

# 대합 *Meretrix lusoria*의 人工受精 및 發生에 關한 研究

崔 信 錫 · 宋 容 圭

## STUDIES ON THE ARTIFICIAL FERTILIZATION AND DEVELOPMENT OF *MERETRIX LUSORIA*

Shin Soc CHOI\* and Yong Kyoo SONG\*

*Meretrix lusoria* is one of the most favorite edible bivalves inhabiting wide inter-tidal flats along the western coast of Korea. Over the period of July to September 1973, some specimens from a tidal flat near AnMyun Island were submerged in sea water with various concentrations of ammonium hydroxide added and careful observations were made on their fertilization, early development, and metamorphosis of the larvae.

The highest rate of fertilization was demonstrated by individuals treated with 1/1000 normal solution of ammonium hydroxide, and their fertilized eggs followed normal development, i.e., two cell stage in 1.2 hours after fertilization, gastrula stage after 4.7 hours, and trochophore stage after 5.6 hours.

Within 24 hours after fertilization *M. lusoria* larvae have acquired the form of early straight-hinge veliger with the mean prodissoconch I length of 112 $\mu$ . It takes seven days to get the umbo stage with the mean shell length of 172 $\mu$  and twenty days to get the metamorphosing stage with the mean shell length of 232 $\mu$ . The larvae were cultured to the metamorphosing stage with the shell length of 272 $\mu$  in the laboratory condition.

The relationship between the shell length (L) and the shell height (H) in veliger stage is shown as  $H=1.02325L-24.46425$  with a significant difference.

### 序 論

대합(*Meretrix lusoria*)은 韓國 西海岸의 干潟地에 多量으로 棲息하는 有用 조개류의 一種이다. 本種의 初期 發生 및 稚貝의 生態의 研究에 關해서는 Yoshida(1941, 1953), Fujimori(1929) 등의 報文이 있으나, 이들은 正常 海水 속에서 受精된 卵의 初期發生過程과 自然産 稚貝의 成長度만을 概略적으로 報告하고 있다. 그리고 Hatanaka 등(1943)은 本種의 成熟卵을 1/1000-1/2000 N의  $NH_4OH$  海水溶液에 浸漬한 後에 精子를 注加해서 90%의 受精率을 얻는 데 成功했다고 報告하고 있다. 그러나  $NH_4OH$  海水溶液 處理에 依한 處理濃度別 人工 受精率이나, 이렇게 人工受精된 卵의 初期發生 및 幼生의 飼育에 關해서 仔細히 言及한 報文은 없다.

筆者들은 1973年 6月 20일부터 同年 8月 25일에 이르기까지 忠淸南道 瑞山郡 安眠面 所在 忠南水産種苗培

\*忠南大學校 文理科大學, College of Arts & Natural Sciences, Choong Nam National University

養場에서 本種의 卵에  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液을 濃度別로 處理한 後의 受精率, 發生過程 및 孵化된 幼生の 成長度 등을 調査한 바 있어 그 結果를 報告하러 한다.

本 研究를 하게 된 動機는 첫째: 大합 幼生の 生理的 및 生態的 要素들을 實驗室內에서 研究할 수 있도록 하기 爲해서이다. 둘째: 自然產 plankton 中에서 大합의 幼生을 識別해낼 수 있는 形態學的 根據를 얻기 爲해서이다. 셋째: 現在 우리나라의 大합 養殖에서 가장 큰 問題로 남아있는 種貝確保를 爲해서 人工的으로 種貝를 生産해 낼 수 있는 生物學的 基礎 資料를 얻기 爲해서이다.

## 材料 및 方法

本 研究는 忠淸南道 瑞山郡 安眠面 三峰의 干潟地에서 採集한 大합을 材料로 使用하였다.

韓國 西海產 大합의 放卵時期인 6월부터 8월까지 하게 되었다. 材料 採集 當時의 大합 棲息地의 水溫은 24~29℃였으며, 採集해온 大합은 水溫이 27℃로 維持된 水槽 속에 保管하였다.

### 1. 卵巢 成熟度

殼長이 50mm 以上이고 可及의 新鮮한 個體를 골라 生殖巢를 切開하여 雌雄을 識別한 後 암컷의 卵을 採取하여 成熟度를 調査하였다. 成熟度는 卵細胞의 直徑 및 卵細胞 中의 成熟卵의 百分率 등을 根據로 調査하였다.

每 個體當 3회씩 프레파라아트를 만들어서 視野에 나타난 卵細胞 100個씩을 任意로 골라서 測定한 平均値를 調査하였다.

### 2. 人工受精에 依한 初期發生

卵巢를 切開하여 採取한 卵을 正常海水를 담은 petri dish에 풀어 넣는다. 解剖顯微鏡으로 檢鏡을 하면서 形體가 뚜렷한 成熟卵만을 micro-pipette로 골라 낸다. 卵의 直徑이  $74\mu$  以上이며 完全한 球型인 成熟卵만을 골라 내어 各各 20.0ml, 19.6ml, 18.8ml, 17.6ml 씩의 濾過된 正常海水가 들어 있는 小型 petri dish 5個에 各各 200個씩 넣었다.

그 後 1/20 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液을 만들어 pipette로 各 petri dish 속에 0.4ml, 1.2ml, 2.0ml, 2.4ml 씩 滴定하면서 유리막대로 攪拌 희석시켜 各 容器 속의  $\text{NH}_4\text{OH}$ 의 濃度가 各各 1/1000 N, 3/1000 N, 5/1000 N, 8/1000 N이 되도록 해 주었다. 그리고 20.0ml의 正常海水가 들어 있는 control用 petri dish 속에서  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液을 加하지 않았다.  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液 處理 後 20분이 지난 後에는 濾過된 正常海水로 各 petri dish 속의 卵들을 세척하고 다시 各 petri dish 속에 正常海水를 19ml씩 넣어 주었다.

한편 精巢를 切開하여 採取한 精子를 顯微鏡으로 檢鏡하여 運動이 活發한 것을 確認한 後, dropper로 뽑아 濾過된 正常海水가 들어 있는 petri dish에 풀어 넣었다.

$\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液의 濃度別 處理 및 세척過程을 마친 各 petri dish 속에 準備된 精子 混合液을 1ml씩 넣어 주면서 유리막대로 攪拌 희석 시켜 주었다.

解剖顯微鏡(20×)을 통해 各 petri dish 속의 卵의 發生過程을 觀察하면서 每 20分마다 한번씩 濾過된 正常海水로 完全換水を 해주었다. 各 卵割段階 및 幼生段階는 顯微鏡 寫眞攝影(280×)을 實施하였다.

### 3. 幼生の 飼育

卵割을 시작한 後 Trochophore 期에 이르면 兩面이 그물벽으로 이루어진 15cm×13cm×15cm의 小型 箱子에 옮겨 넣은 다음, 이 小型 箱子를 61cm×31cm×46cm의 大型水槽 속에 넣어서 飼育하였다. 조개류의 D型 幼生の 飼育時의 水溫을 27℃로 維持하였다. 幼生을 飼育하는 동안의 海水比重은 1.018—1.019이었다.

그리고 每 6時間 間隔으로 大型水槽 속의 海水를 完全換水시켜 주었다. 飼料는 本 實驗材料 採集場所의 近海에서 滿潮時 採集한 plankton을 No. 25 체 (網目이 45~55 $\mu$ )로 걸러서 每日 1회씩 供給하였다. 飼料濃度는 50,000 cells/cc가 되도록 넣어 주었다.

부유자태期에 達한 幼生은 殼長과 殼高를 測定하였다.

대합의 人工受精 및 發生

Table 1. Egg size of *M. lusoria* tested

Date	Egg size( $\mu$ )			Maturation rate(%)	Water temp. (°C)
	Min.	Max.	Mean		
July 24	87.9	106.9	96.8	30.0	29
31	80.2	90.2	84.5	34.6	28
Aug. 3	79.8	95.9	88.1	30.7	27
4	80.0	88.6	84.5	29.4	27
7	73.0	83.0	79.1	20.0	27
9	68.0	85.0	73.7	15.4	27

Table 2. Fertilization rate of *M. lusoria* eggs which were treated with different normality of  $\text{NH}_4\text{OH}$ -Seawater

Normality of $\text{NH}_4\text{OH}$ -seawater(N)	Fertilization rate(%)	pH	Specific gravity
1/1000	36.9	7.43	1.0181
3/1000	23.8	7.74	1.0186
5/1000	20.0	8.01	1.0188
8/1000	9.8	8.28	1.0191
Control	3.0	7.19	1.0180

結果 및 考察

1. 卵巢 成熟度

筆者들이 忠南 瑞山郡 安眠面 近海産 대합의 卵巢 成熟도를 調査한 結果에 依하면 7月 下旬에 卵巢 成熟도가 가장 높았으며, 8月 中旬頃부터 卵巢속의 成熟卵이 極히 減少되는 現象을 볼 수 있었다(Table 1).

Yoshida(1941)는 本種의 卵經은 60~80 $\mu$ 이라고 報告하고 있으나, 筆者들의 調査結果에서는 成熟卵의 卵經이 68~107 $\mu$ 으로 나타나고 있다.

2. 人工受精에 依한 初期發生

Hatanaka 等(1943)은 本種의 成熟卵을 1/1000~1/2000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液에 浸漬하고 精子를 뿌려 준 結果, 90%의 受精率을 볼 수 있었다고 한다. Choi (1970)도 人爲的으로 放出시킨 本種의 卵의 成熟도를 알기 爲해서 같은 方法으로 受精을 시켰더니 受精卵이 正常的으로 發生한다고 報告하고 있다. 本 研究結果에 依하면 *M. lusoria*의 受精率이 1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液으로 處理했을 때 가장 높기는 했으나 約 37%의 受精率을 보여주고 있다. 그리고 control에서는 3%의 受精率만을 보여주고 있다(Table 2).

이 以外에도 Sagara (1958)나 Choi (1965)의 조개류의 人工放卵 實驗에서 처럼 1/10 N, 1/20 N, 1/100 N, 1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{Cl}$  海水溶液과 1/200 M, 1/300 M의 KCl 海水溶液을 處理한 後에 人工受精을 試圖해 보았으나 1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液을 處理했을 때 보다 受精率이 매우 낮을 뿐만 아니라 割球의 形態에 異常이 생기고 正常的인 卵割을 하지 않았다.

1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液 處理로 人工受精된 *M. lusoria* 卵의 發生過程은 Fig. 1과 같다.

本種의 發生에 關해서는 Yoshida (1943), Choi(1970)등의 報文이 있으나 D型期 以後의 成長度만을 言及하고 있을 뿐 初期發生에 關해서는 仔細한 報告가 없었다. 筆者들이 1973年 8月上旬에 1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水

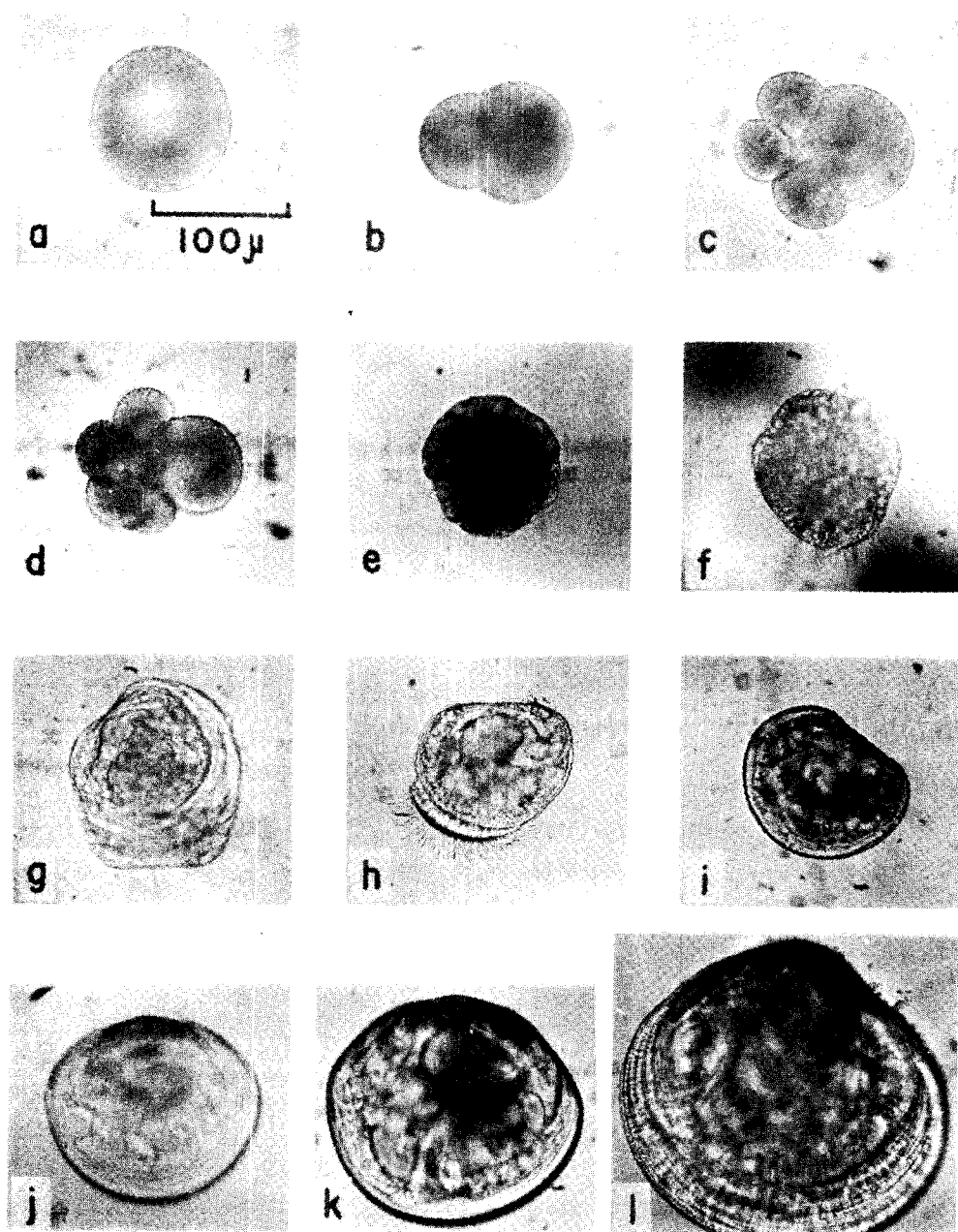


Fig. 1. Stages of development of *M. lusoria* at 27°C.

The subjects have been magnified 280 times: (a) 5 minutes after fertilization (scale=100μ); (b) first division, 1.2 hrs; (c) second division, 1.7 hrs; (d) 8-cell stage, 2.1 hrs; (e) gastrula, 4.7 hrs; (f) trochophore, 5.6 hrs (g) straight-hinge veliger (Prodissoconch I is appearing) 24. hrs, (h) straight-hinge veliger with complete larval shell and velum, 28 hrs; (i) straight-hinge veliger, 48 hrs; (j) umboned veliger, 96 hrs; (k) pediveliger stage, 168 hrs; (l) plantigrade benthic stage, 480 hrs.

溶液(pH=7.43, 水溫27℃) 속에서 人工受精시킨 *M. lusoria*의 各 發生 段階別 經過時間은 Table 3과 같다.

### 3. 幼生の 飼育

Yoshida (1941)는 本種이 受精後 24時間이 經過 되었을 때 D型幼生이 되었고, 水溫 24~30℃에서 16~19日이 經過되었을 때는 크기가 0.18×0.16mm가 되었으며, 3週間이 經過된 後에 底棲生活에 들어 간다고 報告하고 있다. 筆者들이 實驗室에서 飼育한 本種의 Trochophore段階 以後의 發生過程은 Table 4와 같다.

Table 3. Elapsed time of each developmental stage of *M. lusoria* eggs treated with 1/1000 N NH<sub>4</sub>OH-seawater solution

Date	Time elapsed after fertilization(minute)				
	2-cell stage	4-cell stage	8-cell stage	Blastula stage	Trochophore stage
July 22	65	89	115	205	295
25	95	125	155	280	375
Aug. 7	55	90	103	253	338
8	65	95	105	200	350
9	95	130	150	270	362
10	50	80	110	200	300
Mean	71	102	123	235	337

Table 4. Shell length in microns of *M. lusoria*, reared under laboratory conditions (27℃)

Developmental stage	Days after fertilization	Number of individuals measured	Shell length	
			Range	Mean
Early D-shaped	1	97	104-117	112
Post D-shaped	2	82	120-128	124
Early umbo stage	4	23	130-144	140
Umbo stage	7	17	152-192	172
Metamorphosing stage	20	11	198-272	232

本 實驗에서 人工受精 後 1日이 經過된 後에는 原殼의 殼長이 112μ인 初期 D型期에 達하고, 2日이 지난 後에는 殼長이 124μ인 後期 D型期에 達하게 되었다. 그 後 7日이 지난 後에는 平均 殼長이 172μ인 殼頂期에 達하고, 20日이 지난 後에는 平均殼長이 232μ인 것을 觀察할 수 있었다. 이 結果는 Carriker (1961)가 *Mercenaria mercenaria*의 幼生을 飼育했을 때나 筆者들(1973)이 *Cyclina sinensis*의 幼生을 飼育했을 때 볼 수 있었던 結果와 類似한 것이었다.

이를 보아 正常海水 속에서보다 受精率이 높은 1/1000 N의 NH<sub>4</sub>OH海水溶液 處理로 人工受精된 後 孵化된 幼生은 正常的인 幼生처럼 飼育할 수 있다는 것을 알 수 있다.

室內에서 飼育된 本種의 幼生の 最大 크기로는 Yoshida(1953)가 殼長이 180μ 되기 까지 飼育한 例밖에 없는데, 筆者들은 平均 殼長이 232μ까지 飼育할 수 있었다. 殼長이 232μ에 達했을 때에는 間歇적으로 발을 使用하여 몸을 伸회시키는 것을 볼 수 있었다.

1/1000 N의 NH<sub>4</sub>OH 海水溶液 處理로 人工孵化된 大합의 幼生을 初期 D型期로 부터 底棲初期까지 飼育하는 동안에 測定된 殼長에 對한 殼高의 相對成長을 調査하였다. 이 때의 殼長의 크기(L)와 殼高의 크기(H)와의 關係는 回歸直線으로 表示할 수 있었다. 이 關係式은 Fig. 2에서 보는 바와 같이  $H=1.02325L-24.46425$ 이었다.

要 約

1973年 6月 20일부터 同年 8月 25일까지 사이에 *Meretrix lusoria*의 成熟卵에  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液을 規定濃度別로 處理한 後의 人工受精率, 初期發生過程 및 幼生의 變態過程을 調査하였다.

1. *M. lusoria*의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液 處理에 依한 規定濃度別 受精率은 1/1000 N의  $\text{NH}_4\text{OH}$  海水溶液 處理로 가장 높은 人工受精率을 얻었고, 이렇게 處理된 後 人工受精된 卵의 發生過程도 正常的임을 確認하였다.

2. *M. lusoria*의 初期發生過程에서는 受精後 1時間 35분이 지나면 2割期, 4時間 40분에 胞胚期, 6時間 15분에 Trochophore期에 達함을 볼 수 있었다.

3. *M. lusoria*의 幼生을 飼育한 結果, 受精後 1日 이 지나면 原殼의 平均殼長이  $112\mu$ 인 初期 D型에, 7日 이 지나면 平均 殼長이  $172\mu$ 인 殼頂期에, 20日 이 지나면 平均 殼長이  $232\mu$ 인 初期底棲期에 達함을 볼 수 있었다.

4. *M. lusoria*의 幼生을 實驗室內 水槽 속에서 飼育하여 殼長  $272\mu$ 인 稚貝을 얻을 수 있었다.

5. *M. lusoria*의 初期 D型期로부터 變態期까지의 殼長(L)과 殼高(H)와의 關係는  $H=1.02325L-24.46425$  (相關係數  $r=0.99050$ )의 式으로 表示되었다.

\*본실험을 위한 연구비 일부는 1973년도 문교부 학술연구조성비에 의한 것이다.

文 獻

Carriker, M. R., (1961): Interrelation of functional morphology, behavior, and autecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc., 77(2), 168~241.

Choi, K. C., (1935): *Tapes philippinarum*의 幼生과 稚貝에 關한 生態的 研究. 師大學報. 7(1), 161~234.

\_\_\_\_\_, 1970. 대합과 가무락의 種貝增産을 爲한 生態的 研究. 韓陸水誌. 4(1), 9~19.

Choi, S. S. & Y. K. Song, (1973): Studies on the artificial fertilization and development of *Cyclina sinensis*. Bull. Kor. Fish. Soc., 6(1~2), 76~80.

Fujimori, S., (1929): 有明海 干潟利用 研究報告. 1~715.

Hatanaka, M., T. Imai & R. Sato, 1943. On the cultivation of *Tapes philippinarum* & *Meretrix lusoria*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 11(5-6), 218~223.

韓國中央水產試驗場, (1939): 數種의 二枚貝의 産卵期 調査. 韓國中央水產試驗場年報. 9(3), 26~38.

Loosanoff, V. L., (1954): New advances in the study of bivalve larvae. Am. Sci., 42, 607~624.

Sagara, J., (1953): Artificial discharge of reproductive elements of certain bivalves caused by injection with  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Jap. Soc. Sci. Fish., 23, 505~510.

Yoshida, H., (1941): 대합의 初期 生活史에 關하여. Venus 11(1), 1~11.

\_\_\_\_\_, (1953): Studies on larvae and young shells of industrial bivalves in Japan. Jour. Shimomoseki Coll. Fish., 3(1), 1~106.

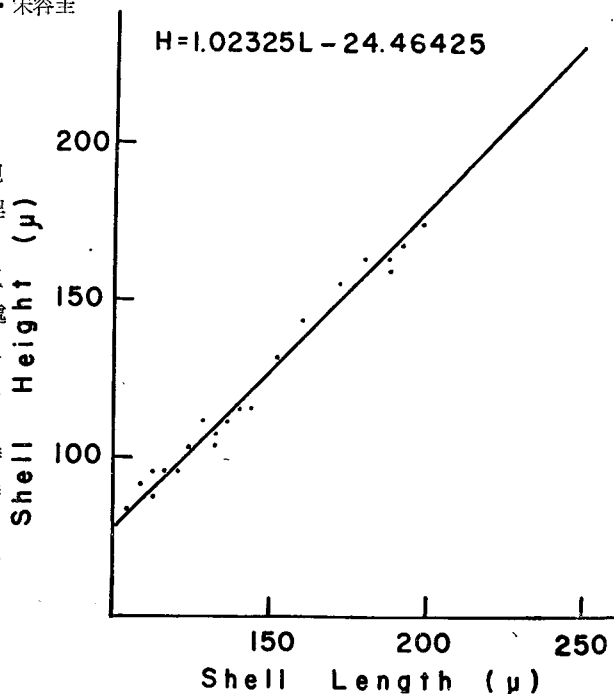


Fig. 2. Relationship between the shell length and the shell height of *M. lusoria*, reared from early D-stage to metamorphosing stage.