

학술정보 ①

한국산 개불의 산업화를 위한 연구

(Ⅱ) 유생의 변태 및 착저유인물질 탐색

여수대학교 수산생명과학부 최상덕·라성주

일 반적으로 양식에 있어서 일시채묘, 선별 그리고 산란시기의 일관성은 양식을 계획화 할 수 있는 장점을 가지고 있다. 사육조건에 따라서 개체간의 먹이경쟁, 건강도 등의 차이에 의해 후차적으로 성장의 차이가 주어질 수도 있으나 채묘 및 종묘의 선택시 일정크기, 같은 어미, 같은 조건 내에서 사육한 개체를 이용하는 것이 바람직하다고 할 수 있다. 굴 채묘의 경우에도 일시에 채묘를 하는데 이것은 해적생물의 부착을 방지함에도 그 이유가 있으나, 개체간의 같은 성장률을 얻기 위한 목적도 그중 하나이다. 양식이라는 산업의 목표는 일정기간내에 상품으로서 가치가 있는 size를

생산하여 이윤을 추구하는 것인데, 이에 있어서 생산 및 판매의 확실성이 중요하므로 선별을 통하여 그룹으로 사육한다. 무척추동물의 경우에도 인공 채묘의 경우 같은 수조내의 어미를 통해 수정 후 그 유생을 같은 시기에 부착 또는 착저시켜 이용하게 되는데 이처럼 일시 부착 또는 착저는 양식의 계획화에 있어서 없어서는 안될 부분중 하나이다. 특히, 개불, *Urechis uncinatus*의 난은 30일 이상의 부유생활을 가지는 종으로서 수정 후 부유유생기를 가지며 다시 착저하게 되는데 개체간의 차이가 현저하게 나타났다(Fig. 1, 2).

개불, *U. uncinatus*은 해삼, *Stichopus japonicus*

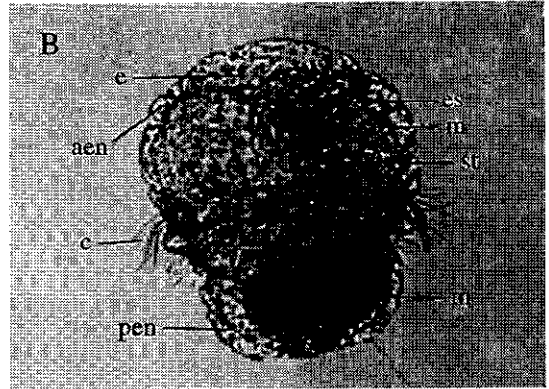
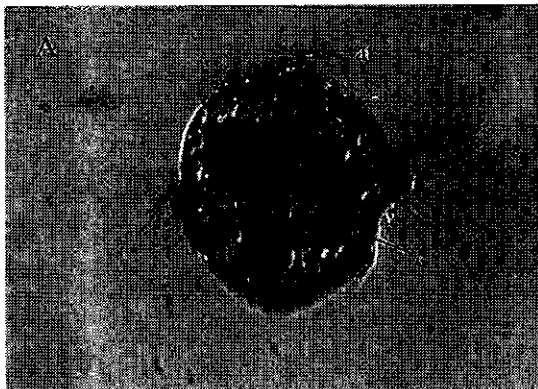


Fig. 1. Development of *Urechis uncinatus* (von Drasche).

A: Early trochophore(150×140μm), 16 hours after fertilization, B: Late trochophore(350×340 μm), 30 days of age. aen; anterior egg envelope; at, apical tuft; c, cilia; e, eye; es, esophagus; in, intestine; m, metatroch; pen, posterior egg envelope; st, stomach.

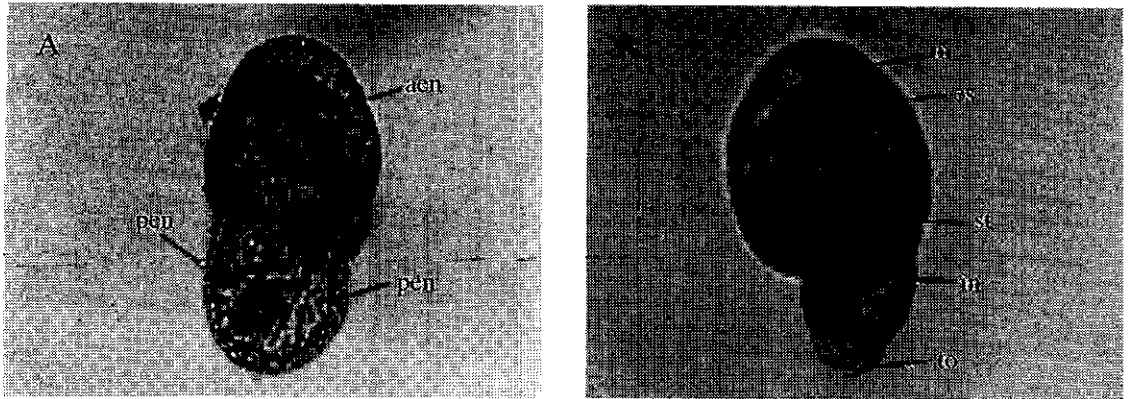


Fig. 2. Development of *Urechis unicinctus* (von Drasche).

A; Premetamorphosis stage(370×325μm), 35 days of age, B; Young pelagosphe(650×390μm), 56 days of age. aen; anterior egg envelope; es, esophagus; in, intestine; m, metatroch; pen, posterior egg envelope; st, stomach; to, terminal organ.

과 우렁쟁이, *Halocynthia roretzi* 등의 유용 무척추동물과 함께 잠수기 어업으로 어획되어 유통되는데 실제 어로활동을 하는 어민들도 개불을 발견하게 되면 그 주위를 개불밭이라고 할 정도로 밀도 높게 서식하고 있다. 개불이 잠입성이며, U자형 판을 파는 습성 외에도 군집을 이루며 서식하는 특성을 가지는 것(Fig. 3)으로 미루어 볼 때 개불이 서식하는 장소가 한정되어 있다는 것을 짐작할 수가 있다(Suer and Phillips, 1983; Arp et al., 1992; Choi et al., 1998; Choi et al., 2000). 부유유생기의

유생에 있어서 어미의 서식장소는 유생에게 있어서도 매우 호적한 조건으로 이루어져 있을 가능성이 높다.

예전의 연구에 의하면 단순히, 해양에 서식하는 생물의 부유유생이 일정한 시간이 경과하면 수중에서 변태하여 유능능력을 상실하고 침강하여 착저하는 것이라고 생각되어졌었다. 이러한 가설은 변태한 유치자의 분산이 비선택적으로 일어나고, 착저한 곳이 다행히 저서기의 생활에 호적한 환경이면 살아남는 것이 많을 것이고, 불행히도 부적당하면 사멸함으로써 각 종은 고유의 생태적 분포가 유지되는 것으로 생각되어졌다.

그러나, 실제로 정착하는 과정은 매우 복잡하여, 부유유생은 먼저 변태한 후에 침강하는 것이 아니라, 변태가 가능한 시점에서 접지와 부유를 반복하는 시기를 가지고 적절한 자극을 받아야 비로서 변태되어지는 것이다(윤, 1996). 이러한 환경조건으로서 개불의 서식장소를 결정하는 중요 요인으로 물리화학적 환경요인을 들 수 있으며 이는 종의 특성과도 관계가 있고, 염분, pH 및 수온 등 생물의 서식에 적합한 환경에서 생물이 서식하고 종족을

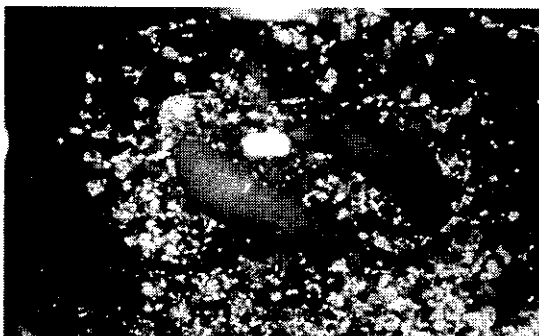


Fig. 3. Adults of *Urechis unicinctus* on sand floor of laboratory.

번식하는 것은 매우 일반적인 지식이다(Choi et al., 1999, 2000). 그러나 물리화학적 조건만 맞는다 하여 생물들이 정착하고 서식하는 것은 아닐 것이다. 특히, 이런 일반적인 요인 외에도 저질 입자의 표면을 싸고 있는 미생물에 의한 요인에 의하여 생물은 중요한 착저신호를 포착하는 것으로 자주 관계되어져 왔다(Gray, 1974). 또한, 저질형태와 생물의 착저 사이의 상호관계 역시 유생의 착저반응에 영향을 미치는 것으로 연구되어졌는데 이것은 저질에 따른 단순반사의 한 경향일 수도 있다(Suer and Phillips, 1983; Choi et al. 2000).

한편, Scheltema(1974)는 저서무척추동물에 있어서 착저 또는 부착하는 동안 같은 종의 성체에 접근한 유생에서의 군집성 착저가 일어난다는 것을 밝힌 바 있다. 특히, 해양생물 또는 부착성 생물의 유생기에서는 착저 또는 부착에 있어서 화학적 요인으로 인하여 착저 또는 부착에 소요되는 시간이 지연되거나 단축, 또는 집중되거나 분산되기도 한다(梶原武, 1984). 예를 들어 굴의 경우 부착에 염분농도의 영향을 가장 크게 받으나, 이외에도 Cu^{2+} 의 농도에 따라 부착율의 차이가 나타난다(천해양식, 1995). 이것은 Cu^{2+} 가 일정농도 해수 중에 용해되어 있음으로 굴 유생의 부착에 관여된다는 것을 나타낸다. 해양무척추동물에 있어 착저 또는 부착을 유도하는 물질은 그 서식지가 니질, 사니질, 사질, 암반에 서식하는가에 따라 다르게 나타날 것이다.

해양에는 물리화학적 수많은 요인들이 존재하며 이는 생물의 서식지를 제한 또는 확산시킬 것으로 생각되어져 왔지만 이에 대해 밝혀진 바는 몇몇 종에 지나지 않는다. 해양에서 많은 요인이 존재함에도 불구하고 이러한 특이성을 보이는 것은 살아가는데 적합한 환경을 찾는 것 또는 이를 유도하는 무언가가 있음으로 인하여 발생하는 기작으로 여겨진다. Suer(1982)는 *Urechis caupo*의 유생을 이

용하여 환경의 영향 또는 특정 요소에 의한 유생의 변태촉진 및 착저기작의 유인을 확인하였다. 이는 부유기의 유생에 있어서 특정 요인에 의해 착저 및 변태가 이루어질 수 있다는 가능성을 내포하고 있다.

특히, 개불과 같이 부유기간이 1개월에서 길게는 2개월까지 지속되는 경우 많은 시간의 소요로 인해 그 가치가 떨어질 수도 있다. 또한, 착저시기가 불규칙적으로 일어나는 경우 종묘의 수급을 조절할 수 없기 때문에 완전 양식의 문제점이 될 수도 있다. 따라서, 개불의 난발생에 관하여는 이미 밝힌 바가 있으나, 산업화를 위하여는 부유유생기간의 단축, 착저 후 변태한 유생의 대량확보가 절실히 요구되어 진다.

개불은 부유유생기를 갖는 저서동물로서(Choi et al., 1998) 개불유생의 착저를 유도하고, 착저의 시기를 단축할 수 있다면 개불의 산업화 및 조간대 지역의 자원조성에 이바지할 수 있으므로 본 연구는 개불, *Urechis unicinctus*의 산업화를 위한 연구의 일환으로 개불유생의 착저를 유도하는 유인물질(가칭 UM)을 규명하며, 우리나라에 서식하는 해양무척추동물 중의 하나인 개불의 생태에 대한 기초지식을 확립하고자 한다.

1. 개불유생의 수정과 사육

한국산 개불(*U. unicinctus*)의 생식주기(Choi et al., 2000)를 통하여 산란시기에 성숙한 어미로부터 난과 정자를 채취한 후 Choi et al.(1998)의 방법에 의하여 수정하여 실험실내에서 35일 동안 사육한 것으로, 변태전의 유생을 가지고 실험에 사용하였다. 유인물질의 효과를 판단하기 위하여 모든 조건을 동일하게 유지하였고 유생은 비이커 상에서 사육하였으며, 용존산소량은 6~7 mg/l 로 유지하였고, 환수는 처음 2주 동안은 사육수의 약 3/4정도를 각 주에 3회씩 행하였으며, 2주 후부터 4일마다 80

1 μ m Muller gauze로 싸여진 관을 통해 저층에서 싸이폰하였고, 유생은 멸균한 배양용기에 옮겨 여과해수를 보충해 주었다. 또한, 실험에 사용한 해수는 5 μ m 여과지를 통해 여과한 후 고압멸균기로 멸균한 해수를 사용하였으며, 유생의 밀도는 500 inds/ ℓ 이하로 수용했다. 개불 유생의 먹이로는 처음 1주 동안은 *Chlorella* sp.만을 급여 하였고, 2주부터는 *Chlorella* sp.와 *Amphora* sp.를 혼합하여 주었다.

2. 유인물질(UM)의 채취 및 효과

모든 생물은 어미와 그 동족에게 자연스럽게 다가가는 특징을 가지고 있다. 육상생물들 중 곤충들에게서 흔히 연구되고 있는 pheromone 이라는 물질은 유인물질로서 신경계를 자극하여 동족간 또는 이성간 개체를 유인한다. 따라서 개불의 유생 또한 성체에서 발산되는 유인물질에 끌리지 않을까 하는 의문을 가지게 한다. 따라서 우리는 개불 유생에 대한 변태 촉진 및 착저유도를 위한 유인물질을 개불성체의 표피에서 추출하였으며, 추출된 유인물질(UM)은 멸균여과해수 100 ml에 착저유인물질 1 ml을 희석시켜 UM solution을 제조하여 유인물질의 효과에 관한 검증을 하였다. 실험은 50 ml 시험관에서 실시하였고, UM의 개불유생에 대한 효과와 착저유도 가능성 여부에 대하여 3가지 실험을 하였다.

2. 1. *Urechis unicinctus*의 유생에 대한 착저유인물질(UM)의 영향

유인물질에 대하여 개불유생이 어떠한 반응을 보이는지에 대하여 UM에 대한 개불유생의 반응을 3가지 실험조건하에서 실험하였다. 개불유생에 대한 UM의 효과를 판단하기 위하여 상기 방법에 의해 멸균여과해수에 UM을 용해시킨 UM solution과 시험관의 바닥에 UM 원액을 코팅하여 멸균여

과해수를 채운 시험관, 그리고 멸균여과해수만 이용한 시험관에 각 30ml씩 분주하고, 개불유생을 20 개체씩 분주하여 시간경과에 따른 개불유생의 착저의 유무를 관찰하였다.

실험조건에 대한 반응은 Fig. 4에 나타난 바와 같다. 개불의 유생은 UM solution을 담은 실험구와 UM을 시험관의 바닥에 코팅한 후 멸균여과해수를 채운 실험구 및 멸균여과해수만을 채운 실험구에 개불유생을 노출시킨 결과, 반응개체간의 발생 정도와 비만도의 차이는 약간 있었고, 약 30일이 지난 개체의 경우 반응시간의 차이는 있었지만 UM solution과 UM을 시험관의 바닥에 coating 한 후 멸균여과해수를 채운 실험구에서는 개불유생이 모두 착저반응을 보였다. 그러나 멸균여과해수만을 채운 시험관에서는 개불유생의 착저가 일어나지 않았다. 이런 결과로 미루어 보면, UM의 효과는 나타났으며, 시간의 차이가 있는 점은 UM이 해수중에 섞여 있는 상태와 coating되어 용출되는데 있어서 약간의 시간차가 있는 점으로 사료된다. 또한, 멸균여과해수 실험구에 실험시작으로부터 50분이 경과될 때까지 개불유생은 반응을 보이지 않았으나, UM을 첨가한지 5분 안에 빠르게 착저하는 반응을 보였다.

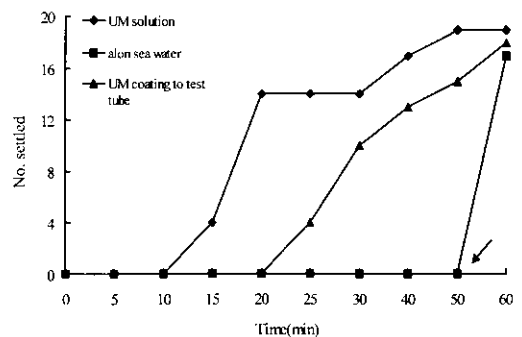


Fig. 4. Larval settlement responses to UM in sea water, to sea water alone and to UM coating to test tube. → : added to UM.

2. 2. 개불유생의 착저반응의 선택성 실험

UM에 대한 개불유생의 반응 외에 같은 지역에 서식하는 무척추동물 중 고막, *Tegillarca granosa*의 체액 1ml을 멸균여과해수 100ml에 용해한 것과 개불성체의 혈액 1ml를 멸균여과해수 100ml에 용해시킨 해수 및 UM solution을 각 시험관에 30ml씩 분주하고, 개불유생 20개체씩 분주하여 시간 경과에 따른 개불유생의 착저반응을 관찰하였다.

UM에 대한 개불유생의 반응 외에 같은 지역에 서식하는 무척추동물 중 고막, *Tegillarca granosa*의 체액을 멸균여과해수에 용해한 것과 개불성체의 혈액을 용해시킨 해수 및 UM solution을 각 시험관에 30ml씩 분주하고 이에 대한 개불유생의 반응을 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. 고막의 체액을 이용한 실험구에서는 시간이 경과하여도 개불유생의 반응이 나타나지 않았으며, 개불성체의 혈액을 용해시킨 실험구 또한 반응을 보이지 않았다. UM에 노출된 개불의 유생에서는 실험 1과 같은 결과가 나타났으며 빠르게 반응하는 양상이 나타났다. 또한 50분이 경과한 후 고막의 체액을 용해한 실험구와 개불의 혈액을 용해한 실험구에 각각 UM을 첨가한 결과 10분내에 유생의 80~90%가 착저반응이 나타났고, 실험 시작 1시간 경과 후 대부분의 개불 유생이 착저하는 것이 관찰되었다.

2. 3. UM의 온도변화에 대한 효율성 실험

UM solution을 증탕하여 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90℃로 가열한 후 17℃로 냉각하여 각각 시험관에 30ml씩 분주하고, 개불의 유생을 20개체씩 분주하여 개불유생의 착저유무를 관찰함으로써, 온도 변화에 대한 UM의 효과를 실험하였다.

UM의 온도변화에 대한 효율성 실험의 결과는 Fig. 6에서 보는 바와 같다. UM의 경우 20~60℃의 실험구간에서는 약간의 시간차이가 있을 뿐 개불

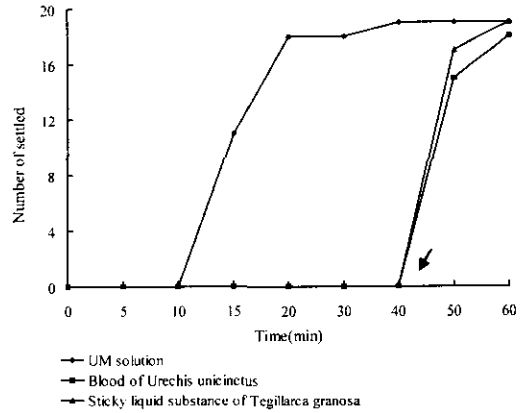


Fig. 5. Larval settlement responses to UM in sea water, to blood of *Urechis uncinatus* and to sticky liquid substance of *Tegillarca granosa*. → : added to UM.

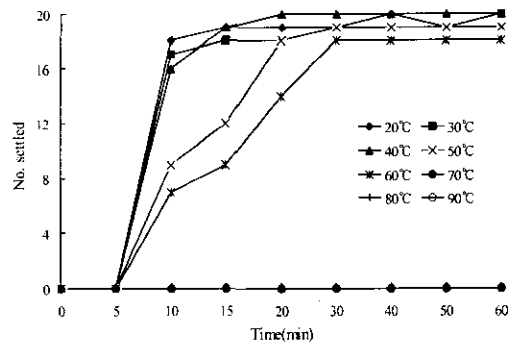


Fig. 6. The heat lability of *Urechis uncinatus* "UM": larvae were examined for settlement at heating different temperature; there were 20 larvae in treatment.

유생의 착저반응은 일어났으나 70, 80, 90℃로 가열한 실험구간에서는 개불유생의 착저반응이 일어나지 않았다. 그리고 개불유생의 착저반응은 50~60℃로 증탕한 후 실험에 사용한 UM의 실험구보다는 20~30℃로 증탕한 후 실험에 사용한 UM 실험구에서 빠르게 나타났다. 결과적으로 UM의 경우 50~60℃ 이상으로 수온이 상승하지 않는 한 그

효과를 잃지 않는다고 볼 수 있으며 실제 해양조건에서는 일어나지 않는 상황이나 UM에 대한 기본적인 특성을 밝힌 것이라 할 수 있겠다.

3. 금후의 연구방향

앞에서 기술한 바와 같이 개불의 유생은 유인물질(UM)을 입힌 표면이나, 용해시킨 해수(UM solution)에 접촉한 후 신속하고 정확하게 착저하였다. 이런 자극들이 결여된 상태에서는 착저가 지연되거나 반응이 나타나지 않는 결과를 얻을 수 있었다. 과거의 연구에 의하면 전복유생은 *y*-amino butyric 산에 의하여 착저 유도되며, *Opisthobranch mollusc* 유생의 정착을 향상시키기 위해 succinyl choline chloride를 이용한다(Suer and Phillips, 1983). 따라서 UM의 존재는 개불유생의 착저를 촉진시키는데 중요한 것으로 사료되며, UM에 대한 개불유생의 반응은 본 실험에서 시험관의 유리바닥에 신속하게 착저함으로써 끝이 났다. 즉 본 연구에서 얻어진 결과들은 야기된 자극이 없이는 착저가 UM을 첨가한 것보다 일정기간동안 지연될 수도 있으며 유생의 착저 시기가 해양환경과는 달리 인위적으로 조정되어진다면 착저의 시기를 조정할 수도 있다는 것을 뒷받침하는 결과라 할 수 있을 것이다. 또한 Newby(1940)가 개불류인 *U. caupo*의 실험에서 착저속도는 점진적 변이가 영구불변하게 일어난다고 기술한 과거의 논문과 반대된다. 이러한 차이점은 과거의 연구에서 유생의 신속한 착저 및 변태를 유도하기 위해 어떠한 조건에도 노출시키지 않았기 때문이라 생각되며, 자연상태의 조건에 있는 개불 유생은 착저에 있어서 연동운동의 시작과 섬모환의 소실 등 착저하기 위해 야기되는 기본적인 변화를 자극하는 요소에 더욱 노출되어 있을 것으로 사료된다. 여기에서 밝힌 UM은 이러한 물질 중 하나이며, 이러한 물질은 개불

유생에 있어서 자원조성을 위한 해역 근처에 착저할 기회를 증가시킬 것으로 사료된다.

부유생활로부터 착저 후 은신하는 형태까지의 신속한 변이에 대한 형태적 적응들은 많은 해양무척추동물들에서 기술되었다(Cloney, 1978). 유생은 착저 후 외부섬모띠의 상실과 이동의 기초적 방법으로서 연동운동을 활발히 시작하게 되는데 이것은 개불성체에서도 관찰되는 기초적인 이동 방법이다. 개불유생의 빠른 착저 및 UM에 대하여 동시에 반응을 보인 것은 개불이 군집을 이루며 서식하는 것과 상통되는 부분이며 UM에 의하여 개불의 서식지가 한정될 수도 있다는 가능성을 보여주고 있다. 또한, 실험 2에서 나타난 결과에 의하면 개불의 유생이 UM 외의 다른 종의 물질에 대하여는 반응하지 않는 결과를 보였다. 실험 2의 결과로 미루어 개불의 유생이 특정 물질에만 반응한다는 것을 나타냈으며 위의 가능성을 뒷받침하는 결과라 사료되며 개불이 군집을 이루는데 다른 생물이 내는 물질에 대하여 반응하지 않고 군집을 이루고 있다는 가능성을 나타낸다. 그러나 실험조건 중 해수의 경우 멸균여과해수를 이용하여 미생물 또는 plankton 등 생물에게 다른 영향을 줄 수 있는 요인을 제거하여 실험하였으므로 해양 내에 유생의 착저를 유발시키는 다른 요인이 존재할 수도 있다는 가능성은 가지고 있다.

온도 변화에 대한 UM의 효율성 실험에서 나타난 결과는 70°C 이상까지 가열을 하지 않는다면 UM 자체의 효율성을 유지하는 결과를 보였다. 일반적으로 개불이 서식하는 조건대 지역에서의 수온이 40°C 이상으로 높아지지 않으므로 자연상태에서는 일어나지 않으나 UM의 화학적 특성을 부분적으로 밝힌 것이다. 그러나 가열로 인하여 UM의 성질을 바꾸거나 용해된 UM이 환원되는 것인지에 대하여도 아직 미진한 부분이 있다.

한편, 지금까지는 개불의 변태 전 유생에 대한

UM의 효과에 대하여만 다루었으나 이후 이에 대한 정확한 물질분석, UM이 유생에 미치는 영향, 착저유인이 아닌 지연할 수 있는 조건 등에 대하여도 앞으로 연구가 필요하다. 더욱이 개불 뿐 아니라 다른 해양 종의 정착을 야기 시키는 화학성분에 대한 학문은 기초단계이고 *Urechis unicinctus*의 착저에 개입될 것 같은 성분에 대한 정확한 지식을 확립되지 않았으므로 이에 대한 연구가 요구된다.

참 고 문 헌

- Arp, A. J., B. M. Hansen and D. Julian, 1992. Burrow environment and coelomic fluid characteristics of the echiuran worm *Urechis caupo* from populations at three sites in northern California. *Marine Biology*, 113 : 613~623.
- Choi, S. D., H. J. Kim, S. J. Rha, K. J. Choe and H. L. Suh, 1998. Studies on the commercial scale production of *Urechis unicinctus*(von Drasche) in southern Korea. I. The effect of temperature on embryos development. *Bull. Yosu. Nat'l. Univ.* 13 : 983~992.
- Choi, S. D., H. J. Kim, S. J. Rha, S. Y. Hong, W. K. Lee, and W. B. Lee, 1999. The effect of pH and salinity on development of *Urechis unicinctus* (von Drasche) in southern Korea. *J. Aquacult.*, 12(2) : 155~161.
- Choi, S. D., H. J. Kim, H. Y. Soh and W. B. Lee, 2000. Study on the ecological habitat of *Urechis unicinctus* in southern coast of Korea. *J. Envi. Res. Inst., Yosu Nat'l Univ.*, 3 : in press.
- Choi, S. D., H. J. Kim, S. J. Rha, H. L. Suh and S. Y. Hong, 2000. A study on attraction for rapid settlement of the larvae of the marine echiuran *Urechis unicinctus*. *J. Aquaculture*, 13(2) : in press.
- Choi, S. D., H. J. Kim, W. K. Lee, E. J. Kwak, H. S. Yoon, S. J. Rha and I. K. Lee, 2000. A study on reproductive cycle of *Urechis unicinctus*(von Drasche) in southern Korea. *J. Aquaculture*, 13(2) : in press.
- Choi, S. D., H. J. Kim, S. J. Rha, Y. S. Ju, K. S. Jeong, W. K. Lee and T. S. Shin, 2000. Protein and amino acid compositions on reproductive cycle in *Urechis unicinctus*. *Bull. Fish. Sci. Inst., Yosu Nat'l. Univ.*, 9 : in press.
- Clare, A. S., Thomas, R. F. and Rittschof, D, 1995. Evidence for the involvement of cyclic AMP in the pheromonal modulation of barnacle settlement. *The J. Exp. Biol.*, 198 : 655~664.
- Cloney, R. A., 1978. Ascidian metamorphosis : review and analysis. In, settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. edited by F-S. Chia & M. E. Rice, Elsevier, New York, 255~282.
- Gray, J. S., 1974. Animal-sediment relationships. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 12 : 228~261.
- Hunter, E., Okano, K., Tomono, Y. and Fusetani, N., 1998. Functional partitioning of energy reserves by larvae of the marine bryozoan *Bugula neritina*(L.). *J. Exp. Biol.*, 201 : 2857~2865.
- Newby, W.W., 1940. The embryology of the echiuroid worm, *Urechis caupo*. *Mem. Am Philos. Soc.*, 16 : 1~219.
- Scheltema, R. S., 1974. Biological interactions determining larval settlement of marine Invertebrates. *Thalassia Jugosl.*, 10 : 263~296.
- Suer, A.L., 1982. Larval settlement growth and reproduction of the marine echiuran *Urechis caupo*. Ph.D. dissertation, Univ. California, Davis, California, 198 pp.
- Suer, A.L. and D.W. Phillips, 1983. Rapid, gregarious settlement of the larvae of the marine echiuran *Urechis caupo* Fisher & MacGinitie 1928. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 67 : 243~259.
- Yoshida, S., Marikawa, Y. and Satoh, N., 1996. Posterior end mark, a novel maternal gene encoding a localized factor in the ascidian embryo. *Dev.*, 122 : 2005~2012.
- 梶原武, 1984. 海洋生物の付着機構. 財団法人水産無脊椎動物研究所. 214 pp.