



# 아미노산 6종에 대한 개불, *Urechis unicinctus* 유생의 착저반응

최태봉 · 라성주\* · 윤순기\* · 유태식 · 최상덕†  
(†전남대학교 · \*연안생태개발)

## The Effect of 6 Amino Acids on Larval Settlement of *Urechis unicinctus*

Tae-Bong CHOI · Sung-Ju RHA\* · Soon-Ki YUN\* · Tae-Sik YU · Sang-Duk CHOI†  
(†Chonnam National University · \*Coastal Ecology Development)

### Abstract

Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae are induced by substratum-specific biochemical signals from the environment. In several species, a basic similarity between the biochemical signals required for induction of larval settlement and metamorphosis has been found. These inducers are protein or peptide associated from amino acids. So we thought that larvae and adult were closely connected. We analyzed amino acids of the *Urechis unicinctus* larvae, mucus, egg and sperm. And investigation was carried out on the effects of six different amino acids on larval settlement of the *Urechis unicinctus*. Among them, the most effective amino acid was leucine which had a lower threshold of settlement of  $1 \times 10^{-7}$  M and caused settlement rate was more than 20%. Glycyn, alanine, lysine, aspartic acid and glutamic acid had thresholds between  $1 \times 10^{-6}$  M and  $1 \times 10^{-2}$  M. On the other hand, lysine induced a high percentage of larval settlement at  $1 \times 10^{-5}$  M, but became toxic at high concentration.

**Key words :** *Urechis unicinctus*, Amimo acid, Settlement, Larvae, Invertebrate

### I. 서론

해양을 포함하여 지구상에는 약 100만 종 이상의 동물이 서식하고 있으며 이 중 무척추동물이 99%이상을 차지하고 있고 다양한 생활사와 생존 전략을 가지고 환경에 적응하며 살고 있다. 해양 무척추동물은 대부분 부화 후 부유유생기를 거치며 분산되어 새로운 군집을 형성하기도 하고 또는 어미의 서식지에 착저하여 세대를 이어간다. 부유유생기를 마치고 착저와 변태하는 과정은 성장의 한 형태일수 있으나 많은 생태학자들이 그 과정에 있어 물리·화학적 요인이 작용한다고 밝혀왔다(Wieczorek & Todd, 1998; Taylor &

Wilson, 2003). 물리적 요인에는 부착 또는 잠입 기질의 형태, 해류, 진동, 빛 등이 포함되고 화학적 요인은 다른 생물과의 상호작용, 아미노산, 펩타이드, 저질입자에 서식하는 박테리아 등이 작용하는데(Rittschof et al., 1998; Hadfield & Paul, 2001) 종특이성을 가지고 있으며, 단일 또는 복합적 요인이 관여되어 착저와 변태를 유발한다. 최근에는 박테리아로 이루어진 biofilm에 대한 유생 착저 및 변태 유발에 대하여 연체동물, 지의류, 극피동물, 갑각류 등에 다양한 해양무척추동물에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다(Wahabl et al., 2014; Webster et al., 2004; Webster et al., 2010; Bertrand & Woolacott, 2003; Tamburri et al., 2008;

† Corresponding author : 061-653-2923, choisd@jnu.ac.kr

\* 이 논문은 2001년도 한국연구재단의 지원을 받아 연구되었음(R-05-2001-000-00273-0).

Khandeparker et al., 2006; Anderson & Epifanio, 2009; Freckelton et al., 2017). 한편, 해조류의 histamine 화합물이 성게류 유생의 착저를 유발하고(Swanson et al., 2012), 만각류는 동종의 추출물에 대해서 착저를 유발하며(Matsumura et al., 1998), 연체동물인 *Mytilopsis sallei* 유생은 K<sup>+</sup> 이온과 GABA( $\gamma$ -aminobutyric acid)에 대하여 착저를 유도한다고 하였다(He et al., 2017).

개불, *Urechis unicinctus*는 의충동물문, 의충동물목 개불과에 속하며, 조간대 연성저질에 U자형 관을 파고 서식하고, 연동운동으로 호흡과 섭식을 한다(Kim, 2000). 과거에는 남해안 지역에서만 주로 식용하였으나 현재는 특유의 맛과 향으로 해삼, *Stichopus japonicus*과 우렁챙이, *Halocynthia roretzi*와 같이 전국적으로 소비되고 있다. 개불은 잠수기어업으로 어획되며 잠수부들이 ‘개불밭’이라고 할 정도로 많은 개체가 특정지역에 집중하여 서식하고 있다. 국내 통계에 따르면 국내 개불 생산량은 2009년 기준으로 약 200톤으로 국내 총 소비량 3천 600톤 대비 점유율이 6% 내외 수준밖에 안되 대부분 중국에서 수입하고 있는 실정이다(MIFAFF, 2012). 최근 국내에서도 개불의 중요생산 기술이 개발됨에 따라 개불이 서식할 수 있는 서해안과 남해안 연안에 중요방류가 실시되고 있다. 하지만 개불은 수정 후 개체에 따라 착저시기가 달라(Choi et al., 1999) 계획적 중요생산을 위해서는 적절한 착저유발 자극이 요구된다.

국외 개불류의 연구에서는 군집성 서식형태의 형성이 유생시기 화학적 상관관계, 착저와 변태 과정에 있어 부유유생의 선택성, 다양한 환경 및 화학적 요인에 의해 작용한다고 보고하였다(Stephano & Gould 1997; Julian et al. 1991; Menon & Arp 1991; 1993; Arp et al. 1993; Eaton & Arp 1993; Toomey & Epel 1993). 따라서, 본 연구는 산업적 가치가 높고, 양식대체품종으로 가능성이 높은 개불에 대하여 착저과정에 미치는 화학적 요인을 조사함으로써 착저과정을 단축과

특정한 지역에 밀집하는 이유를 밝히는데 기초자료를 제공하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료의 채집과 유생사육

실험에 사용된 개불유생은 2001년 12월 전남 여수시 연안에서 채집한 성숙한 성체를 약 30일간 순치시킨 후 절개법으로 난낭과 정낭을 적출한 후 인공수정을 실시하였으며, 발생과정을 거친 부유유생기의 유생은 멸균한 배양용기에서 사육하였다. 개불유생은 첫 2주 동안 사육수의 약 3/4를 주 3회 환수하였으며, 2주후부터는 4일마다 80 $\mu$ m Muller gauze로 싸여진 관을 통해 저층에서 싸이폰하였고, 여과해수를 보충해 주었다. 용존산소량은 6-7 mg/l, 수온은 17 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 개불유생의 먹이로는 *Chlorella* sp.을 먹이로 공급하였고, 사육시 500 inds./L의 밀도로 사육하였다.

### 2. 아미노산 분석

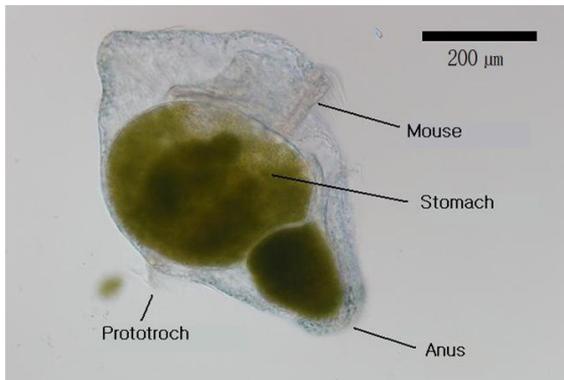
개불유생, 성체의 점액질, 정소와 난소 및 자연해수의 아미노산을 검출하기 위하여 시료 0.7g에 HCl 3 ml를 가하여 24시간 동안 가수분해하고 sodium citrate loading buffer (pH 2.2, 0.2 M)를 이용해 10 ml로 정용하고, 다시 10배 희석하여 아미노산 자동분석기 (Biochrom 20, USA)로 분석하였다.

### 3. 아미노산에 따른 개불유생의 착저유도

아미노산에 대한 개불유생의 착저반응을 조사하기 위하여 각기 분석한 아미노산에서 다량 검출된 glycine, leucine, alanine, lysine, aspartic acid, glutamic acid에 대한 유생의 농도별 착저반응을 관찰하였다. 각각의 아미노산 착저유도 시약은  $1.0 \times 10^{-8}$ M ~  $1.0 \times 10^{-2}$ M의 농도로 희석하여 준비하

아미노산 6종에 대한 개불, *Urechis uncinatus* 유생의 착저반응

였으며, 희석시 사용한 해수는 5 μm여과지로 여과한 후 멸균한 멸균여과해수에 희석하여 제조하였다. 멸균여과해수에 희석한 농도의 아미노산은 시험관에 30 ml씩 각각 분주하였고 착저 전 유생을([Fig. 1]) 각 시험관에 20개체씩 분주하여 착저 유무를 관찰하였다. 실험은 각 3회 반복하였으며 24시간째 착저한 개불유생을 계수하여 착저율을 조사하였다, 대조구로는 일반해수를 이용하였으며, 각 아미노산에 대한 개불유생의 반응을 관찰하였고, 착저효과에 대한 유생반응의 기준은 착저율이 20%이상인 실험구를 유효하게 판단하였다.



[Fig. 1] *Urechis uncinatus* larvae.

이 5%이상 나타났다. 또한, 개불의 점액질에서는 총 3,420.91 ppm의 아미노산 중 glycine이 35.37%, alanine 23.11, leucine 9.14%, lysine 6.08%, phosphoserine 5.33%, serine 5.37% 였으나 정자의 경우 269.55 ppm의 가장 낮은 총 아미노산 함량을 나타냈다. 일반해수에서는 각각 1 ppm 이하의 phosphoserine, glycine, alanine, leucine 등이 미량 검출되었다.

<Table 1> Composition of amino acid (ppm)

Amino acid	<i>U. larvae</i>	<i>U. egg</i>	<i>U. sperm</i>	<i>U. mucus</i>	S.W.
Phosphoserine	114.60	54.91	11.60	182.39	0.7
Aspartic acid	295.59	176.23	2.31	82.63	-
Serine	570.31	99.36	19.06	180.15	-
Glutamic acid	602.51	1,332.24	2.45	167.42	-
Proline	334.63	114.03	154.16	121.45	-
Glycine	3,327.22	599.36	4.96	1,209.88	0.86
Alanine	4,422.86	2,306.67	2.61	790.66	0.34
Methionine	338.23	1,310.88	10.64	106.96	-
Leucine	797.71	3,007.99	29.30	312.61	0.27
Ornithine	228.84	76.41	7.93	12.02	-
Lysine	377.09	1,386.47	21.74	207.96	-
Histidine	227.40	352.93	2.79	46.78	-
Total	11,636.99	0,817.47	269.55	3,420.91	2.17

\**U.*: *Urechis uncinatus*; S.W.: Sea water

### III. 결과

#### 1. 아미노산 분석

개불 유생, 난과 정자, 점액에 대한 아미노산 분석결과 <table 1>과 같다. 개불유생의 아미노산은 총 11,636.99 ppm이 검출되었으며, alanine (38.01%), glycone (28.59%), leucine (6.85%), glutamic acid (5.18%) 순으로 많았고 기타 아미노산은 5% 미만이 검출되었다. 개불의 난에서는 총 10,817.47 ppm의 아미노산이 검출되었고, leucine (27.81%), alanine (21.32%), lysine (12.82%), glutamic acid (12.32%), methionine (12.12%)의 함량

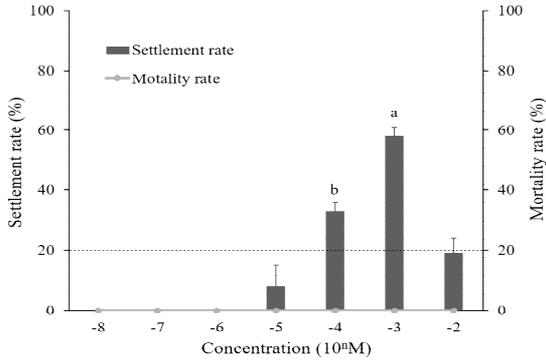
#### 2. 아미노산에 대한 착저반응

##### 가. Glycine

Glycine에 대한 개불유생의 반응은  $1.0 \times 10^{-5} M \sim 1.0 \times 10^{-2} M$ 까지 나타났으며, 20% 이상의 착저율을 보인 실험구는  $1.0 \times 10^{-3} M$ 과  $1.0 \times 10^{-4} M$ 에서만 20%이상의 착저율을 나타내었다 ([Fig. 2]).

개불유생은  $1 \times 10^{-5} M$ 의 농도에서 약 8%의 착저반응을 나타였으나 이하의 농도에서는 반응을 나타내지 않았고 대조구로 이용한 일반해수의 개불유생과 같이 표층에서 부유하는 형태를 나타내었다. 또한,  $1.0 \times 10^{-3} M$ 과  $1.0 \times 10^{-4} M$ 에서 반응한 개불유생은 착저와 부유를 반복하며 바닥표면을 탐색하는 행동을 보였다. 전 실험구간에서 폐사

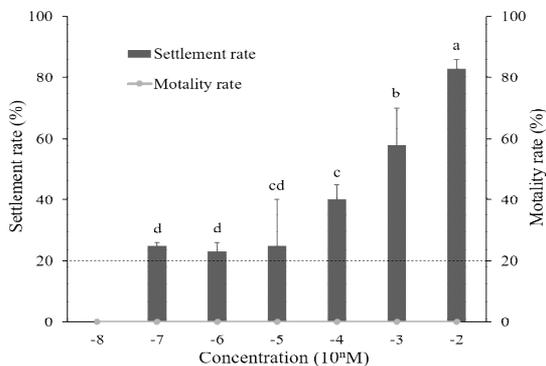
개체는 없었으나  $1.0 \times 10^{-3}$  M 이상의 농도에서는 섬모활동이 느려졌다.



[Fig. 2] Settlement and mortality rate of *Urechis unicinctus* larva in response to glycine for 24h ( $p < 0.05$ ).

나. Leucine

Leucine에 노출된 개불유생은  $1.0 \times 10^{-7}$  M 이상의 실험구에서 모두 20%이상 착저반응을 보였다 ([Fig. 3]). 개불유생은 시험관 저층에서 유영하며 착저와 부유를 반복하였고, 특히, 시험관 저층에서 선회하며 탐색하는 행동을 나타내었다. 농도가 높아질수록 착저율이 높았고  $1.0 \times 10^{-4}$  M 이상의 실험구에서는 모두 유의적 차이를 보였으며 ( $p < 0.05$ ),  $1.0 \times 10^{-8}$  M 실험구를 제외한 나머지 실험구에서는 유의적 차이를 보이지 않았다 ( $p > 0.05$ ).

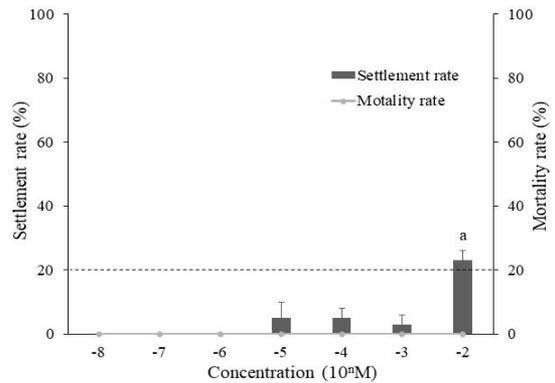


[Fig. 3] Settlement and mortality rate of *Urechis unicinctus* larva in response to leucine for 24h ( $p < 0.05$ ).

실험종료시까지 활발한 움직임은 나타내었으며 저층의 유생은 점차 행동이 둔화되는 모습을 보였고 바닥을 탐색하는 개체가 관찰되었다. 전 실험구간에서 폐사개체는 없었으나  $1.0 \times 10^{-2}$  M 실험구의 유생은 호흡이 정상개체보다 빠르거나 느려지는 현상을 보였다.

다. Alanine

Alanine에 노출시킨 개불유생의 반응은 3시간 경과 후  $1.0 \times 10^{-2}$  M에서 약 28%의 착저율을 나타내 효율이 낮았으며, 24시간 경과 후 역시 23%로 나타났다 ([Fig. 4]). 개불유생의 운동성은 실험 전과 동일하였으며, 폐사개체는 없었고, 개체별로 착저와 부유를 반복하기도 하였으나 동시다발적 반응이 아닌 개체별 움직임을 나타내었다.



[Fig. 4] Settlement and mortality of *Urechis unicinctus* larva in response to alanine for 24h ( $p < 0.05$ ).

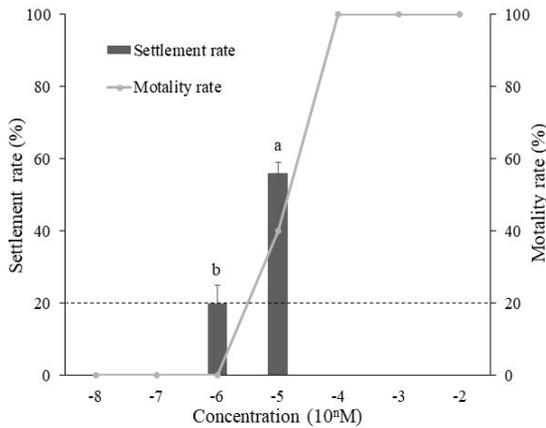
라. Lysine

개불유생은 lysine에 노출되어진 후 빠르게 운동을 하고 수직 및 수평 이동을 하였으나  $1.0 \times 10^{-2}$  M ~  $1.0 \times 10^{-5}$  M까지 폐사가 일어났다. Lysine에 노출된지 3시간 후  $1.0 \times 10^{-4}$  M ~  $1.0 \times 10^{-2}$  M의 농도에 점차적으로 섬모운동과 유영속도가 느려졌으며 탐색과정 없이 시험관 바닥에 가라앉아 착저한 것으로 보였으나 전개체가 폐사하였고,

폐사한 개불유생은 섭식한 *Chlorella* sp.를 체외로 토출하였으며 조직이 붕괴되어 형태를 구분하기 어려웠다. 24시간 후  $1.0 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ 의 농도에서 20% 이상 착저하여 시험관 저면에서 포복하며 움직이는 것이 관찰되었으나 섬모의 움직임과 운동성이 현저히 둔화되었으며, 연동운동은 매우 미약하였다.  $1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$  이하의 농도에서는 전개체가 부유하였으나 개불유생의 움직임은 대조구에 비하여 낮게 관찰되었다 ([Fig. 5]).

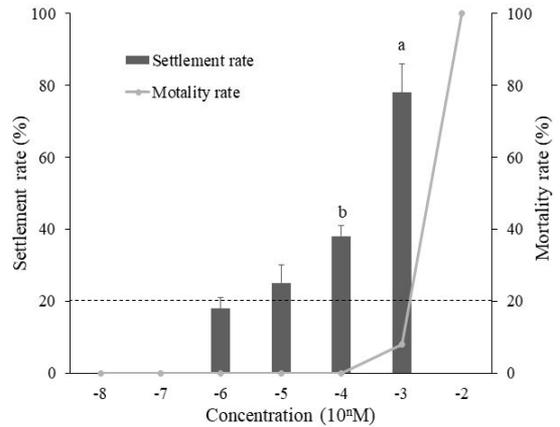
마. Aspartic acid

Aspartic acid에 노출된 개불유생은 3시간 경과 후  $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 에서 전개체가 폐사하였으며 실험 종료시  $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ 의 농도에서 약 8%의 개체가 폐사하였다 ([Fig. 6]). 폐사한 개불유생은 소화기관이 불투명해지며, 섬모의 움직임이 둔화되고, 연동운동이 매우 미약하였다.



[Fig. 5] Settlement and mortality of *Urechis uncinatus* larva in response to lysine for 24h ( $p < 0.05$ ).

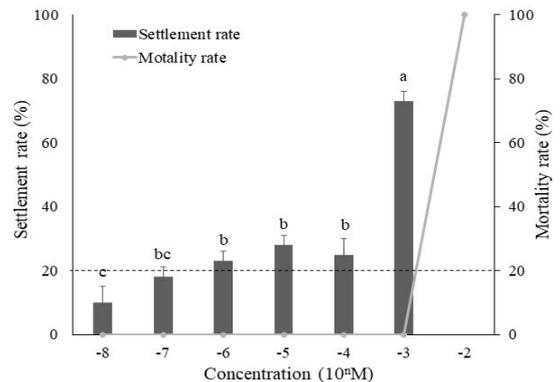
반면,  $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$  실험구 이하에서는 폐사가 일어나지 않았고  $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$  이하 실험구에서는 착저반응은 낮거나 없었다. 착저반응을 나타낸  $1.0 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$  실험구에서는 섬모운동이 대조구에 비하여 약했다.



[Fig. 6] Settlement and mortality of *Urechis uncinatus* larva in response to aspartic acid for 24h ( $p < 0.05$ ).

바. Glutamic acid

Glutamic acid에 노출된 개불유생은 3시간 경과 후  $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 에서 전개체가 폐사하였으며 폐사 개체는 체강내에서 체액이 분비되었고, 소화기관이 불투명해지며, 섬모의 움직임이 둔화되었다. 또한, 연동운동은 매우 미약하여 폐사가 나타난 lysine, aspartic acid, glutamic acid의 실험구와 같은 형태를 나타내었다 ([Fig. 7]).



[Fig. 7] Settlement and mortality rate of *Urechis uncinatus* larva in response to glutamic acid for 24h ( $p < 0.05$ ).

24시간 경과 후에도  $1.0 \times 10^{-2}$  M 실험구를 제외한 나머지 실험구에서는 폐사개체가 없었으며,  $1.0 \times 10^{-3}$  M 실험구에서 약 70%이상의 착저율을 보여 다른 실험구와 유의적 차이를 보였고( $p < 0.05$ ), 농도가 낮아짐에 따라 착저율도 감소하였다.

#### IV. 고 찰

과거의 연구에 의하면 전복유생은 착저에  $\gamma$ -amino butyric acid를 이용하였고(Morse et al., 1979), *Opisthobranch mollusc* 유생의 정착을 향상시키기 위해 succinyl choline chloride를 이용하였다(Suer & Phillips 1983). Choi et al.(2000)에 따르면 개불유생의 착저를 유발하는 물질은 착저를 촉진시키는데 중요할 것이며, 그렇지 않을 경우 일정기간동안 지연될 수도 있다고 보고하였다. 개불류인 *U. caupo*의 실험에서 착저와 변태과정이 점진적으로 자연스럽게 일어난다고 밝혔으나 이는 유생의 착저 및 변태를 유도하기 위해 어떠한 조건에도 노출시키지 않았기 때문이라 생각되며(Newby, 1940), 본 실험에서 멸균여과해수만 첨가된 대조구에서 유생이 일련의 착저반응을 보이지 않은 것과 비교할 때 같은 결과라고 생각된다.

아미노산은 모든 생명현상을 관장하는 단백질의 기본 구성단위로 단일 또는 복합체로 작용하며, 조합에 따라 기능을 달리하는 peptide 또는 di-peptide로 역할을 수행한다. 본 실험에서 사용한 아미노산은 6종으로 개불 정자를 제외하고 개불유생과 난 그리고 성체의 점액질에서 비교적 높은 비중을 차지하는 아미노산을 선택하여 실험하였다. 실험에 사용한 6종의 아미노산에 대하여 농도별 차이는 있으나 개불유생은 착저반응을 보였고, 일부 농도에서는 폐사하였다. Glycine에서는  $1 \times 10^{-3}$  M에서 약 60%의 착저율을 보였으나  $1 \times 10^{-4}$  M과  $1 \times 10^{-2}$  M에서는 각각 약 30%와 20%로 낮아졌으며, leucine에서는  $1 \times 10^{-2}$  M의 고농도에서 80% 이상의 착저반응을 나타내었지만

$1 \times 10^{-7}$  M 실험구까지 20%이상의 착저율을 보여 다른 아미노산에 비해 안정적이었다. Alanine에서는 비교적 모든 실험구에서 20% 이하의 낮은 착저반응을 보였으나 폐사개체가 없어 고농도로 존재하더라도 개불유생의 생리적 변화를 주지 않는 것으로 판단된다. 한편, leucine과 lysine는  $1.0 \times 10^{-5}$  M의 농도에서도 높은 착저율을 나타내었으나 leucine이 농도별로 착저율이 낮아지는 반면 lysine의 경우  $1.0 \times 10^{-2}$  M ~  $1.0 \times 10^{-4}$  M에서 모두 폐사하였고  $1.0 \times 10^{-5}$  M에서만 높은 반응을 나타내었다. Glutamic acid와 aspartic acid 역시  $1.0 \times 10^{-3}$  M에서 70% 이상의 높은 착저율을 보였으나 유생의 섬모운동 호흡 등을 관찰하였을 때 대조구와 비교하여 운동성이 매우 떨어지고 일부 개체는 체내물질을 분출하기도 하여 착저반응이라기 보다는 독성이 나타나는 것으로 판단된다. 폐사가 발생하지 않고 안정적 착저반응을 보인 leucine은  $1.0 \times 10^{-7}$  M 실험구에서도 약 25%의 착저율을 나타내었으며  $1.0 \times 10^{-2}$  M ~  $1.0 \times 10^{-7}$  M까지 전 실험구에 고르게 착저반응을 나타낸 바 6종의 아미노산 중 가장 효율이 높았다. 각각 적정 농도에서 착저한 개불 유생은 시간에 차이는 있었으나 실험종료 후 여과해수로 환수한 뒤 일부 개체는 섬모를 잃고 체질이 나타나며 변태를 시작하였다(Fig. 8).

개불과 동일선상에서 비교하기는 어려우나 *Balanus amphitrite*와 *Hydroides elegans*의 경우 신경전달물질인 GABA에 의한 착저유도와 변태유도가 확인되었고, 각 종마다 반응을 하는 amino acid 계열 및 농도의 차이가 있으며(<Table 2>). 또한, 농도에 따라서 착저를 지연 또는 단축시킬 수 있다고 밝혀 적절한 조건에 대한 차이가 있음을 나타내고 있다(Jayant & Hitosh 2000; Tilman & Qian 1999). 개불 유생도 농도차에 따라 반응을 하는 것으로 미루어 부유유생시기에 어미근처에서 특정한 농도의 물질에 영향을 받아 착저하거나 특정 생물 또는 기질표면에 발생한 biofilm에도 반응할 수 있을 것으로 판단된다. 또한,

Bryan et al. (1998)는 *H. elegans* 유생에서 같은 종이 아닌 *Bugula neritina*에서 추출한 물질에 대하여 착저 및 변태하는 것으로 밝혀 착저를 유발하는 물질이 단지 같은 종에서 생성되는 물질에 국한된 것은 아니라고 입증하였다. 따라서, 현재 동종의 관계를 기반으로 아미노산으로 한정하여 조사하였으나 이를 포함하여 다른 해양 종의 착저 또는 부착에 영향을 미치는 화학성분에 대하여 많은 연구가 필요하다고 여겨진다.



[Fig. 8] *Urechis uncinatus* larvae after settlement.

<Table 2> Comparison of animal's response to amino acid

Amino acid ( $10^{-5}$ M)	Species	
	<i>U. larva</i>	<i>B. larva</i> (Jayant and Hitoshi, 2000)
Glycine	++	+
Lysine	+	-
Leucine	++	++
Aspartic acid	+	-
Glutamic acid	+	+
Alanine	-	-

\**U.*: *Urechis uncinatus*; *B.*: *Banulus amphitrite*; ++: high; +: moderate; -: little or none.;

한편, Barnacle, *Balanus amphitrite*의 유생은 tyrosine이  $1.0 \times 10^{-6}$  M의 농도에서 착저를 유도하고, 또한,  $1.0 \times 10^{-4}$  M에서  $1.0 \times 10^{-3}$  M에서는 착저를 억제하였으며, glycine 같은 비극성 아미노

산 역시  $1.0 \times 10^{-6}$  M에서는 착저유인의 영향을  $1.0 \times 10^{-3}$  M에서는 착저억제의 영향을 나타낸 것으로 밝히고 있다 (Jayant & Hitoshi 2000). 따라서, 독성이 아닌 억제, 기피할 수 있는 물질을 탐색하는 것도 해양생태계를 이해하는데 중요한 요인이라고 생각된다.

## V. 요약

해양무척추동물의 착저와 변태는 해양환경에 존재하는 화학적 신호로 인해 유발되며, 여러 종의 연구를 통해 아미노산, 또는 아미노산 복합체가 작용한다고 밝혀져 왔다. 부유유생기를 거치는 해양무척추동물의 착저과정에 선택성을 조사하기 위하여 개불유생, 성체의 점액, 난과 정자의 아미노산을 분석하여 glycine, leucine, alanine, lysine, aspartic acid, glutamic acid 등 6종의 아미노산에 대한 개불유생의 착저유도를 실험하였다. 아미노산 6종에 대한 개불유생의 착저반응을 실험한 결과, leucine은  $1 \times 10^{-7}$  M까지 20%이상의 착저율을 나타내 가장 효과적이었고 나머지 아미노산은  $1 \times 10^{-6}$  M ~  $1 \times 10^{-2}$  M의 범위에서 20%이상 착저율을 보였다. 한편,  $1 \times 10^{-5}$  M에서 가장 높은 착저율을 보인 lysine은  $1 \times 10^{-5}$  M를 포함해 농도가 높을수록 폐사율이 상승했고, aspartic acid와 glutamic acid 역시  $1 \times 10^{-4}$  M ~  $1 \times 10^{-3}$  M 이상의 농도에서 폐사율이 매우 높았다.

## References

- Anderson A. & Epifanio C. (2009). Induction of metamorphosis in the Asian shore crab, *Hemigrapsus sanguineus*: characterization of the cue associated with biofilm from adult habitat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 382, 34-39.
- Arp A. J. • Menon J. G. & Julian, D. (1993). Multiple mechanisms provide tolerance to environmental sulfide in *Urechis caupo*. *American Zoologist*, 35,

- 132~144.
- Bertrand J. & Woollacott R.(2003). G-protein linked receptors and induction of metamorphosis in *Bugula stonlonifera*(bryozoa). *Invertebrate Biology*, 122, 380~385.
- Bryan P. J. · Kreider J. L. & Qian P. Y.(1998). Settlement of the serpulid polychaete *Hydroides elegans*(Haswell) on the arborescent bryozoan, *Bugula neritina*(L.): evidence of a chemically mediated relationship. *Journal of Experimental marine biology and Ecology*, 220, 171~190.
- Choi S. D. · Kim H. J. · Rha S. J. · Hong S. Y. · Lee W. K. & Lee W. B.(1999). The effect of pH and salinity on egg development of *Urechis unicinctus*(von Drasche) in southern Korea. *Journal of Aquaculture*, 12, 155~161.
- Choi S. D. · Kim H. J. · Rha S. J. · Suh H. L. & Hong S. Y.(2000). Stimulation for rapid settlement of the larvae of the marine Echiuran *Urechis unicinctus*. *Journal of Aquaculture*, 13(2), 175~179.
- Eaton R. & Arp A. J.(1993). Aerobic respiration during sulfide exposure in the marine echiuran worm, *Urechis caupo*. *Physiological Zoology*, 66(1), 1~19.
- Freckelton, M. L. · Nedved, B. T. & Hadfield, M. G.(2017). Induction of Invertebrate Larval Settlement; Different Bacteria, Different Mechanisms?. *Scientific Reports*, 7.
- Hadfield M. G. & Paul V. J.(2001). Natural chemical cues for settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. *Marine chemical ecology*, 431~461.
- He J. · Qi J. F. · Huang Y. Q. · Sheng Y. Q. · Su P. · Feng D. Q. & Ke C. H.(2017). Larval settlement and metamorphosis of the invasive biofouler, *Mytilopsis sallei*, in response to ions and neuroactive compounds. *Marine Biology Research*, 1~14.
- Jayant K. M. & Hitoshi K.(2000). The effect of mono-amino acids on larval settlement of the barnacle, *Balanus amphitrite* Darwin. *Biofouling*, 14(4), 299~303.
- Julian D. · Menon J. G. & Arp A. J.(1991). Structural and functional adaptations to hypoxia and sulfide in *Urechis caupo*. *American Zoologist*, 31, 73~74.
- Khandeparker L. · Anil A. C. & Raghukumar S.(2006). Relevance of biofilm bacteria in modulating the larval metamorphosis of *Balanus amphitrite*. *FEMS Microbiology Ecology*, 58, 425~438.
- Kim H. J.(2000). Studies in the reproductive ecology and larval culture conditions of the marine echiuran worm, *Urechis unicinctus* in Korea. Ph. D. Dissertation, Yosu National university, 111pp.
- Matsumura K. · Nagono M. & Fusetani N.(1998). Purification of a larval settlement inducing protein complex(SIPC) of the barnacle, *Balanus amphitrite*. *The Journal of Experimental Zoology*, 281, 12~20.
- Menon J. G. & Arp A. J.(1991). Ultrastructure of the body wall of the marine echiuran worm *Urechis caupo*. *American Zoologist*, 31, 71~72.
- Menon J. G. & Arp A. J.(1993). The integument of the marine echiuran worm *Urechis caupo*. *Biological Bulletin*. 185, 440~454.
- MIFAFF(2012). <http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201600011900>
- Morse D. E. · Hooker N. · Duncan H. & Jensen I.(1979).  $\gamma$ -amino butyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. *Science*, 204, 407~410.
- Rittschof D. · Forward Jr R. B. · Cannon G. · Welch J. M. · McClary M. · Holm E. R. · Clare A. S. · onova S. · McKelvey L. M. · Bryan P. & Van Dover C. L.(1998). Cues and context: larval responses to physical and chemical cues. *Biofouling*, 12, 31~44
- Stephano J. L. & Gould M. C.(1997). Parthenogenesis in *Urechis caupo*(Echiura) 2. Role of intracellular pH in parthenogenesis induction. *Development Growth & Differentiation*, 39, 99~104.
- Suer A. L. & Phillips D. W.(1983). Rapid, gregarious settlement of the larvae of the marine Echiuran, *Urechis caupo* Fisher & MacGinitie 1928. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 67, 243~259.
- Swanson R. L. · Byrne M. · Prowse T. A. A. · Dworjanyn S. A. · Mos B. & Steinberg P. D.(2012). Dissolved histamine: a potential habitat marker promoting settlement and metamorphosis in sea urchins larvae. *Marine Biology*, 159, 915~925
- Tamburri M. · Luckenback M. · Breitbart D. & Bonniwell S.(2008). Settlement of *Crassostrea ariakensis* larvae: effects of substrate, biofilms, sediment and adult chemical cues. *Journal of Shellfish Research* 27, 601~608.

- Toomey B. H. & Epel D.(1993). Multixenobiotic resistance in *Urechis caupo* embryos : Protection from environmental toxins. biological bulletin, 185, 355~363.
- Wahab M. A. A. · de Nys R. · Webster N. & Whalan S.(2014). Larval behaviours and their contribution to the distribution of the intertidal coral reef sponge, *Carteriospongia foliascens*. PLoS One, 9(5), e98181.
- Webster N. S. · Smith L. D. · Heyward A. J. · Watts J. M. E. · Webb R. I. · Blackall L. L. & Negri A. P.(2004). Metamorphosis of a scleractinian coral in response to microbial biofilms. Applied and Environmental Microbiology, 70, 1213~1221.
- Webster N. · Soo R. · Cobb R. & Negri A.(2010). Elevated seawater temperature causes a microbial shift on crustose coralline algae with implications for the recruitment of coral larvae. Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology, 5(4), 759~770
- Wieczorek S. K. & Todd C. D.(1998). Inhibition and facilitation of settlement of epifaunal marine invertebrate larvae by microbial biofilm cues. Biofouling, 12, 81~118.
- 
- Received : 21 August, 2017
  - Revised : 05 September, 2017
  - Accepted : 11 September, 2017