

## 코끼리조개의 인공종묘생산에 관한 연구

### II. 난발생과 유생의 발달

이채성 · 노 섬\*

국립수산진흥원 강릉수산종묘배양장

\*제주대학교 증식학과

## Studies on the Artificial Seedling Production of Geoduck Clam, *Panope japonica* II. Development of Egg and Larvae

Chae Sung Lee and Sum Rho\*

Kangnung Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency,  
Kangwon-do 210-800, Korea

\*Department of Aquaculture, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

Developmental process and characteristics of eggs of the geoduck clam, *Panope japonica* are reporting in this study. Eggs and sperm were excised from gonad, artificially fertilized in an aquarium, reared under various temperature regimes, and record the larval period and the time need to reach a certain larval stage from fertilization.

Unfertilized eggs of *P. japonica* appeared to be oval with a mean diameter of 70  $\mu\text{m}$  and they became spherical after fertilization. The eggs of *P. japonica* can be classified as demersal. At a constant water temperature of 11 $^{\circ}\text{C}$ , it took 4 hours form fertilization to become four-cell stage, two days to become trochophore larvae, three days to become D-shape larvae, twenty-three days to become umbo stage, and thirty-six days to become fully grown veliger ready for settlement.

A negative correlation was observed between the water temperature and the larval period of *P. japonica*. From fertilization to D-shape larvae, it took five days at 8 $^{\circ}\text{C}$ , while it was only two days to become D-shape larvae at 17 $^{\circ}\text{C}$ .

Time required to D-shape larvae from fertilization was proportional to temperature, and the relationships were expressed as follows :

To 8-cell stage,  $1/t = 0.0209 w - 0.1167$  ( $r = 0.9967$ )

To blastula stage,  $1/t = 0.0055 w - 0.0192$  ( $r = 0.9825$ )

To trochophore stage,  $1/t = 0.0034 w - 0.0155$  ( $r = 0.9907$ )

To D-shape larvae stage,  $1/t = 0.0014 w - 0.0023$  ( $r = 0.9843$ )

(t, time in hours ; w, water temperature)

Biological minimum temperature for egg development was calculated as 3.82 $^{\circ}\text{C}$  in average.

Key words : Egg, Larvae, D-shaped stage, Full-grown stage, Geoduck clam (*Panope japonica*)

## 서 론

우리나라의 양식은 주로 남·서해안에서 성행되고 있으나 인근 대규모의 공업단지로부터 배출되는 산업폐수와 생활폐수의 유입과 함께 양식장의 자가오염 누적으로 인하여 패류양식의 주종을 이루던 굴과 피조개의 자연채묘 작황이 부진하여 생산량이 격감하고 있어 패류양식의 안정적인 생산유지를 위해서는 환경오염원에 대한 근본적인 대책 및 양식품종의 다양화가 절실히 요구된다.

반면, 동해안은 파도가 세고 풍파가 심하여 각종 시설물 유지에 어려움이 많아 양식이 잘 이루어지지 않았으나, 최근 가리비 양식기술이 개발됨으로써 양식이 점차 확대되고 있다. 그러므로 앞으로 지역특성에 알맞는 고부가가치의 종묘생산 기술개발에 역점을 두어야 하며, 특히 동해안에서는 코끼리조개, 큰가리비 등의 경제성이 높은 고급 패류를 연차적으로 연구대상으로 삼아 인공종묘 생산에 의한 새로운 패류양식 대상종의 기술개발이 이루어져야 한다.

이때패류의 난 발생과 유생의 발달에 관한 연구는 참담치(Mokady, 1992; 許, 1994), 대합(崔, 1975), 가무락(崔와 宋, 1973; 崔, 1975, 許, 1994), 피조개(柳 等, 1993 a), 굴(宮崎, 1962; Loosanoff and Davis, 1963; 関, 1994), 북방대합(Allen, 1953; Imai et al., 1953; 이, 1996) 등 많은 연구가 있지만 코끼리조개의 난발생에 관한 연구는 전무한 실정이다.

코끼리조개(*Panope japonica*)는 연체동물문(Mollusca) 부족강(Pelecypoda) 이치목(Heteroconchia) 족사부작쇄조개과(Hiatellidae)에 속하며 각장 12.9 cm, 체중 625 g내외에 달하는 대형 패류이다.

코끼리조개는 서식 수심이 깊고, 잠입 고착하는 생태적 특성으로 이제까지 발견이 어려웠으나, 1986년경부터 잠수부들에 의해 분사식 고압 펌프를 사용하여 채취하므로써 남획의 징후가 나타나고 있어 합리적인 자원관리와 더불어 양식

기술 개발을 위하여 이 종의 생태학적 특성의 규명과 함께 인공종묘생산 기술개발이 시급한 실정이다.

따라서, 본 연구는 코끼리조개의 인공종묘생산 기술개발의 일환으로 성숙된 모패를 절개법에 의하여 인공수정시켜 난 발생과 유생의 발달과정을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험용 어미채집 및 채란

실험에 사용한 코끼리조개는 1994년 4월 하순에 강원도 양양군 현남면 인구역안 수심 20~30 m 해역에서 잠수기선으로 채취한 평균 각장  $10.6 \pm 1.2$  cm, 전중  $286 \pm 36.5$  g이었다.

수정은 생식소를 절개하여 현미경 관찰에 의해 암수를 구별한 후 손으로 눌러 인위적으로 채란·채정하여 습식법으로 인공수정시켰으며, 수정난은 30  $\mu$ m 물리가아제로 수집하여 여과해수로 3~4 회에 걸쳐 세란하였다.

### 유생사육 관리

수온별 초기발생 속도를 알기 위하여 30×40×30 cm의 사각 플라스틱 수조 4개에 온도조절기를 사용하여 수조내의 수온을 8, 11, 14 및 17°C로 유지시킨 후 2ℓ 유리수조에 수정난을 5개체/ml 밀도로 수용하였으며, 수용밀도는 1 ml 피펫으로 3회반복 계수하였다.

먹이는 *Chaetoceros calcitrans*를 D상 시기에는 10<sup>4</sup> 세포/ml, 각정기 유생시기에는 5×10<sup>4</sup> 세포/ml의 밀도로 공급하였다. 사육방법은 지수식으로 매일 오전 8시에 사육수의 1/2씩 환수하였으며, 사육수는 1차 모래여과로 여과한 후 1  $\mu$ m 카트리지로 여과기로 2차 여과하여 사용하였다. 유생의 안정을 위하여 차광막으로 조도(실내 50 lux 이하)를 낮추어 주었으며, 유생과 먹이생물의 균일한 분포와 용존산소의 보충을 위하여 연속적으로 소량의 포기를 해주었다. 실험기간 동안의 수온은 10.2~11.5°C, 염분은 33.31~33.

96% 범위였다.

### 난 및 유생의 관찰

각 단계의 난 및 유생의 크기는 30개체를 무작위로 추출하여 민능투영기(Nikon V-12A)하에서 측정하였고, 난의 발생과 유생의 발달과정은 광학현미경(Olympus BH-2)하에서 100배의 비율로 발생단계별 소요시간과 형태 변화를 관찰하였다.

## 결 과

### 난발생 및 유생의 발달

성숙된 모패를 절개법에 의해 인공수정시켜 수정란을 얻었으며, 수온 11°C 내외일때 코끼리조개의 난발생을 현미경으로 관찰한 결과는 Table 1과 Fig. 1~2에 나타내었다. 알은 분리침성란

Table 1. Development of *Panope japonica* under water temperature of 11°C

Stages	Elapsed time after fertilization	Size (egg diameter)
Fertilized egg	0	70 μm
2 cells	2 hr.	
4 cells	4 hr.	
8 cells	9 hr.	
16 cells	15 hr.	
Blastula	23 hr.	
Trochophore	2 day	
D-shaped larvae	3 day	110×90 μm
Umbo stage	23 day	160×143 μm
Full-grown stage	36 day	205×185 μm

이며, 수정란은 구형으로 난경은 70 μm이다(Fig. 1-A). 수정이 완료된 알은 수정막과 극엽을 형성하며, 수정 후 2시간이 지나면 제1차 난할을 하여 2세포기로 되고(Fig. 1-B), 수정 후 4시간이 되면 4세포기(Fig. 1-C), 9시간이 경과하면 8세포기가 된다(Fig. 1-D). 수정 후 23시간이 경과하면 섬모가 생겨 회전운동을 시작하는 포배기에 이르며(Fig. 1-E), 수정 후 2일이 지나면 나선상의 상하운동을 반복하는 담륜자유생(tro-

chophore larvae)으로 부화한다(Fig. 1-F). 이후 유생은 면반의 발달과 함께 패각이 형성되고, 3일째에는 각장 110 μm의 D상 유생으로 되며(Fig. 2-A), 각장 130 μm 정도되면 각의 연변부가 둥글게 되면서 D상의 직선부분에서 각정형성이 시작된다(Fig. 2-C). 각장 160 μm에서는 각정부가 더욱 커지며(Fig. 2-D), 수정 후 36일째(부화 후 34일)에 각장 205 μm로 성장하여 성숙자패가 되면서 벨리저 후기의 저서생활로 이행하게 된다(Fig. 2-F). 이때까지의 부유생활 기간은 34~36일 정도이다.

Table 2. Relationship between water temperature and required time (hours) to each developmental stage after fertilization

Stages	Water temperature			
	8°C	11°C	14°C	17°C
8 cells	21.2	8.7	5.4	4.3
Blastula	46.0	22.2	18.7	12.3
Trochophore	87.3	42.4	33.8	23.6
D-shaped larvae	122.6	70.4	62.4	42.7

### 난의 발생속도

수온별 초기 발생속도를 파악하기 위하여 수정란부터 D상 유생까지 외부형태를 관찰하여 수온별 각 발생단계에 이르기까지의 소요시간은 Table 2와 같이 각 수온별 발생속도는 현저한 차이를 보이고 있다. 이러한 결과를 그림으로 나타내 보면 Fig. 3에서와 같이 X축은 수온, Y축은 시간의 역수로 표시되고 있으며, 각 발생단계별 소요시간(t, hour)과 수온(w, °C)과의 관계는 다음과 같은 관계식으로 나타냈다.

#### 8세포기

$$: 1/t = 0.0209 w - 0.1167 \quad (r = 0.9967)$$

#### 포배기

$$: 1/t = 0.0055 w - 0.0192 \quad (r = 0.9825)$$

#### 담륜자기

$$: 1/t = 0.0034 w - 0.0155 \quad (r = 0.9907)$$

#### D상 유생기

$$: 1/t = 0.0014 w - 0.0023 \quad (r = 0.9843)$$

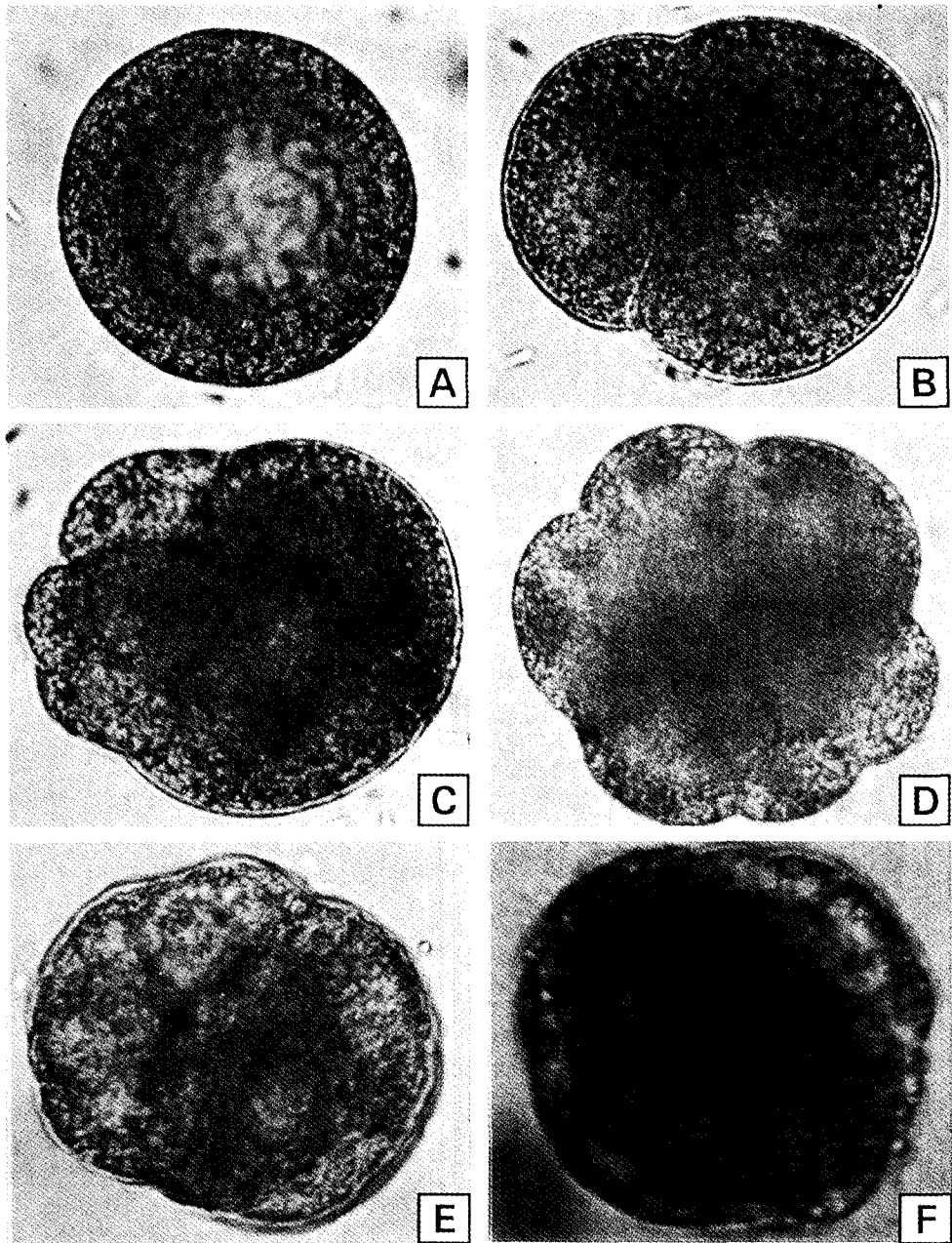


Fig. 1. Early development of the egg of *Panope japonica* ( $\times 100$ ). A : Fertilized egg (egg diameter : 70  $\mu\text{m}$ ) ; B : Two-cell stage ; C : Four-cell stage ; D : Eight-cell stage ; E : Blastula stage ; F : Trochophore larvae.

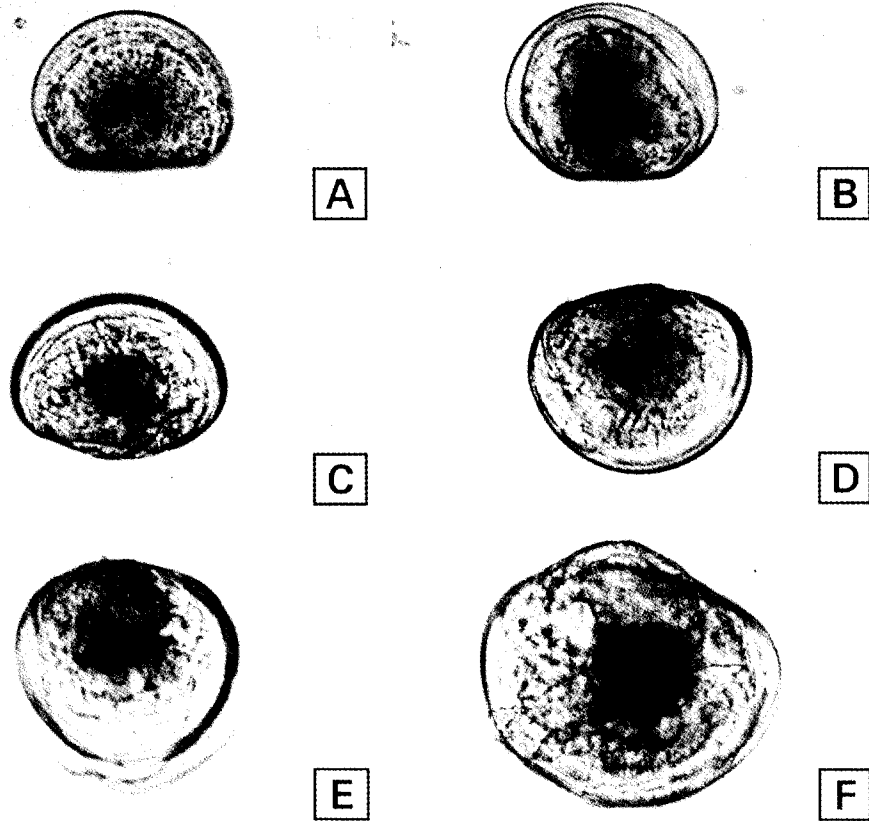


Fig. 2. Development of the larvae of *Panope japonica* ( $\times 100$ ). A : D-shaped larvae (shell length : 110  $\mu\text{m}$ ) ; B : Late D-shaped larvae ; C : Early umbo stage larvae ; D : Umbo stage larvae (shell length : 160  $\mu\text{m}$ ) ; E : Early full-grown stage larvae ; F : Full-grown stage larvae (shell length : 205  $\mu\text{m}$ ).

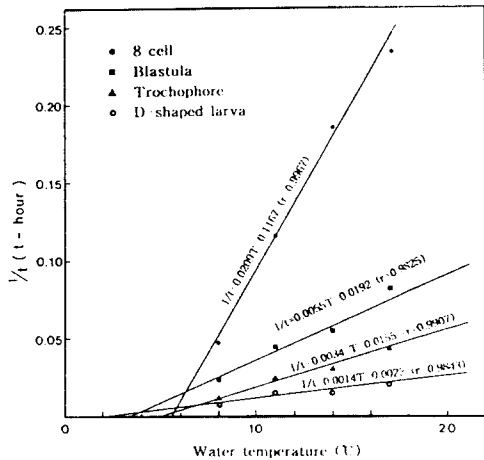


Fig. 3. Relationship between water temperature and the required time for each developmental stage of *Panope japonica*.

이 관계식을 토대로 Y축이 0일 때 X축에 접하는 수온, 즉 코끼리조개의 초기발생에 있어서 난발생이 진전되지 않는 생물학적 기초수온의 평균은  $3.82^{\circ}\text{C}$ 이었다. Fig. 4는 발생단계의 수온별 소요시간과 수온에 대한 회귀직선식과 생물학적 기초수온을 이용하여 도출한 것으로서 좌측의 Y축은 각 발생 수온에서 생물학적 기초수온을 뺀 수온의 시간적인 적산치이고, X축은 시간을 나타냈으며, 우측의 Y축은 각 발생단계의 번호를 표시하였다.

수온이 유생의 발달에 미치는 영향

코끼리조개의 수정난으로부터 성숙유생기까지의 수온에 따른 소요시간은 Table 3에서 보는

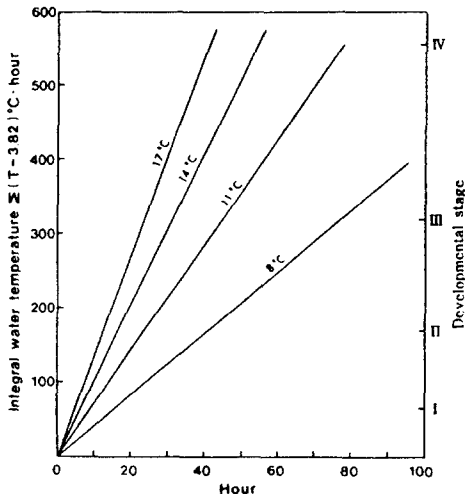


Fig. 4. Relationship between required time for each developmental stage and integral water temperature. I : 8 cell ; II : Blastula ; III : Trochophore ; IV : D-shaped larva.

Table 3. Elapsed days from D-shaped larvae to the full-grown stage in various temperature regimes

Temperature (°C)	Elapsed day				Full-grown stage
	D-shaped larvae		Umbo-stage		
	Early stage	Later stage	Early stage	Later stage	
8	5	14	19	27	45
11	3	9	15	23	36
14	3	6	10	17	30
17	2	4	6	10	-

바와 같다. D상 유생이 출현하는 데는 수온이 높을수록 소요시간이 짧아져, 8°C에서는 수정 후 5일(부화 후 3일)이 소요되는 반면 17°C에서는 2일이 소요되었다. 성숙유생(full-grown stage)으로 변태하는 데는 8°C에서 수정 후 45일(부화 후 43일)이 소요되었고 11~14°C에서는 30~36일이 소요되었으며, 17°C에서는 성숙자패기까지 도달하지 못하고 전량 폐사되었다.

### 고찰

이매패류의 수정은 대부분이 난핵포가 소실된

후에 정상적인 수정과 발생이 진행되는 것으로 알려져 있으나(Loosanoff and Davis, 1963), 난핵포의 유무와 관계없이 수정이 용이한 종도 있다(Dube, 1988 ; Clotteau and Dube, 1993). 코끼리조개는 후자에 속한 종으로서 생식소 절개에 의한 인공수정으로 난 발생과 유생의 변태과정을 밝힐 수가 있게 되었다.

코끼리조개의 난은 분리침성란이고, 수정난은 크기가 70 μm 정도의 구형이며, 대합류(*Meretrix lamarckii*)와 맛조개(*Solen strictus*)의 80~90 μm (田中, 1982)에 비해 적었으나 바지락(元, 1994)과는 비슷한 크기였다. 코끼리조개의 초기 발생은 대부분의 이매패류와 비슷한 과정을 거치면서 수정 후 3일째에 D상으로 변태하였는데 이는 가무락의 경우 20~23시간(小野, 1972), 참담치(柳等, 1993 b) 및 북방대합(이, 1996)의 수온 15°C에서 2일이 걸린 것보다 대체적으로 늦은 편이다. 이때의 크기는 110 μm로서 대합류(*Meretrix lamarckii*)의 121 μm (田中, 1982) 보다는 적었지만 왕우럭조개(龜山, 1966)와 참굴(閔, 1994)보다는 큰 것으로 판단된다. D상 유생의 각은 좌우상칭이며, 이 시기부터 먹이 섭취가 가능하여 먹이섭취에 의해 소화관이 흑갈색을 띠면서 활발히 움직이는 것을 볼 수 있다.

D상 유생기에서 각정부가 돌출하게 되면 각정기(umbo stage) 유생으로 되고, 그 후 종의 고유생활로 이행할 수 있는 체제를 지닌 성숙기(full-grown stage) 유생으로 변한다.

龜山(1966)에 의하면 왕우럭조개의 부유유생 변태기간은 수정 후 15일째 D상에서 각정이 조금 팽출하여 각정기로 되고, 37일째에는 성숙기유생으로 된다고 보고된 바 있으며, 본 연구에서도 성숙 유생기까지 36일이 소요되어 비슷하였다. 성숙 유생기까지의 크기는 본 연구에서 205 μm로 대합의 208 μm (崔, 1975)와 비슷하였으나 왕우럭조개의 234 μm (龜山, 1966), 피조개의 260 μm (田中, 1982)보다는 작았다.

코끼리조개를 수온구별로 나누어 사육한 결과 초기발생의 생물학적 기초수온은 3.82°C였다. 한편

난발생속도에 대한 관계식과 생물학적 기초수온을 이용하여 8세포기, 포배기, 담륜자기, D상 유생기에 대한 각각의 적산수온을 파악함으로써 현상에서의 종묘생산시 예정 발생시각을 산출할 수 있어 종묘생산의 기초자료로 이용할 수 있다고 생각된다.

코끼리조개의 수정난으로부터 성숙유생기에 도달하는 데는 8°C에서 45일, 11~14°C에서는 30~36일이 소요되었고, 17°C에서는 성숙기가 되기 전에 폐사됨으로써 유생의 부유기간은 수온의 영향을 크게 받는 것(Kennedy et al., 1974; Beaumont and Budd, 1982; Kinoshita, 1989)으로 나타나 유생사육에 있어 세심한 주의가 요망된다.

## 요 약

코끼리조개의 인공종묘생산 기술개발의 일환으로 성숙된 모패를 절개법에 의하여 인공수정시킨 난 발생 및 유생의 발달과정을 관찰한 결과를 요약하면 다음과 같다.

코끼리조개의 난은 분리침성란으로 나타났으며, 방란직후 알의 모양은 타원형이나 수정이 되면 직경 70 μm의 구형으로 된다. 수정난의 발생은 11°C에서 4시간 후 4세포기로 되고, 2일이 지나면 담륜자 유생(trochophore larvae), 수정 후 3일째에는 D상 유생, 23일째에는 각정기, 36일째에는 성숙유생으로 되었다.

수온(w)에 따른 각 단계별 소요시간(t)의 관계를 보면,

8세포

$$: 1/t = 0.0209 w - 0.1167 \quad (r = 0.9967)$$

포배기

$$: 1/t = 0.0055 w - 0.0192 \quad (r = 0.9825)$$

담륜자기

$$: 1/t = 0.0034 w - 0.0155 \quad (r = 0.9907)$$

D상 유생기

$$: 1/t = 0.0014 w - 0.0023 \quad (r = 0.9843)$$

상기 식에서 산출된 코끼리조개의 생물학적

기초수온은 3.82°C였다.

## 참 고 문 헌

- Allen, R. D., 1953. Fertilization and artificial activation in the egg of the surf clam *Spisula solidissima*. Biol. Bull. 105 : 213-239.
- Beaumont, A. R. and M. D. Budd, 1982. Delayed growth of mussel (*Mytilus edulis*) and scallop (*Pecten maximus*) veligers at low temperature. Mar. Biol. 71 : 97-100.
- Clotteau, G. and F. Dube, 1993. Optimization of fertilization parameters for rearing surf clams (*Spisula solidissima*). Aquaculture 114 : 339-353.
- Dube, F., 1988. The relationships between early ionic events, the pattern of protein synthesis, and oocyte activation in the surf clam, *Spisula solidissima*. Develop. Biol. 126 : 233-241.
- Imai, T., M. Hatanaka, R. Sato, S. Sakai and R. Yuki, 1953. Tank breeding of the Japanese surf clam, *Macra sachalinensis*, Rep. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ. 87 : 121-131.
- Kennedy, V. S., W. H. Roosenburg, M. Castagna and J. A. Mihursky, 1974. Temperature time relationships for survival of embryos and larvae of *Mulinia lateralis* (Mollusca : Bivalvia). Mar. Biol. 24 : 137-145.
- Kinoshita, C., 1989. Thermal tolerance of eggs and larvae of Japanese surf clam, *Pseudocardium sachalinensis* (Schrenck). Suisanzoshoku 37(1) : 9-14.
- Loosanoff, V. L. and H. C. Davis, 1963. Rearing of bivalve mollusks. In Advances in Marine Biology. Vol. 1. Academic Press. New York : 1-136.
- Mokady, O., 1992. Settlement and metamorphosis specificity of *Lithophaga simplex* Iredale (Bivalvia : Mytilidae) on Red Sea corals. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 162 : 243-251.
- 宮崎一老, 1962. 二枚貝類の浮遊幼貝(Veliger)の識別について. 日本誌 28(10) : 955-966.
- 関光植, 1994. 참굴, *Cressostrea gigas*의 人工種묘生産을 위한 幼生飼育條件에 관한 研究. 釜山水産大學校 大學院 碩士學位 論文 : 1-53p.
- 小野 剛, 1972. ハマグリ的人工種묘生産に就て. 養殖 1 : 114-118.

- 元文星, 1994. 바지락의 種苗生産과 養殖場環境이 生産性에 미치는 影響. 釜山水産大學校大學院 博士學位 論文, 220pp.
- 柳浩英 · 朴斗元 · 全昌永 · 鄭春九 · 金大熙 · 金敬姬 · 林永燮 · 金敏哲 · 金洙鎬, 1993a. 피조개 人工種苗生産에 關한 研究. 慶尙南道 : 1-221.
- 柳浩英 · 朴斗元 · 鄭春九 · 金敬熙 · 全昌永 · 金大姬 · 明正仁, 1993 b. 참담치 人工種苗生産技術에 關한 研究. 慶尙南道 : 1-156.
- 이정용, 1996. 북방대합, *Spisula sachalinensis*의 생식주기와 산란유발. 釜山水産大學校大學院 碩士學位 論文, 47pp.
- 田中彌太郎, 1982. 二枚貝類의 幼生同定. 海洋と生物 19. 4(2) : 137-139.
- 崔信錫, 1975. 대합(*Meretrix lusoria*)과 가무락(*Cyclina sinensis*)의 初期發生 및 成長에 關한 比較研究. 韓國水産學會誌 8(3) : 185-195.
- 崔信錫 · 宋容圭, 1973. 가무락 *Cyclina sinensis*의 人工受精 및 發生에 關한 研究. 韓國水産學會誌 6(1, 2) : 76-81.
- 龜山展志, 1966. ミルクイ幼生の水槽飼育について. 水産増殖 14(3) : 151-156.
- 許永伯, 1994. 二枚貝類 8種 幼生の 發生 및 成長에 關한 比較研究. 釜山水産大學校 大學院 碩士學位 論文, 56pp.