

## 북방대합, *Spisula sachalinensis*의 산란유발 및 난발생

이정용 · 장영진 · 박영제\*

부경대학교 양식학과

\*국립수산진흥원 강릉수산종묘배양장

## Spawning Induction and Egg Development of Surf Clam, *Spisula sachalinensis*

Jeong Yong Lee, Young Jin Chang and Young Je Park\*

Department of Aquaculture, Pukyong National University,  
Pusan 608-737, Korea

\*Kangnung Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency,  
Kangnung 210-800, Korea

In order to obtain the basic information for seedling production of surf clam, *Spisula sachalinensis*, spawning induction and egg development were investigated.

NH<sub>4</sub>OH addition and serotonin injection could induce the spawning in surf clam. Water temperature rising, sperm suspension immersion, UV-ray irradiated seawater and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> addition less affected on induction of spawning than NH<sub>4</sub>OH and serotonin did. On the other hand, males were more sensitive to the treatments than females. The response time to initial spawning in the case of NH<sub>4</sub>OH addition was 3~4 hours. However in the case of serotonin injection, it was within 5 minutes. The number of eggs released by NH<sub>4</sub>OH addition were significantly more than those released by serotonin injection. The serotonin injection induced higher rates of germinal vesicle breakdown than the NH<sub>4</sub>OH addition. Fertilizing and hatching rates of the eggs also were the similar results.

Eggs of surf clam were demersal isolated eggs and averaging 65.2±1.8 μm in diameter after spawning. Optimum range of water temperature for the development of egg was 15~20°C. The required time for development of D-shaped larvae was 42 hours at 15°C and 27 hours at 20°C, respectively.

Key words : Surf clam, *Spisula sachalinensis*, Spawning induction, Egg development.

### 서 론

우리나라의 패류양식 생산량은 1988년에 약 42만톤에 이른 후 매년 감소하여 1993년에는 약 34만톤이 생산되었다(농림수산부, 1994). 이러한 패류 생산량의 감소는 주력품종인 굴, 피조개 등이 산업화 및 도시화로 인한 연안역의 환경오염으로 자연채묘가 부진한 데다 자가오염에 따른 양식

장의 노화에서 그 원인을 찾을 수 있다. 이에 따라 새로운 유용패류를 대상으로 한 인공 종묘생산의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

인공 종묘생산 과정의 첫째 조건은 양질의 수정란을 확보하는 것이며, 산란유발은 생산성을 높이는 데 필요한 선결과제이다. 그러므로 성숙한 어미로부터 일시에 대량의 수정란을 얻기위한 여러가지 방법들이 시도되고 있다. 패류의 인위

적인 방란·방정 방법으로는 온도 자극(Galtsoff, 1938; Loosanoff and Davis, 1963), 화학 자극(Iwata, 1971a; Gibbons and Castagona, 1984; Crawford, 1986) 및 생물학적 자극(Iwata, 1971b) 등이 있다. 그러나 대부분이 고등류인 전복류의 산란유발 방법이며, 조개류에 관해서는 serotonin 및 자외선을 쬐인 해수(자외선해수)에 의한 가리비류(浮·菊地, 1974; Matsutani and Nomura, 1982)와 새조개(西廣, 1980)의 산란유발 효과만이 보고되어 실용화 단계에 있다. 우리나라에서는 수온과 간출 자극 및 자외선해수 자극에 의해 전복의 산란유발이 이루어지고 있으나, 조개류에서는 대합과 가무락에 대한 실험적인 보고가 있을 뿐(崔, 1975) 이들의 종묘생산을 위한 본격적인 산란유발 연구는 찾아 볼 수 없다.

본 연구에서는 강원도 연안에 서식하는 개량 조개과의 북방대합, *Spisula sachalinensis*을 재료로 하여 효과적인 산란유발 방법을 파악하고, 이로부터 얻어진 수정란의 발생 과정을 조사하였다.

## 재료 및 방법

실험에 이용한 북방대합은 산란기로 추정되는 6월 중순에 강원도 주문진 연안 수심 10~20 m 해역에서 채집된 각장  $100.3 \pm 4.1$  mm, 전중  $237.8 \pm 18.2$  g의 모패였다(Table 1).

모패는 채집 즉시 실내수조에 수용하여 신선한 여과해수를 흘려주면서 24시간 안정시킨 다음,

8 l의 산란유발용 수조에 각각 1개체씩 수용하여 수온상승, 자외선해수 첨가, 정자현탁액 첨가,  $H_2O_2$  및  $NH_4OH$  첨가 등의 자극을 주었다. 수온 자극으로는  $20^\circ C$ 에 수용되어 있던 것을 각각  $4^\circ C$ 와  $8^\circ C$ 씩 상승시켜 1시간 동안 자극하였으며, 자외선해수 자극에서는 실험수조에 자외선해수( $670.2$  mW/h)를  $5$  l/min로 유수시켰다. 정자현탁액 자극에서는 성숙한 북방대합 정자현탁액( $1 \times 10^7$  마리/ml)을 해수 1 l당 10 ml씩 첨가하였으며,  $H_2O_2$ 첨가 자극으로는 2/1000, 4/1000, 6/1000, 8/1000 및 10/1000 N로,  $NH_4OH$  첨가 자극으로는 1/100, 2/100 및 3/100 N로 처리하였다. 또한 신경전달물질인 serotonin (5-hydroxytryptamine,  $C_{14}H_{19}N_5O_2 \cdot H_2SO_4$ )을  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  및  $10^{-3}$  M 농도로 각 개체의 생식소에 0.4 ml씩 주사하였다. 그리고 serotonin 주사에 의한 방란·방정 효과를 입증하기 위하여 prostaglandin (PG)의 생합성 저해제로 알려진 시판용 aspirin ( $C_9H_8O_4$ )과 indomethacin ( $C_{19}H_{16}ClNO_4$ )을 serotonin과 같은 농도로 혼합 주사하였으며, 대조구로서 같은 양의 생리식염수 (NaCl 9 g/증류수 1000 ml)를 주사하였다. 자극방법에 대한 반응률과 자극후 반응개시 시간을 조사하였으며, 암컷의 방란개시후 1시간까지의 산란량 및 방출된 알의 난핵포 붕괴(germinal vesicle breakdown, GVBD) 비율을 조사하였다. 그리고 동일한 처리로 얻어진 알과 정자를 인공수정하여 수정률과 부화율을 조사하였다. 수정여부는 제1난황이 일어난 발생배로 판정하였다.

Table 1. Number and size of adult surf clam, *Spisula sachalinensis* used for the experiment of spawning induction

Sex	Number of adult	Shell length (mm)	Shell height (mm)	Total weight (g)
Female	29	88.9~109.4 (100.5±4.3)	70.4~88.2 (80.2±4.0)	198.5~295.6 (238.1±19.2)
Male	36	94.0~109.2 (100.1±3.8)	72.5~85.3 (79.2±3.0)	208.5~285.6 (237.6±17.2)
Total	65	88.9~109.4 (100.3±4.1)	70.4~88.2 (79.7±3.5)	198.5~295.6 (237.8±18.2)

북방대합의 난발생 과정 및 수온에 따른 발생 속도의 차이를 파악하기 위하여,  $10^{-4}$  M의 serotonin 주사에 의해 방출된 알과 정자를 인공수정하여 15°C와 20°C 실험구에 각각 200 개/10 ml 밀도로 수정란을 수용한 다음 발생과정을 조사하였다. 각 발생단계에 이르기까지의 소요시간과 생존율은 30분 간격으로 쌍안 입체현미경을 사용하여 조사하였다. 발생단계별 소요시간은 관찰된 알의 50% 이상이 점유하는 발생단계에 이르는 시간으로 하였다. 또한 최적 발생 수온을 구하기 위하여 5, 10, 15, 20, 25 및 30°C 실험구에서 D상 유생까지의 생존율을 경과시간에 따라 비교하였다.

산란유발 방법 및 자극물질의 농도에 따른 산란량, 수정률 및 부화율에 대한 유의차는 반응개체의 평균을 분산분석과 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다(Zar, 1984).

## 결 과

### 방란·방정 유발률

사육수온(20°C)보다 4°C 상승시켜 1시간 동안 수온자극을 실시한 결과, 암컷에서는 반응하지 않았으나, 수컷에서는 16.6%의 개체가 방정하였

다. 한편 사육수온보다 8°C 상승시킨 수온자극에서는 암컷 33.3%, 수컷 42.7%의 유발률을 보였다. 자외선해수 첨가와 정자현탁액 첨가 자극에서는 암수 모두 반응하지 않았으며, 1/100 N과 3/100 N의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가 자극에서도 반응개체는 없었다. 그러나 NH<sub>4</sub>OH를 농도별로 첨가한 자극에서 2/1000 N부터 8/1000 N까지는 75.0% 이상의 개체가 방란·방정하였으며, 10/1000 N에서는 암수 각각 66.7%와 50.0%의 산란유발률을 보였으나 자극 24 시간후에는 암수 모두 폐사하였다(Table 2).

한편, serotonin의 산란유발 효과를 파악하기 위하여 각 농도별로 serotonin만 단독 주사하였을 때,  $10^{-6}$  M에서는 암수 각각 20.0%와 50.0%의 유발률을 보인 반면,  $10^{-5}$  M 이상에서는 70.0% 이상의 유발률을 보였다. 특히  $10^{-4}$  M에서부터 암수 모두 100% 반응을 보임으로써 가장 높은 유발효과를 나타냈다. 한편,  $10^{-4}$  M의 serotonin에 같은 농도의 aspirin을 혼합하여 주사한 개체에서는 암수 각각 14.3%와 50.0%의 유발률을 보임으로써 방란방정이 유의하게 억제되었으나, indomethacin을 혼합 주사한 개체에서는 57.1%와 62.5%의 유발률을 보여 억제효과가 인정되지 않았다. 또한 대조구로서 생리식염수만

Table 2. Effect of various stimuli on the spawning of surf clam, *Spisula sachalinensis*

Stimulus	Condition	Response number*		Response rate (%)	
		Female	Male	Female	Male
Elevation of temperature	4°C	0/4	1/6	0	16.6
	8°C	1/3	3/7	33.3	42.7
UV-ray irradiated seawater		0/5	0/5	0	0
Add sperm Suspension solution		0/7	0/3	0	0
Add H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1/100 N	0/6	0/4	0	0
	3/100 N	0/4	0/1	0	0
Add NH <sub>4</sub> OH	2/1000 N	3/4	1/1	75.0	100.0
	4/1000 N	3/3	2/2	100.0	100.0
	6/1000 N	4/5	2/2	80.0	100.0
	8/1000 N	3/3	3/3	100.0	100.0
	10/1000 N	1/2	2/3	50.0	66.7

\*Number of the spawning clam/Total number of the clam treated.

Table 3. Effect of serotonin on the spawning of surf clam, *Spisula sachalinensis*

Stimulus <sup>1</sup>	Dose	Response number <sup>2</sup>		Response rate (%)	
		Female	Male	Female	Male
Serotonin	10 <sup>-6</sup> M	1/5	3/6	20.0	50.0
	10 <sup>-5</sup> M	3/4	5/6	75.0	83.3
	10 <sup>-4</sup> M	8/8	8/8	100.0	100.0
	10 <sup>-3</sup> M	6/6	6/6	100.0	100.0
Serotonin + Asprin	10 <sup>-4</sup> M	1/7	4/8	14.3	50.0
Serotonin + Indomethacin	10 <sup>-4</sup> M	4/7	5/8	57.1	62.5
Saline		0/3	0/3	0	0

<sup>1</sup>Clams were injected individually with 0.4 ml in various doses of serotonin or serotonin antagonist.

<sup>2</sup>Number of the spawning clam/Total number of the clam treated.

0.4 ml 주사한 개체에서는 암수 모두 반응하지 않았다(Table 3).

방란 · 방정 개시시간

자극방법에 따른 북방대합의 방란 · 방정 개시 시간을 조사한 결과, 암수 각각 33.3% 및 42.7%의 유발률을 보였던 8°C의 수온상승 자극에서는 방란까지 120분, 방정까지 63분이 소요되었다. 한편 50% 이상의 유발률을 보였던 자극방법들 사이의 반응개시 시간을 서로 비교하면(Fig. 1), NH<sub>4</sub>OH 첨가에 따른 방란개시 시간은 2/1000 N에서 평균 260분이 소요되었으나, 8/1000 N에서는 평균 190분 후에 방란이 이루어져, NH<sub>4</sub>OH 농도가 증가할수록 방란개시 시간이 조금씩 빨

라지는 경향을 보였다. 그러나 방정개시 시간은 모든 농도에서 평균 57분으로 나타나 암컷에 비해 매우 짧았다. 또한 serotonin 주사에 따른 암수의 방란 · 방정 개시시간은 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> 및 10<sup>-3</sup> M에서 2~3분 만에 방란 · 방정하였으며, PG 생합성 억제제인 indomethacin을 함께 주사한 개체들에서는 암수 각각 14분, 10분이 소요되었다.

산란량

자극방법에 따른 산란량을 조사한 결과, 33.3%의 유발률을 보였던 8°C 수온상승 자극에서는 전중 100 g당 439.4만개였다. 한편 50% 이상의 유발률을 보였던 개체의 산란량은 자극방법에 따

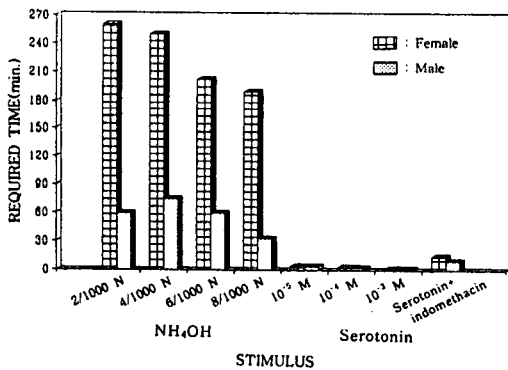


Fig. 1. Required time for spawning by various doses of NH<sub>4</sub>OH (addition) and serotonin (injection) among the individuals of 50% induced spawning in surf clam, *Spisula sachalinensis*.

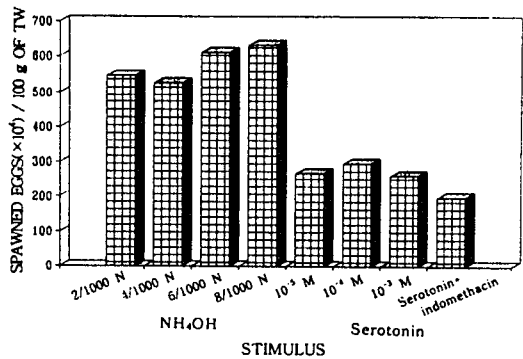


Fig. 2. Number of spawned eggs by various doses of NH<sub>4</sub>OH (addition) and serotonin (injection) among the individuals of 50% induced spawning in female surf clam, *Spisula sachalinensis*. TW : total weight.

라 유의한 차이를 보였다( $P < 0.05$ ) (Fig. 2).  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극에서의 전중 100 g당 산란량은 8/1000 N에서 631.6만개로 가장 많은 산란량을 보였으며, 4/1000 N에서 525.6만개로 가장 적었으나 농도에 따른 유의한 차이는 없었다. serotonin 주사에 의한 산란량은  $10^{-4}$  M에서 296.0만개로 가장 많은 산란량을 보였으나 농도에 따른 차이는 없었으며, indomethacin을 함께 주사한 경우 198.1만개로 유의한 감소를 보였다( $P < 0.05$ ).

**GVBD율**

자극방법에 따라 방출된 알의 성숙도를 비교하기 위하여 각 자극방법별로 방출 1시간후의 알에 대한 GVBD율을 조사한 결과, 수온상승 자극에 의한 알은 24.3%의 GVBD율을 나타냈다. 한편 50% 이상의 유발률을 보였던 자극방법들의 GVBD율은 Fig. 3와 같이,  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극에 의해 방출된 알의 GVBD율은 평균 27.0%였다. 그러나 serotonin 주사 자극에 의한 알의 GVBD율은 평균 52.4%로서  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극에 비해 높았으며, indomethacin을 함께 주사하여 방출된 알에서는 평균 36.8%였다.

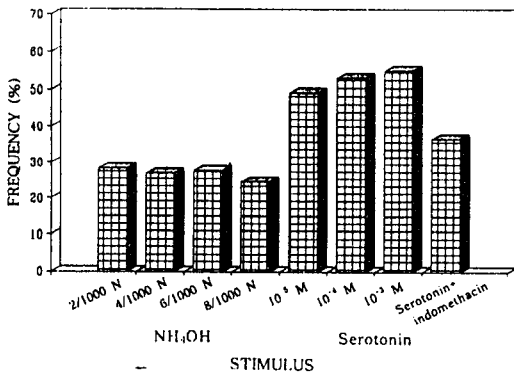


Fig. 3. Frequency of oocyte maturation (GVBD) induced by various doses of  $\text{NH}_4\text{OH}$  (addition) and serotonin (injection) among the individuals of 50% induced spawning in female surf clam, *Spisula sachalinensis*.

**수정률 및 부화율**

산란유발 방법에 따라 방출된 알과 정자의 수

정률과 부화율을 Fig. 4에 나타냈다.  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극으로 방출된 알과 정자를 인위적으로 수정하였을 때, 수정률은 평균 49.0%였으며,  $\text{NH}_4\text{OH}$  농도가 높을수록 수정률은 감소하는 경향이였다. 각  $\text{NH}_4\text{OH}$  농도별 수정란의 부화율은 39.7~47.4%로 4/1000 N일 때 가장 높았으며, 각 부화율은 같은 농도에서의 수정률의 약 94% 정도였다. 한편, serotonin 주사에 의해 방출된 알과 정자에서는 평균 수정률 82.4%, 평균 부화율 71.6%로  $\text{NH}_4\text{OH}$  자극에 비해 높게 나타났으며,  $10^{-4}$  M에서 가장 높은 수정률과 부화율을 보였다. 또한 indomethacin을 함께 주사한 개체에서도 80.7%와 67.8%의 높은 수정률과 부화율을 보였다.

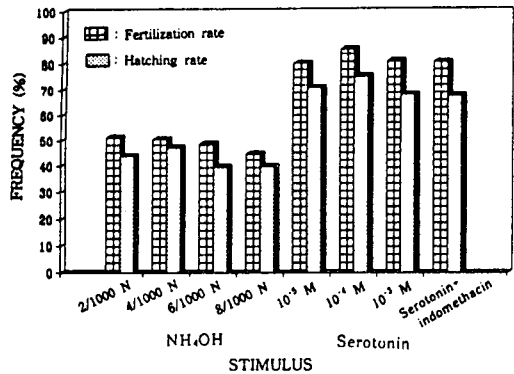


Fig. 4. Fertilization and hatching rate of eggs spawned by various doses of  $\text{NH}_4\text{OH}$  (addition) and serotonin (injection) among the individuals of 50% induced spawning in surf clam, *Spisula sachalinensis*.

**난발생**

북방대합 수정란의 초기 발생에 관한 형태학적 특징과 수정후 각 단계까지의 소요시간은 Table 4와 같다.  $10^{-4}$  M의 serotonin 주사에 의해 방출된 알은 평균 직경  $65.2 \pm 1.8 \mu\text{m}$ 의 분리침성란으로서, 대부분이 난핵포가 소실되지 않은 상태였다(Fig. 5-①). 수온  $15^\circ\text{C}$ 에서 수정직후의 알에서는 난핵포가 소실되고 수정막이 형성되었으며(Fig. 5-②, ③), 수정 1시간후에는 제1극체가 방출되었다(Fig. 5-④). 이후 난황이 개시되어 부등분열에 의해 2세포, 4세포, 8세포 및

Table 4. Early developmental stages of surf clam, *Spisula sachalinensis*

Stage	Elapsed time after fertilization (hour)		Feature
	15°C	20°C	
Fertilized gee			Isolated demersal egg, $\phi$ 65 $\mu$ m
2-cell	2.5	1.3	Unequal cleavage
4-cell	3.5	2.0	
8-cell	5.5	3.0	
Morula	9.0	6.0	
Gastrula	17.0	10.0	Begin to move with cilia
Trochophore	27.0	18.0	
D-shaped larva	42.0	27.0	Hatching, shell formation

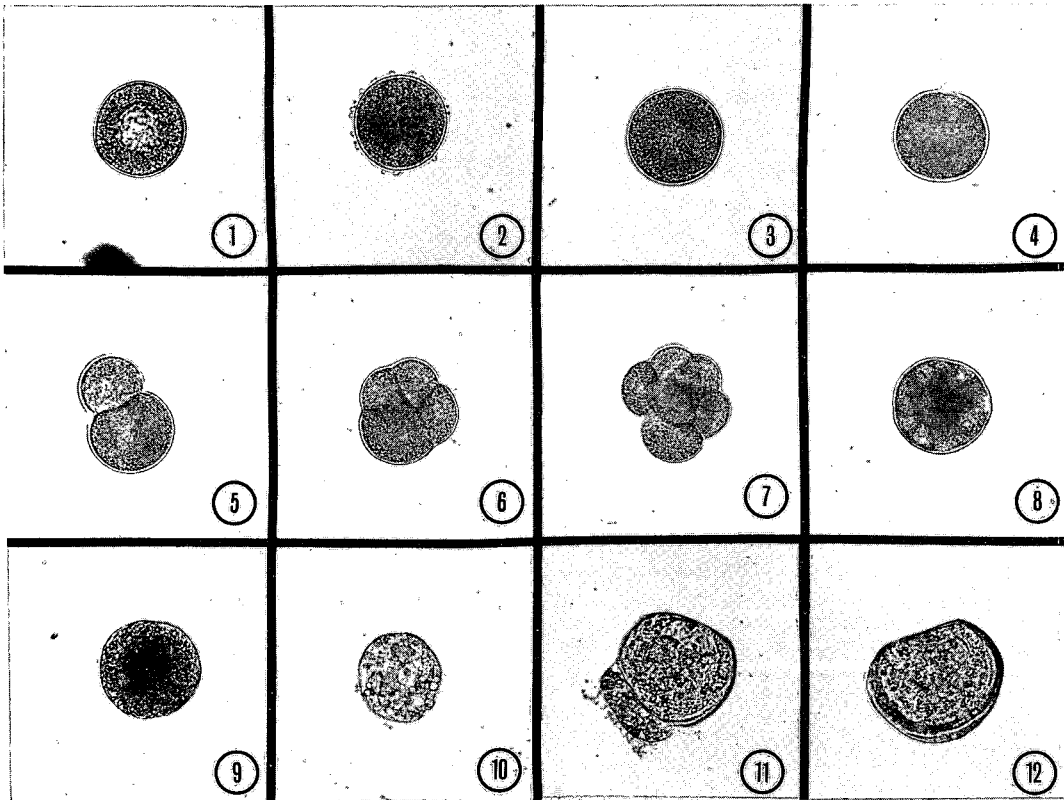


Fig. 5. Early developmental stages of surf clam, *Spisula sachalinensis*.

1. Unfertilized egg, 2. Fertilized egg just after fertilization, 3. Fertilized egg (GVBD), 4. 1st polar body stage, 5. 2-cell stage, 6. 4-cell stage, 7. 8-cell stage, 8. Morula stage, 9. Gastrula stage, 10. Trochophore stage, 11. Veliger stage (hatching), 12. Early D-shaped larva stage.

포배기까지 각각 2.5, 3.5, 5.5 및 9.0 시간이 소요되었다(Fig. 5-⑤, ⑥, ⑦, ⑧). 섬모로 회전운동을 시작하는 낭배기(Fig. 5-⑨)까지는 17.0

시간, 담륜자기(Fig. 5-⑩)까지는 27.0시간, 패각이 형성되고 면반으로 유영하는 초기 D상 유생(Fig. 5-⑪, ⑫)까지는 42.0시간이 소요되었다.

한편 수온 20°C에서의 각 발생단계까지의 소요시간은 15°C에서의 결과보다 짧았으며, 초기 D상 유생까지 27.0시간이 소요되었다. 초기 D상 유생의 크기는 각장 99.8±1.8, 각고 79.8±1.4 μm였다.

수온별 D상 유생까지의 생존율

수온별 초기 발생과정에서 D상 유생까지의 생존율은 Fig. 6과 같다. 5°C에서는 수정후 5시간 경과시까지 전혀 발생이 이루어지지 않았다. 한편, 10°C에서는 30시간까지는 높은 생존율을 보였으나, 시간이 경과함에 따라 생존율이 점차 감소하여 D상 유생이 나타나는 수정 60시간 후에는 54%의 생존율을 보였다. 15°C와 20°C의 수온조건에서는 각각 50시간과 30시간이 소요되었던 D상 유생기까지 80%와 70%의 생존율을 보였다. 수온 25°C에서는 수정 10시간 이내에 50%가 폐사하였으며, D상 유생이 나타나는 수정 30시간 후에는 30%의 생존율을 보였다. 그러나 30°C에서는 수정후 10시간 이내에 100% 폐사하였다.

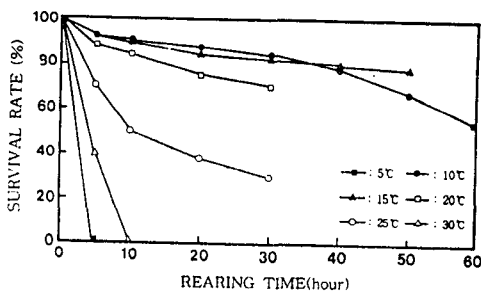


Fig. 6. survival rates of early developmental stage from fertilization to D shaped larva of surf clam, *Spisula sachalinensis* in various water temperatures.

고찰

사육수온보다 8°C 높은 수온상승 자극에서 북방대합 암수는 각각 42.8%와 33.3%의 방란·방정 반응을 보였다. 그러나 산란유발에 미치는 수온의 영향에 관한 생리적 기구가 정확히 밝혀지지 않고 있으며(Hirai et al., 1988), 수온 자극은 모패의 사육 및 처리조건에 따라 유발률이 다르게 나타나

계획성있는 채란 방법이 되지 못하는 것으로 지적되고 있다. 복족류인 전복의 경우 모패에 자외선해수를 흘려줌으로써 방란·방정이 유발되었으며(菊地·浮, 1974), 이러한 자외선해수의 효과는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>나 O<sub>3</sub> 첨가의 경우와 마찬가지로 광화학 반응으로 생성되는 oxydant가 산란을 유발하는 일련의 생화학적 반응을 촉발함으로써 나타난다고 알려져 있다(浮·菊地 1977). 그러나 북방대합은 자외선해수와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가 자극에 의하여 산란이 유도되지 않았다. NH<sub>4</sub>OH에 의한 산란은 pH 상승에 의하여 유발되는 것으로 알려져 있으며(Sagara, 1958), 가무락, *Cyclina sinensis*은 8/1000 ~ 3/100 N의 해수에서, 대합, *Meretrix lusoria*은 1/100~1/20 N에서 방란·방정이 이루어져 패류의 종류에 따라 방란·방정을 일으키는 NH<sub>4</sub>OH의 농도에 차이가 있음을 지적하였다(崔, 1975). 본 연구에서 북방대합은 NH<sub>4</sub>OH 첨가에 매우 민감하게 반응하였으며, 8/1000 N의 해수에서 암수 모두 100% 방란·방정이 유도되었다. 그러나 10/1000 N에서는 처리 24시간 후에 모든 개체가 폐사하여 북방대합의 산란유발시 8/1000 N 이하가 적합할 것으로 판단된다. Galtsoff (1938)는 버지니아굴, *Ostrea virginica*의 정자현탁액 첨가가 동종의 효과적인 산란유발 방법이라고 보고하였으나, 북방대합에서는 정자 현탁액에 대한 방란 반응이 관찰되지 않았다.

본 연구에서 북방대합은 serotonin 처리에 의해 아주 민감한 산란 반응을 보였다. 산란반응에 소요된 시간도 NH<sub>4</sub>OH의 결과(3시간 이상)보다 유의하게 짧은 5분 이내로 나타났다. 따라서 serotonin과 같은 신경전달 물질은 앞으로 안정된 산란유발 물질로 활용될 가능성이 높은 것으로 판단된다. 국외에서는 1980년대 이후 serotonin이 가리비를 비롯한 조개류의 산란기구에 중요한 역할을 한다는 사실이 밝혀지고 있으며, 가리비 난소의 생식상피와 생식소낭을 따라 serotonin성 신경전달 물질의 존재가 확인되었다(Matsutani and Nomura, 1982). Osada et al. (1992)은 serotonin의 산란유발 기구에 대해 serotonin이

난모세포 표면에 존재하는 serotonin 수용기를 자극함으로써 산란이 일어난다고 보고한 바 있다. 북방대합과 유사종인 *S. solidissima*에서는 20  $\mu\text{M}$  이상의 serotonin 0.4 ml를 생식소에 주사하면, 2~3분 이내에 방란·방정이 유발되지만, dopamine이나 acetylcholine 등 다른 신경전달 물질은 방란을 유발하지 못한 것으로 보고되어 있다(Hirai et al., 1988). 또한 본 연구 결과, serotonin에 의한 산란유발은 PG의 생합성 저해제인 aspirin에 의해 억제되었는데, 이로써, serotonin은 생식소 내의 PG 생합성에 작용하는 것으로 판단되며, PG가 북방대합의 방란·방정에 직접적으로 작용하는 요인이 된다고 생각된다. 이상의 내용을 종합하여 볼 때, 조개류의 방란 및 방정에 영향을 미치는 요인들은 종특이성이 매우 큰 것으로 판단되며, 여러 연구자들간에 결과의 차이를 해결하기 위해서는 조개류에 대한 방란·방정 기구를 밝히기 위한 체계적인 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

난모세포의 GVBD는 난모세포의 최종성숙과 관계가 있으며, 정자가 없는 해수에서 난모세포를 배양하면 감수분열 중기 I에서 발생이 정지하는 것으로 알려져 있다(Osanai, 1985). 본 연구에서 serotonin 주사에 의해 방출된 알은  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극에 의해 방출된 알에 비하여 GVBD율이 높게 나타났다. Matsutani and Nomura (1987)는 serotonin이 조개류의 GVBD를 유발한다고 하였는데, 본 연구에서 GVBD율의 차이가 serotonin 주사에 의해 비롯된 것인지,  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가 자극으로 다량의 미성숙란 방출에 의한 것인지는 아직 밝혀져 있지 않으므로 이에 관한 연구가 필요하다. 그러나  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가에 의해 방출된 알이 serotonin 주사에 의한 알보다 수정률이 낮았던 것은 방출된 알이 많아 미성숙란이 방출되었을 가능성이 높고, 정자방출 시간과의 차이로 인하여 정자활성이 저하된 데에 기인하는 것으로 생각된다.

조개류의 수정은 난생형 굴, *Crassostrea* sp.에서와 같이 GVBD 유무에 관계없이 수정이 용이한 종도 있으나, 일반적으로 자연산란이든 산란유발

자극에 의한 것이든 대부분이 GVBD 후에 정상적인 수정과 발생이 진행되는 것으로 알려져 있다(Loosanoff and Davis, 1963). 그러나 북방대합은 GVBD 이전에도 수정이 가능한 종으로, 적출란이라도 수정이 가능하였으며 D상 유생까지 발생이 관찰되었다.

북방대합의 발생가능 수온에 대해서 Imai (1953)는 13~22°C라 하였으며, 木下(1989)는 23~24°C를 발생가능 상한수온으로 보고한 바 있다. 본 연구에서는 10~20°C 범위에서 정상적인 난발생이 가능하였으나 최적 발생수온은 15~20°C로 생각된다. 또한 수정란의 부화시간은 15°C에서 45시간, 20°C에서 29시간이 소요되어 수온이 높을수록 난발생이 빨라지는 것으로 나타났다. 이는 수온 상승에 따라 생화학 반응 및 생물학적 대사 속도가 빨라진다고 하는  $Q_{10}$ 의 법칙에 부합되는 결과이다.

북방대합을 대상으로 조사한 본 연구결과에서 산란유발 방법에 대한 몇가지 지식을 얻었는데, 앞으로 이 종의 인공 종묘생산을 위하여 성숙제어 및 산란조절을 위한 번식생리학적, 신경 내분비학적 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

## 요 약

한해성 패류인 북방대합을 대상으로 자극방법별 산란유발 및 수온별 난발생 과정을 조사하였다.

모패에 대한 산란유발 자극은  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가와 serotonin 주사가 효과적이었으며, 수컷이 암컷보다 민감하게 반응하였다. 반응개시 시간에 있어서  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가시 방란은 3~4시간, 방정은 1시간 전후에 개시되어 암수간의 차이가 있었다. serotonin 주사는 암수 모두에서 5분 이내에 방란·방정을 유도하였다. 방출된 알의 수는  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가에서 유의하게 많았다. 그러나 serotonin 주사에 의해 산란유발된 알의 GVBD율, 수정률 및 부화율은  $\text{NH}_4\text{OH}$  첨가에 의한 알보다 높았다.

방출된 알은 평균 난경  $65.2 \pm 1.8 \mu\text{m}$ 인 분리 침성란으로 GVBD 이전에도 수정이 가능하였으



며, 적정 발생수온은 15~20°C였다. 초기 D상 유생까지는 15°C에서 42시간, 20°C에서 27시간이 소요되었다.

### 참 고 문 헌

- Crawford, C. M., 1986. Spawning induction, and larval and juvenile rearing of the giant clam, *Tridacna gigas*. *Aquaculture*, 58 : 281-295.
- Galtsoff, P. S., 1938. Physiology of reproduction of *Ostrea virginica* I. Spawning reactions of the female and male. *Biol. Bull.*, 74 : 461.
- Gibbons, M. and M. Castagona, 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. *Aquaculture*, 40 : 189-191.
- Hirai, S., T. Kishimoto, A. L. Kadam, H. Kanatani and S. S. Koide, 1988. Induction of spawning and oocyte maturation by 5-hydroxytryptamine in the surf clam. *J. Exp. Zool.*, 245 : 318-321.
- Imai, T., 1953. Mass production of molluscs by means of rearing the larvae in tanks. *Venus*, 25 : 157-167.
- Iwata, K. S., 1971a. Spawning of *Mytilus edulis* (7). Acid-inhibition of spawning by KCl. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 17 : 91-93.
- Iwata, K. S., 1971b. Spawning of *Mytilus edulis* (5). A method to obtain mature eggs from mantle piece. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 17 : 15-18.
- Loosanoff, V. L. and H. Davis, 1963. In "Advances in Marine Biology" Vol. 1. Academic Press. New York, 14-26.
- Matsutani, T. and T. Nomura, 1982. Induction of spawning by serotonin in the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Mar. Biol. Lett.*, 3 : 353-358.
- Matsutani T. and T. Nomura, 1987. *In vitro* effects of serotonin and prostaglandins on release of eggs from the ovary of the scallop, *Patinopecten yessoensis*. *Gen. Com. Endoc.*, 67 : 111-118.
- Osada, M., K. Mori and T. Nomura, 1992. *In vitro* effects of estrogen and serotonin on release of eggs from the ovary of the scallop. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 : 223-227.
- Osanai, K., 1985. *In vitro* induction of germinal vesicle breakdown in oyster oocytes. *Bull. Mar. Biol. Stn. Asamushi, Tohoku Univ.*, 18 : 1-9.
- Sagara, J., 1958. Artificial discharge of reproductive elements of certain bivalves caused by injection with NH<sub>4</sub>OH. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 23 : 505-510.
- Zar, J. H., 1984. *Biostatistical analysis*. 2nd. Prentice-Hall, 718 p.
- 農林水産統計年報. 1994. 농림수산부, 281-283.
- 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. *韓水誌*, 8 : 185-195.
- 菊地省吾·浮永久, 1974. 아와비屬의採卵技術에關する研究. 第2報. 紫外線照射海水의產卵誘發效果. 東北區水研報, 33 : 79-86.
- 木下秀明, 1989. 우바가이의卵および浮遊幼生의高温耐性. *水産増殖*, 37 : 9-14.
- 浮永久·菊地省吾, 1974. 紫外線照射海水의ホタテガイ *Patinopecten yessoensis* (JAY)에對する產卵誘發效果. 東北區水研報, 34 : 87-92.
- 浮永久·菊地省吾, 1977. 오존によるエゾアワビ의放卵誘起. 昭和52年度日本水産學會春季大會講演要旨集, 57 p.
- 西廣富夫, 1980. トリガイ의人工種苗生産に關する研究-I 產卵誘發と初期發生. *京都海洋センタ-研報*, 4 : 13-17.