방지하고 방제 효율을 증가시키는데 필요한 생태적 자료를 확보하고자 실시되었으며, 거친대추명게의 분포 및 발생 시기를 예측하고 확산 방지 및 방제 방안을 구축하는 데 기초 자료로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 거친대추명게(*Ascidella aspersa*)의 알 발육과 유생 부착에 미치는 수온과 염도의 영향을 파악하고자 실시하였다. 거친대추명게 알 발육과 유생 부착 실험은 12개의 수온 조건(6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28°C, 과 2개의 염도 조건(30, 34 psu)에서 진행하였다. 거친대추명게 알의 부화율과 발육률은 염도에 관계없이 수온이 높아짐에 따라 증가하는 경향을 보였으며 최적 수온 범위 이후 감소하는 경향을 보였으며 부화 및 발육을 위한 최적 수온은 20~22°C의 범위를 보였다. 저온 발육임계수온은 30 psu와 34 psu에서 각각 1.5°C와 1.8°C로 큰 차이를 보이지 않았다. 부착률은 염도에 관계없이 16~22°C의 최적 수온 범위를 보였으며 부착시간은 수온이 증가함에 따라 지속적으로 증가하였다. 결과적으로 거친대추명게의 최적 발육 및 생존 수온은 염도 조건에 관계없이 20~22°C 범위를 보였다. 본 연구 결과는 국내 양식장에서의 거친대추명게에 의한 경제적 피해가 증가하고 있는 시점에서 거친대추명게의 분포 및 발생 시기를 예측하고 확산 방지 및 방제 방안을 구축하는 데 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 사 사

이 논문은 2018년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (해양생태계 교란생물과 유해해양생물의 관리기술개발-20130265).

## REFERENCES

- Berrill NJ. 1928. The identification and validity of certain species of ascidians. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 15:159-175.
- Carman MR, JA Morris, RC Karney and DW Grunden. 2010. An initial assessment of native and invasive tunicates in shellfish aquaculture of the North American east coast. *J. Appl. Ichthyol.* 26:8-11.
- Carver CE, AL Mallet and B Vercaemer. 2006. Biological synopsis of the solitary tunicate *Ciona intestinalis*. Dartmouth, Nova Scotia: Bedford Institute of Oceanography pp. 1-52.
- Cohen BF, DR Currie and MA McArthur. 2000. Epibenthic community structure in Port Phillip Bay, Victoria, Australia. *Mar. Freshw. Res.* 51:689-702.
- Curtis L. 2005. *Ascidrella aspersa*. A sea squirt. Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Sub-programme [on-line]. Marine Biological Association of the United Kingdom. <http://www.marlin.ac.uk/species/detail/1566>.
- Feng D, C Ke, C Lu and S Li. 2010. The influence of temperature and light on larval pre-settlement metamorphosis: a study of the effects of environmental factors on pre-settlement metamorphosis of the solitary ascidian *Styela canopus*. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 43:11-24.
- Hily C. 1991. Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69:179-188.
- Ikemoto T. 2005. Intrinsic optimum temperature for development of insects and mite. *Environ. Entomol.* 34:1377-1387.
- Ikemoto T. 2008. Tropical malaria does not mean hot environments. *J. Med. Entomol.* 45:963-969.
- Ikemoto T, I Kurahashi and PJ Shi. 2013. Confidence interval of intrinsic optimum temperature estimated using thermodynamics SSI model. *Insect Sci.* 20:420-428.
- Inglis GJ, N Gust, I Fitridge, O Floerl, C woods, M Kospartov and GD Fenwick. 2008. Port of Lyttelton: second baseline survey for non-indigenous marine species. MAFBNZB. Report No:ZBS2000-04.
- Kanamori M, K Baba, M Natsuike and S Goshima. 2017. Life history traits and population dynamics of the invasive ascidian, *Ascidrella aspersa*, on cultured scallops in Funka Bay, Hokkaido, northern Japan. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 97:387-399.
- Knaben N. 1952. Development of the larvae of *Ascidrella aspersa* Müll. At different salinities and temperatures, the dependence of the distribution of this species upon the hydrographic circumstances, by Nils Knaben. *J. Dybwad. pp.* 1-24.
- Kott P. 1985. The Australian Ascidiacea part 1, Phelbobranchia and Stolidobranchia. *Mem. Qd. Mus.* 23:1-440.
- Lee C, MW Park, CS Lee, SK Kim and WK Kim. 2009. Effect of temperature and salinity on development of sea peach *Halocynthia aurantium*. *J. Environ. Sci. Int.* 18:1171-1179.
- Mackenzie AB. 2011. Biological synopsis of the European sea squirt (*Ascidrella aspersa*). Department of Fisheries and Oceans. Burlington, ON, Canada p. 15.
- Millar RH. 1952. The annual growth and reproductive cycle in four ascidians. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 31:41-61.
- Nagabhusanam AK and P Krishnamoorthy. 1992. Occurrence and biology of the solitary ascidian *Ascidrella aspersa* in Tamil Nadu coastal waters. *J. Mar. Biol. Assoc. India.* 34:1-9.
- Niermann-Kerkenberg E and DK Hofmann. 1989. Fertilization and normal development in *Ascidrella aspersa* (Tunicata) studied with Nomarski optics. *Helgol. Mar. Res.* 43:245-258.
- Park JU, TJ Lee, DH Kim, PJ Kim, DG Kim and S Shin. 2017. Monitoring and impact of marine ecological disturbance causing organisms on an oyster and sea squirt farm. *J. Environ. Biol.* 35:677-683.
- Park YJ, YG Rho, JH Lee and JM Lee. 1991. Studies on spawning and seed collection of sea squirt, *Halocynthia roretzi* (Drasche). *Bull. Natl. Fish. Dev. Agency.* 45:165-173.
- Picton BE and CC Morrow. 2016. Encyclopedia of marine life of Britain and Ireland. <http://www.habitas.org.uk/marinelife>.
- Pirie BJS and MV Bell. 1984. The localization of inorganic elements, particularly vanadium and sulphur, in haemolymph from the ascidians *Ascidia mentula* (Müller) and *Ascidrella aspersa* (Müller). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 74:187-194.
- Pyo JY, TJ Lee and S Shin. 2012. Two newly recorded invasive alien ascidians (Chordata, Tunicata, Ascidiacea) based on morphological and molecular phylogenetic analysis in Korea. *Zootaxa* 3368:211-228.
- SAS Institute. 2004. SAS user's guide version 9 (2<sup>nd</sup> ed.). Cary North Carolina, SAS Institute Inc.
- Schoolfield RM, PJH Sharpe and CE Magnuson. 1981. Non-linear regression of biological temperature-dependent



rate models based on absolute reaction-rate theory. J. Theor. Biol. 88:719–731.

Sharpe PJH and DW DeMichele. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. J. Theor. Biol. 64:649–670.

Thiyagarajan V and PY Qian. 2003. Effect of temperature, salinity and delayed attachment on development of the sol-

itary ascidian *Styela plicata* (Lesueur). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 290:133–146.

Received: 15 May 2018

Revised: 19 June 2018

Revision accepted: 21 June 2018