

## 개불, *Urechis unicinctus* 유생의 빠른 착저를 위한 유인물질

최상덕 · 김호진\* · 라성주 · 서해림\*\* · 홍성운\*\*\*

여수대학교 양식학과, \*전라남도 수산시험연구소  
\*\*전남대학교 해양학과, \*\*\*부경대학교 해양생물학과

### Stimulation for Rapid Settlement of the Larvae of the Marine Echiuran *Urechis unicinctus*

Sang Duk Choi, Ho Jin Kim\*, Sung Ju Rha, Hae Lip Suh\*\* and Sung Yun Hong\*\*\*

Department of Aquaculture, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

\*Aquaculture Division, Chunnam Fisheries Research Institute, Shinan 535-800, Korea

\*\*Department of Oceanography, Chonnam National University, Kwangju 5500-757, Korea

\*\*\*Department Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Trochopore larvae of *U. unicinctus* were exposed to selected settlement stimuli. Within 5 - 10 min after addition of the UM, the settlement stimuli derived from the skin of adult echiuran, induced metamorphosis of trochopores to pelagosphera. However, the trochopores did not positively respond for settlement, when stimulated with normal sea water, sticky fluid drawn from *Tegillarca granosa* or blood of *U. unicinctus*. The thermo-sensitive UM was relatively stable at ambient temperature, but was destroyed at 70°C.

Key words: Pheromonal material, Metamorphosis, Settlement, Larvae, *Urechis unicinctus*

### 서론

삼면이 바다로 이루어진 우리나라는 세계 어느 국가보다도 해양 무척추동물에 이용된 식품이 다양한 나라이다. 개불, *Urechis unicinctus*은 그 중 하나로, 특히, 남해안 지방에서는 이를 건제품, 또는 생식을 하고 있다. 개불은 온화하면서 담백한 맛으로 많은 사람들이 즐기고 있으며, 해삼, *Stichopus japonicus*과 우렁쟁이, *Halocynthia roretzi* 등의 유용 무척추동물과 함께 잠수기 어업으로 어획되어 유통되고 있는 경제성이 높은 종이며, 군집을 이루며 서식하고, U자형 관을 파는 습성을 가지고 있다. 이러한 특성으로 미루어 볼 때 개불이 서식하는 장소가 한정되어 있다는 것을 나타낸다(Suer and Phillips, 1983; Arp et al., 1992; Choi et al., 1998).

개불의 서식장소를 결정하는 중요 요인으로 pH, 염분, 수온 등 환경적인 부분을 들 수 있으며 이는 종의 특성과도 관계가 있고, 염분, pH, 수온 등 생물의 서식에 적합한 환경에서 생물이 서식하고 종족을 번식하는 것은 매우 일반적인 지식이다(Choi et al., 1999). 그러나 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). 한편, Scheltema (1974)는 저서무척추동물에 있어서 착저 또는 부착하는 동안 같은 종의 성체에 접근한 유생에서의 군집성 착저가 일어난다는 것을 밝힌 바 있다.

본 연구는 해양수산부 수산특정연구과제 지원에 의하여 수행되었음.

특히, 해양생물 또는 부착성 생물의 유생기에서는 착저 또는 부착에 있어서 화학적 요인으로 인하여 착저 또는 부착에 소요되는 시간이 지연되거나 단축, 또는 집중되거나 분산되기도 한다((Crisp, 1974; Cloney, 1978; Hadfield, 1978; Morse, 1979; Suer and Phillips, 1983; 梶原武, 1984). 예를 들어 굴의 경우 부착에 염분농도의 영향을 가장 크게 받으나, 이외에도  $Cu^{2+}$ 의 농도에 따라 부착율의 차이가 나타난다. 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.

해양무척추동물의 착저 또는 부착에 관한 연구로는 만각류 부착의 유인조절 중 AMP 주기의 관계에 관한 증명(Clare et al., 1995), 해양 Bryozoan, *Bugula neritina*의 유생에서 energy 저장의 기능적 분할(Hunter et al., 1998), 우렁쟁이 유생에서 어미의 유전암호에 의한 제한 요소(Yoshida et al., 1996), *Urechis caupo*의 군집성 착저에 관한 연구(Suer and David, 1983) 등이 있으나, 국내 해양무척추동물에 대한 연구는 매우 미미하며, 또한 이런 분야에 대한 연구 또한 극히 드물다.

개불, *U. uncinatus*는 유생기에 부유생활을 30-60일 이상 하는 저서동물(Choi et al., 1998)이기 때문에 개불유생의 착저를 유도하고, 착저의 시기를 단축할 수 있다면 개불의 산업화 및 조간대지역의 자원조성에 이바지할 수 있다. 따라서 본 연구는 개불, *Urechis uncinatus*의 산업화를 위한 연구의 일환으로 개불유생의 착저를 유도하는 유인물질(가칭 UM)을 탐색하였기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 유생사육환경 및 착저유인물질(UM) 제조

실험에 사용된 개불의 유생은 전라남도 남해안에서 포획된 성숙한 개불 중 암수 한 쌍을 1999년 4월 20일 수정하여 30일 동안 사육한 것으로, 변태전의 유생을 본 실험에 사용하였다. 유생은 실험실에서 사육하였으며, 용존산소량은 6~7 mg/ℓ로 유지하였고, 환수는 처음 2주 동안은 사육수의 약 3/4정도를 각 주에 3회씩 행하였으며, 2주 후부터 4일마다 80 $\mu$ m muller gauze로 싸여진 관을 통해 사이폰하였고, 유생은 멸균한 배양용기에 옮겨 여과해수를 보충해 주었다. 실험에 사용한 해수는 5 $\mu$ m여과지를

통해 여과한 후 고압멸균기로 멸균한 해수를 사용하였으며, 유생의 밀도는 500 inds/ℓ 이하로 수용했다. 개불 유생의 먹이로는 처음 1주 동안은 *Chlorella* sp.만을 급이하였고, 2주부터는 *Chlorella* sp.와 *Amphora* sp.를 혼합하여 주었다.

한편, 개불유생에 대한 착저실험을 위한 착저유인물질은 개불성체의 점액질에서 추출하였으며, 추출된 유인물질(UM)은 멸균여과해수 100 ml에 착저유인물질 1 ml을 희석시켜 UM solution을 제조하여 실험에 사용하였다. 실험은 50 ml 시험관에서 실시하였고, UM의 가능성 여부에 대하여 3가지 실험을 행하였으며, 모든 실험은 3회 반복으로 하였다.

### 2. 착저유인물질(UM) 반응 조사

UM에 대한 개불유생의 반응실험은 3가지 실험조건하에서 실험하였다. 개불유생에 대한 UM의 효과를 판단하기 위하여 멸균여과해수에 UM을 용해시킨 UM solution과 시험관의 바닥에 UM을 코팅하여 멸균여과해수를 채운 시험관, 그리고 멸균여과해수만 이용한 시험관에 각 30ml씩 분주하고, 개불유생을 20개체씩 분주하여 시간경과에 따른 개불유생의 착저의 유무를 관찰하였다.

### 3. 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 1ml을 멸균여과해수 100ml에 용해시킨 해수 및 UM solution을 각 시험관에 30ml씩 분주하고, 개불유생을 20개체씩 분주하여 시간경과에 따른 개불유생의 착저반응을 관찰하였다.

### 4. UM의 온도변화에 대한 효율성 실험

UM solution을 증탕하여 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ℃로 가열한 후 각각 시험관에 30ml씩 분주하고, 방냉한 후 각 시험관에 개불 유생을 20개체씩 분주하여 온도 변화에 대한 UM의 효율성을 조사하였다.

## 결 과

### 1. 착저유인물질 영향

개불 유생에 대한 유인물질의 착저반응은 Fig. 1에서

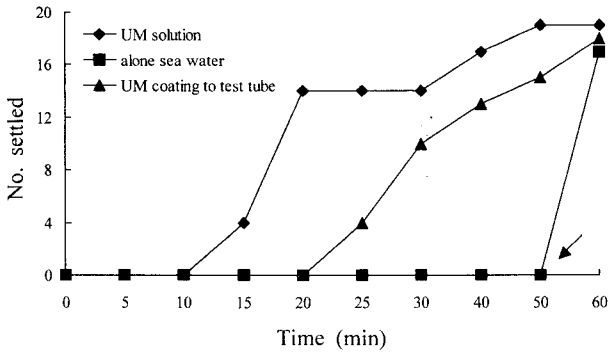


Fig. 1. Settlement responses of the echiuran *Urechis unicinctus* to UM in sea water, sea water alone or UM coated test tubes. → indicates the time, when the UM was added.

보는 바와 같다. UM solution을 담은 실험구, UM을 시험관의 바닥에 코팅한 후 멸균여과해수를 채운 실험구 및 멸균여과해수만을 채운 실험구에 개불유생을 노출시킨 결과 시간의 차이는 있었으나 UM solution과 UM을 시험관의 바닥에 coating 한 후 멸균여과해수를 채운 실험구에서는 개불유생이 모두 착저반응을 보였으나, 멸균여과해수만을 채운 시험관에서는 개불유생의 착저가 일어나지 않았다.

한편, 멸균여과해수만 채운 실험구에서는 50분이 경과될 때까지 개불유생의 착저반응이 보이지 않았으나, UM을 첨가한지 5분 안에 빠르게 착저반응을 보였다.

### 2. 개불유생의 선택성

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. 2와 같다. 고막의 체액을 이용한 실험구에서는 시간이 경과하여도 개불유생의 반응이 나타나지 않았으며, 개불성체의 혈액을 용해시킨 실험구 또한 반응을 보이지 않았다. UM에 노출된 개불의 유생은 빠르게 반응하는 양상을 나타내었다. 또한 50분이 경과한 후 고막의 체액을 용해한 실험구와 개불의 혈액을 용해한 실험구에 각각 UM을 첨가한 결과 10분내에 유생의 80~90%가 착저반응을 나타내었고, 실험 시작 1시간 경과 후 대부분의 개불 유생이 착저하였다.

### 3. 온도변화에 대한 효율성

UM의 온도변화에 대한 효율성 실험은 Fig. 3에서 보는

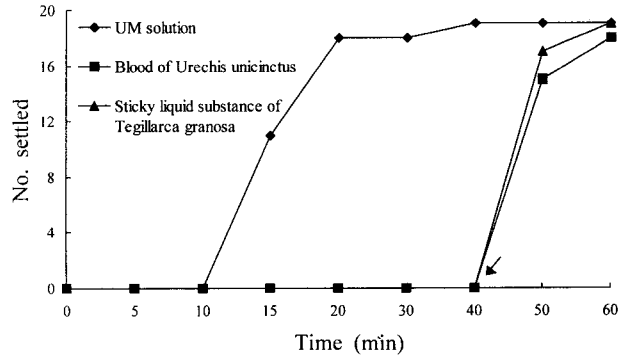


Fig. 2. Settlement responses of echiuran larvae to UM in sea water, blood of *U. unicinctus* or to sticky fluid of *Tegillarca granosa*. → indicates the time, when the UM was added.

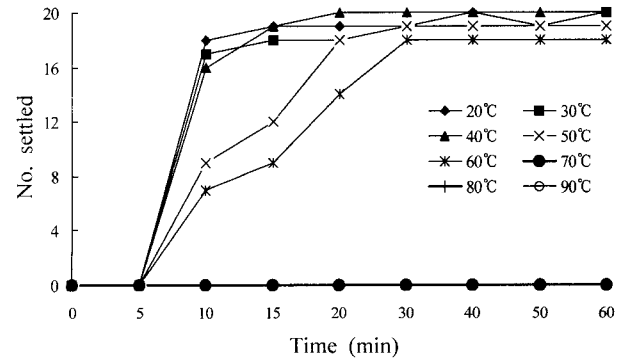


Fig. 3. Thermal lability of "UM" derived from *U. unicinctus*: larval groups were tested for settlement, exposing them to different higher temperatures; each larval group consisted of a minimum of 20 larvae.

바와 같다. UM을 20~60°C로 중탕한 후 실험에 사용된 UM에서는 약간의 시간차가 있을 뿐 개불유생이 모두 빠르게 착저하였다. 그러나 70~90°C로 중탕한 후 실험에 사용된 UM에서는 개불유생이 착저반응을 하지 않았다. 그리고 개불유생의 착저반응은 50~60°C로 중탕한 후 실험에 사용한 UM의 실험구보다는 20~30°C로 중탕한 후 실험에 사용한 UM 실험구에서 빠르게 나타났다.

## 고찰

본 연구에서 개불의 유생은 유인물질(UM)을 입힌 표면이나, 용해시킨 해수에서 접촉한 후 신속하고 정확하게 착저하였다. 이런 자극들이 결여된 상태에서는 착저가 지연되거나 반응을 나타내지 않았다. Morse(1979)은  $\gamma$ -

amono butyric acid를 이용하여 전복유생의 착저를 유도하였으며, Hadfield(1978)은 succinyl choline chloride를 이용하여 opisthobranch 유생의 변태 및 착저를 유도하였다. 그리고 Suer and Phillips(1983)은 *Urechis caupo*의 성체 점액질을 이용하여 유생의 변태 및 착저를 유도하였다. 따라서 UM의 존재는 개불유생의 착저를 촉진시키는 데 중요할 것으로 사료되며, UM에 대한 개불유생의 반응은 본 실험에서 시험관의 유리바닥에 자연적으로 정착함으로써 끝이 났다. 즉 본 연구에서 얻어진 결과들은 야기된 자극이 없이는 착저가 UM을 첨가한 것보다 일정기간 동안 지연된다는 것을 증명하는 것이며, 또한 Newby(1940)가 개불류인 *U. caupo*의 실험에서 착저속도는 점진적 변이가 영구 불변하게 일어난다고 기술한 과거의 논문과 반대된다. 이러한 차이점은 과거의 연구에서 유생의 신속한 착저를 유도하기 위해 어떠한 조건에도 노출시키지 않았기 때문이라 생각되며, 자연상태의 조건에 있는 개불 유생은 착저에 있어서 연동운동의 시작과 섬모환의 소실 등 착저하기 위해 야기되는 기본적 변화를 자극하는 요소에 더욱 노출되어 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서 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(Crisp, 1974; Cloney, 1978; Hadfield, 1978; Morse, 1979; Suer and Phillips, 1983). 유생은 착저 후 외부섬모의 상실과 이동의 기초적 방법으로서 연동운동을 활발히 시작하게 되는데 이것은 개불성체에서도 관찰되는 기초적인 이동방법이다. 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 것으로 보아 위의 가능성을 뒷받침하는 결과라 사료되며 개불이 군집을 이루는데 다른 생물이 내는 물질에 대하여 반응하지 않고 군집을 이루고 있다는 가능성을 나타낸다.

한편, 온도 변화에 대한 UM의 효율성 실험에서 나타난 결과는 70°C 이상까지 가열을 하지 않는다면 UM 자체의

효율성을 유지하는 결과를 보였다. 일반적으로 개불이 서식하는 조간대 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 것 인지에 대하여도 아직 미진한 부분이 있다. 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.

## 요 약

본 연구에서는 개불, *Urechis unicinctus*의 유생에 대한 착저유인물질(UM)의 영향, 개불유생의 착저반응의 선택성 실험, UM의 온도변화에 대한 효율성 실험을 하였다. UM에 노출된 개불의 유생은 빠르고 안전하게 착저반응을 보였으며, 이와는 대조적으로 해수와 고막의 체액, 개불의 혈액에 대하여는 착저반응을 나타내지 않았다. 온도 변화에 따른 UM의 안정성을 조사한 결과 70°C 이상으로 가열한 UM은 착저유인효과가 상실하였다. 그러나 60°C 이하의 상태에서는 UM의 효율성이 유지되었다. 따라서 개불서식지의 자연환경 조건을 고려해 볼 때 UM의 효율성은 유지될 것으로 추정된다.

## 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. *Mar. Biol.*, 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 : 155-161.
- Clare, A. S., R. F. Thomas and D. Rittschof, 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.
- Crisp, D. J., 1974. Factors influencing the settlement of marine invertebrate larvae. in. chemoreception in marine organisms, edited by P.T. Grant & A.M. Mackie, Academic Press, New York, 255-282.
- Hadfield, M. G., 1978. Metamorphosis in marine molluscan larvae : An analysis of stimulus and response. In. settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae, edited by F.S. Chia & M.E. Rice, Elsevier, New York, 165-175.
- Hunter, E., K. Okano, Y. Tomono and N. Fusetani, 1998. Functional partitioning of energy reserves by larvae of the marine bryozoan *Bugula neritina*(L.). *J. Exp. Biol.*, 201 : 2857-2865.
- Morse, D. E., 1979.  $\gamma$ -Amino-butyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. *Science*, 204 : 407-410.
- 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. 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., Y. Marikawa and N. Satoh, 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. 214pp.