

말뚝합, *Meretrix petechialis*의 생식소 발달단계에 따른 일부 조직의 생화학적 성분 변화

김용민, 박관하¹, 정의영², 김종배³, 이창훈⁴

국립공원관리공단 변산반도사무소, ¹군산대학교 수산생명의학과, ²군산대학교 해양생명과학부, ³군산대학교 해양응용공학부, ⁴(주)네오엔비즈 환경안전연구소

Changes in Biochemical Components of Several Tissues of the Hard Clam, *Meretrix petechialis*, in Relation to Gonad Developmental Phases

Yong-Min Kim, Kwan Ha Park¹, Ee-Yung Chung², Jong Bae Kim³, and Chang-Hoon Lee⁴

Byeonsan-bando National Park, National Parks Service, Buan-gun 579-850, Korea

¹*Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea*

²*School of Marine Life Science, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea*

³*School of Marine Applied Technology, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea*

⁴*Institute of Environmental Protection and Safety, NeoEnBiz Co., Seoul 153-783, Korea*

ABSTRACT

We investigated the reproductive cycle of the hard clam, *Meretrix petechialis* with its gonadal development by histological observations. The seasonal changes in biochemical component of the adductor muscle, visceral mass, foot muscle and mantle of the clam were studied by biochemical analysis, from January to December, 2002. The reproductive cycle of this species can be divided into five successive stages: early stage (January to March), late active stage (February to May), ripe stage (April to August), partially spawned stage (July to August) and spent/inactive stage (September to January). Total protein content in the visceral mass was over two times higher than that in the adductor muscle. Monthly changes of total protein content in the adductor muscle were not statistically significant (ANOVA, $p = 0.071$), while the changes in the visceral mass were significant ($p < 0.001$). Total protein content

in visceral mass was higher during the early active, late active, and ripe stages (from January to May), while the lowest in July. Glycogen content in the adductor muscle was higher than that in the visceral mass. Monthly changes in glycogen contents were statistically significant in both adductor muscle ($F = 237.2$, $p < 0.001$) and the visceral mass ($F = 64.04$, $p < 0.001$). Glycogen content in the adductor muscle was the highest in the ripe stage (April). Its content was lower in the partially spawned and the spent/inactive stages (June-September). Glycogen contents in the visceral mass were relatively lower until the early active stage, while the highest in the late active stage. RNA content was higher in visceral mass than that in the adductor muscle. Monthly changes in RNA contents were significant in both adductor muscle ($F = 195.2$, $p < 0.001$) and visceral mass ($F = 78.85$, $p < 0.001$). RNA content in the adductor muscle was high in the early active stage (January-February), and then it decreased rapidly in the late active stage (March-April), thereafter, slightly increased during the partially spawned stage (June-July). RNA content in the visceral mass reached a maximum during the ripe stage (May), and then it decreased rapidly during the partially-spawned stage (June-July). There was significant positive correlation in total protein contents

Received September 21, 2006; Accepted December 8, 2006

Corresponding author: Chung, Ee-Yung

Tel: +82 (63) 469-4592 e-mail: eychung@kunsan.ac.kr
1225-3480/22204

© The Malacological Society of Korea

between adductor muscle and visceral mass ($r = 0.715, p = 0.020$). However, there was no correlation between adductor muscle and visceral mass in glycogen ($p = 0.550$), while a negative correlation was found between the adductor muscle and visceral mass in RNA ($p = 0.518$) contents. Especially, changes in RNA content showed a negative correlation between the adductor muscle tissue and visceral mass. Therefore, these results suggest that the nutrient content of the adductor muscle, visceral muscle and foot muscle changed in response to gonadal energy needs.

Keywords: *Meretrix petechialis*, Reproductive cycle, Biochemical component.

서 론

말뚝합, *Meretrix petechialis*는 연체동물 문 (Mollusca), 부족 강 (Pelecypoda), 이치 아강 (Heterodonta), 백합 과 (Veneridae) 에 속하는 이매패류로서 주로 우리나라의 서해안과 남해안의 사니질 갯벌에 서식분포하는 식용 이매패로 산업적으로 매우 중요한 수산자원이다 (Yoo, 1976; Min *et al.*, 2004).

지금까지 백합류, *Meretrix* spp.에 관해 연구 보고된 것으로는 일본산의 경우, 인공방류 (Iwata, 1948), 산란시기 (Taki, 1949; Tanaka, 1954), 번식과 생태 (Tanaka, 1969), 양식 (Hatanaka *et al.*, 1943), 증금속에 대한 급성 독성 연구 (Ikuta, 1988a, b) 등이 보고되어 있다.

또한 국내산의 경우는 생식주기 (Lee, 1997), 산란기 (Choi and Song, 1974), 인공수정과 발달 (Choi and Song, 1974), 초기 배발생과 발달 (Choi, 1975; Hur, 1994), 생산 (Chun *et al.*, 1981), 양식장의 환경 조사 및 생리학적 연구 (Lee and Kim, 1991), 독성물질의 영향 (Lee, 1991), 그리고 기생충 감염 (Chun and Lee, 1976) 등 다수의 연구논문이 보고되어 있으나, 말뚝합의 폐각근 조직과 내장낭 조직 부위의 생화학적 성분 변화의 상호관계에 관한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 따라서 본 연구에서는 말뚝합의 생식기구 연구의 일환으로써 생식소 발달 단계에 따른 생식주기를 정확하게 밝힌 후, 생식소 발달 단계에 따른 폐각근 조직과 내장낭 조직 부위의 생화학적 성분 변화의 상관관계를 밝혀 영양물질의 이동 변화를 예측하고자 조사하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 말뚝합은 2002년 1월부터 12월까지 1년 간에 걸쳐 전북 김제시 심포면 연안역에서 형망을 이용하여 월

별로 채집하였다 (Fig. 1). 채집된 재료 중 가장 76.0-82.2 mm 크기의 개체를 무작위로 매월 80-90 개체씩 채집하여 조직학적으로 생식주기를 조사하였고, 또한 생화학적 성분 함량 분석을 위해 사용하였다.

1. 생식소 발달단계에 따른 생식주기의 조직학적 조사

1) 조직학적 표본제작

내장낭에서 족부까지 분포하는 생식소 부위를 적출하여 Bouin용액에 24시간 고정한 후 고정된 생식소 부위는 일반적인 paraffin 절편법에 의해 5-7 μ m로 연속절편을 만들었으며, 염색은 Hansen's haematoxylin과 0.5% eosin을 비교 염색하였고, 조직의 세구분을 위하여 Mallory 삼중 염색을 병행하였다.

2) 생식소 발달단계의 기준

난소 및 정소의 발달 과정과 이들의 생식주기 변화를 조직학적으로 조사한 결과 Chung *et al.* (2000) 의 분류 방법에 따라 생식주기를 초기활성기 (early active stage), 후기활성기 (late active stage), 완숙기 (ripe stage), 부분산란기 (partially spawned stage), 퇴화 및 비활성기 (spent/inactive stage) 의 연속적인 5 단계로 구분하였다.

2. 생화학적 성분변화 조사

실험에 사용한 말뚝합은 2002년 1월부터 12월까지 전북 김제 심포 연안역에서 형망으로 채집한 것을 사용하였다.

1) Glycogen분석법

즉살시킨 후 조직을 약 100-150 mg 정도 취해 시험관에 넣고 30% KOH용액 2 ml를 가하고 비등수 상에서 때때로 흔들며 주면서 2시간 동안 가열하였다. 얼음물에 담가 침전 냉각시

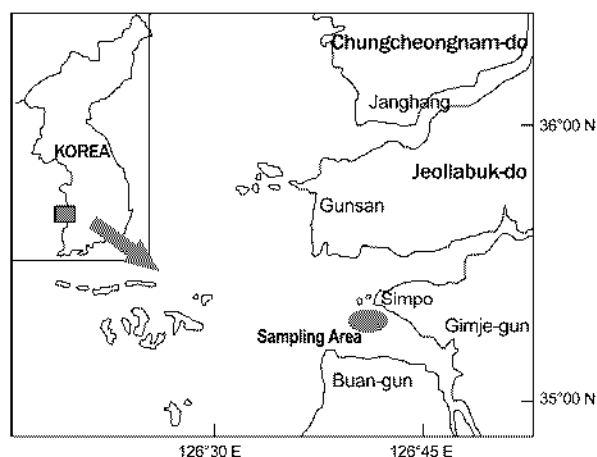


Fig. 1. Map showing the sampling area.

키고 95% ethanol 4 ml를 가하여 혼합한 후 냉장고에 하루 밤 방치시키고, glycogen을 원심분리시켜 (5,000 × g, 10분) 침전시키고 상층액은 버렸다. 침전에 2% Na₂SO₄용액 2 ml를 가해서 용해시킨 후, 원심분리시켜 상층액은 버렸다. 침전된 glycogen에 1 N H₂SO₄용액 6 ml를 가해서 용해시키고 원심분리시켜 상층액을 모았다.

표준시료, 공시료, 분석 대상시료를 만들어 냉각시키고, anthrone-황산 시약 5 ml를 가하고 정확히 15분간 가열하였다. 얼음물에 넣어 냉각시킨 후 20-30분간 실온에 방치하고 620 nm에서 흡광도를 측정한다. Standard에서 25-100 μg/ml로 용해한 D-glucose를 사용하였다.

2) 총단백 분석법

50 mg의 조직에 4 배량의 saline을 가하고 homogenize하였다. Tube에 100 μl를 넣고 1.0 ml의 증류수를 넣어 희석한 후 Lowry reagent 용액 1.0 ml를 각각 standard, blank 시료, sample tube에 넣은 다음 vortexing하여 잘 섞고 실온에서 20분 동안 방치하였다. 0.5 ml의 Folin and Ciocalteu's phenol 시약을 각 tube에 넣고 30분 동안 발색을 위해 방치한 후 750 nm에서의 흡광도를 측정하고 50-400 μg/ml로 만든 표준용액으로 standard curve를 이용하여 총단백질 농도를 구하였다.

3) RNA분석법

시료를 약 400 mg정도 취해 빙수 8 ml를 가하고 homogenizer로 균질화하였다. 시료 용액 1 ml를 취해 centrifuge tube에 넣은 다음 빙냉한 10% HClO₄용액 2.5 ml를 넣고, 20-30분간 빙냉하였다. 3,000 rpm (2°C) 으로 10분간 원심분리하고 조심스럽게 pipette으로 새로운 centrifuge tube에 상청액을 모으고, 침전물은 빙냉한 5% HClO₄용액을 다시 2 ml 넣고 homogenizer로 균질화하였다. 약 15분간 빙냉하고 원심분리한 다음 위의 상청액과 합쳐서 냉산가용성분획으로 하였다. 상청액은 nucleoside 및 nucleotide 분석에 사용하였다. 침전물은 약 3 ml의 ethanol-ethyl ether 혼액 (1:1 v/v) 으로 재현탁하고 50°C의 항온수조에서 15분간 두면서 지방을 추출하였다. 약 10분간 빙냉한 다음 원심분리하여 상청액을 제거하고 3 ml의 ethanol-ethyl ether 혼액 (1:1 v/v) 으로 다시 현탁시키며 10분간 실온에 방치시켰다가 원심분리하였다. 상청액을 제거한 침전물에 약 2 ml의 0.3 N-KOH 용액으로 다시 현탁시키고 37°C의 항온수조에서 18시간 두면서 RNA를 분해하였다. 분해가 끝나면 시료를 빙냉하면서 6 N-HCl 용액 0.12 ml를 가하여 중화하였다. 여기에 60% HClO₄용액을 0.25 ml를 넣고 10분간 빙냉하였다가 원심분리하였다. 상청액을 합쳐서 RNA분획으로 하고 RNA분석에 사용하였다.

4) 통계처리

내장낭, 폐각근, 족부 근육 내 수분 함량, 총단백질 함량 및 글리코겐 함량의 월별 변화가 통계적으로 차이가 있는지 여부와, 각 월별 수분 함량, 총단백질 함량 및 글리코겐 함량이 내장낭, 폐각근 및 족부 근육 사이에서 차이가 있는지 여부를 알아보기 위하여 분산분석 (analysis of variance; ANOVA)을 실시하였고, 월별 평균값의 다중비교 (multiple comparison)를 위하여 Turkey test를 실시하였다. 그리고 내장낭, 폐각근, 족부 근육 내 총단백질 함량 및 글리코겐 함량간의 상관관계를 알아보기 위해 피어슨의 상관계수 (Pearson's correlation coefficient)를 구하였다. 모든 통계처리는 SPSS 프로그램을 이용하여 유의수준 0.05에서 실시하였다.

결 과

1. 생식소 발달단계에 따른 생식주기

생식소 내 생식세포의 형태, 크기에 따라 생식소의 발달단계별 특징을 광학현미경하에서 관찰한 결과, 암수의 생식소 발달단계에 따른 생식주기는 연속적인 5단계로 구분할 수 있었다.

1) 초기활성기 (early active stage)

암컷의 경우, 난소소낭 (follicle) 생식상피 내에 출현하는 난경 약 10 μm인 난원세포들과 초기발달 중인 난모세포들이 나타났다. 이들 난모세포의 난경은 20 μm 전, 후로 뚜렷한 핵을 가졌으며 핵 내에는 뚜렷한 한 개의 인 (nucleolus)이 관찰되었다. 이 시기에 난소소낭 내 내강은 텅 비어 있었다 (Fig. 2A). 수컷의 경우는 정소소낭 (acinus) 생식상피 내에 출현하는 정원세포들과 정모세포들이 나타나 층상배열을 이루었다. 이 시기에는 정소소낭의 내강이 비어 있었다 (Fig. 3A). 2, 3월 사이에 채집된 개체들은 암, 수 모두 초기활성기를 보였다.

2) 후기활성기 (late active stage)

암컷의 경우, 난소소낭 내에는 발달 중인 난모세포들이 나타났는데 이들 난모세포들은 난경을 생식상피 상에 부착하고 있었으며, 내강의 중앙부를 향해 발달하였다. 그러나 난모세포들의 난경이 대략 50-60 μm가 되면 모양이 다각형 또는 타원형으로 발달하여 난소소낭의 약 70-80%를 차지하였다. 이 때 발달 중인 난모세포들은 배포상의 핵을 가지고 있었으며, 핵 내에는 한 개의 뚜렷한 인이 관찰되었다 (Fig. 2B). 수컷의 경우는 정소소낭 (acinus) 내에 소수의 정원세포들과 정모세포들, 그리고 다수의 정세포들이 중앙 내강을 향해 층상 배열을 나타내고 있었으며 세관의 중앙에는 일부 변태중인 정자들이 출현하였다 (Fig. 3B). 2-5월 사이에 채집된 개체들은 암, 수 모두 후기활성기를 보였다.

3) 완숙기 (ripe stage)

압컷의 경우, 난소소낭 내강 중앙부에는 크기가 70-90 μm 인 완숙 난모세포가 70% 이상을 차지하고 있었다. 난소소낭들은 그 수가 증가하여 족부의 망상 결체조직층까지 차지하게 있었으며 타원형 또는 원형인 완숙 난모 세포들은 커다란 배포상의 핵을 가지고 있었고, 핵 내에 1-2개의 인이 뚜렷하게 나타났다. 그리고 난황막 주변은 젤라틴성 물질에 의해 둘러싸여

있었다 (Fig. 2C, D).

수컷의 경우에는 완숙 정소의 정소소낭 상피의 두께는 아주 얇아졌으며, 정모세포들과 정세포들이 층상 배열을 하고 있었다. 소낭 내강의 중앙부에는 변태된 정자들이 밀집되어 정자의 미부가 생식상피 쪽을 향하고 있으며, 다수의 가락지 모양의 환상 정자속 (sperm ball) 을 형성하여 내강을 가득 채우고 있었다. 정모세포, 정세포들과 내강 중앙에 수많은 변태를 마

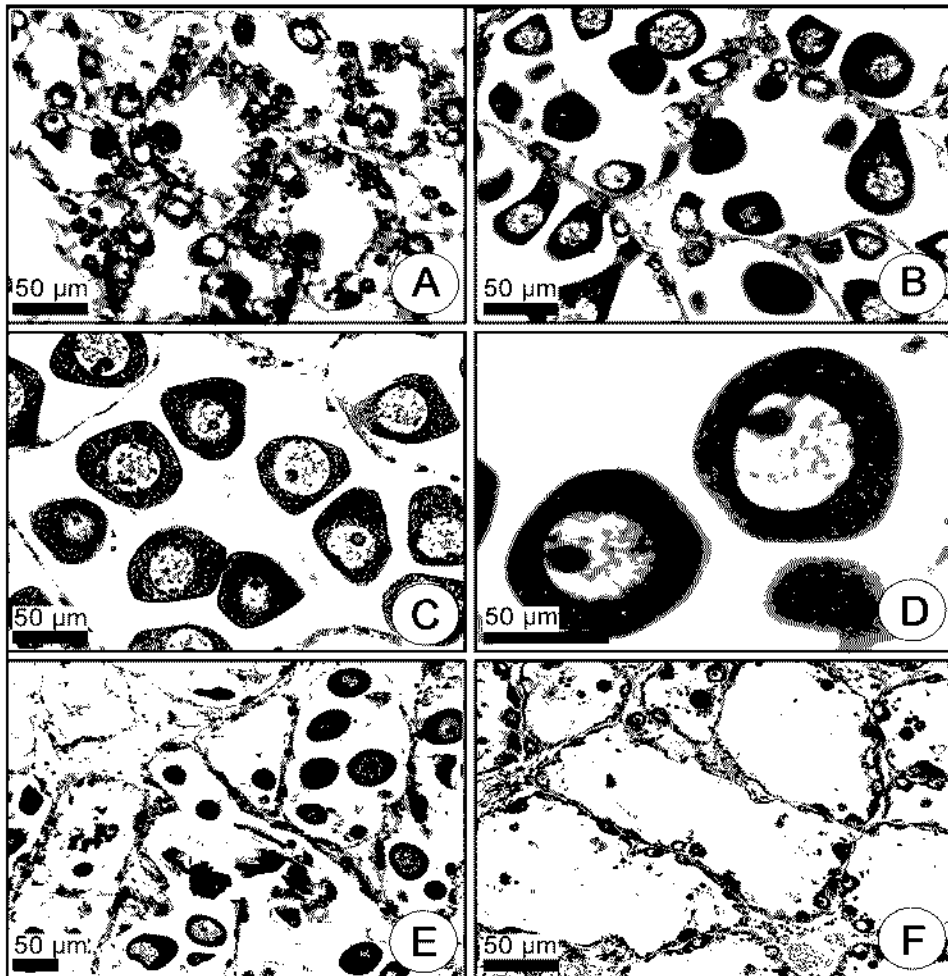


Fig. 2. Photomicrographs of gonadal phases of the female hard clam, *Meretrix petechialis* (A-F). **A**, Section of follicles in the early active stage. Note oogonia and early developing oocytes attached to the germinal epithelium; **B**, section of the follicles in the late active stage. Note a number of late developing oocyte; **C**, section of the follicles in the ripe stage. Note mature and ripe oocytes in the lumen of the follicle; **D**, section of the follicle in the same stage. Note fully mature oocytes with a large germinal vesicle and a number of yolk granules in the cytoplasm; **E**, section of the follicles in the partially spawned stage. Note undischarged oocyte in the lumen of the follicle after spawning; **F**, section of the follicles in the spent/inactive stage. Note newly formed oogonia on germinal epithelium and the connective tissues in follicles after degeneration.

친 정자들이 밀집된 형태로 내강을 가득 채워 완숙기의 특징을 나타내었다 (Fig. 3C). 암컷과 수컷에서 모두 완숙기는 4-8월 사이에 채집된 개체에서 나타났다.

4) 부분산란기 (partially spawned stage)

암컷의 경우, 난모세포들이 방란된 후 소낭의 중앙부는 텅 비어 있었으나, 미방출된 난모세포들도 소수가 잔존하였고, 이 시기에는 소낭벽이 부분적으로 파괴되었다 (Fig. 2E). 수컷의 경우는 정소세관 내강의 중앙부를 가득 채웠던 환상 정자속들

이 방정되어 내강은 텅 비어 있었으나 일부 미방출된 정자들이 정세포들과 함께 잔존하기도 하였다 (Fig. 3D). 부분산란기의 개체들은 암, 수 모두 6-9월 사이에 나타났고, 주 산란 시기는 수온이 22.0°C 전, 후인 7-8월이었다.

5) 퇴화 및 비활성기 (spent/inactive stage)

암컷의 경우, 방란을 마친 후 퇴화 및 붕괴 중인 난소소낭 내에서 일부 잔존 난모세포들이 세포질 붕괴를 일으켜 퇴화와 흡수된 것으로 보였다. 방란 후에 망상결체조직들이 빈 공간을

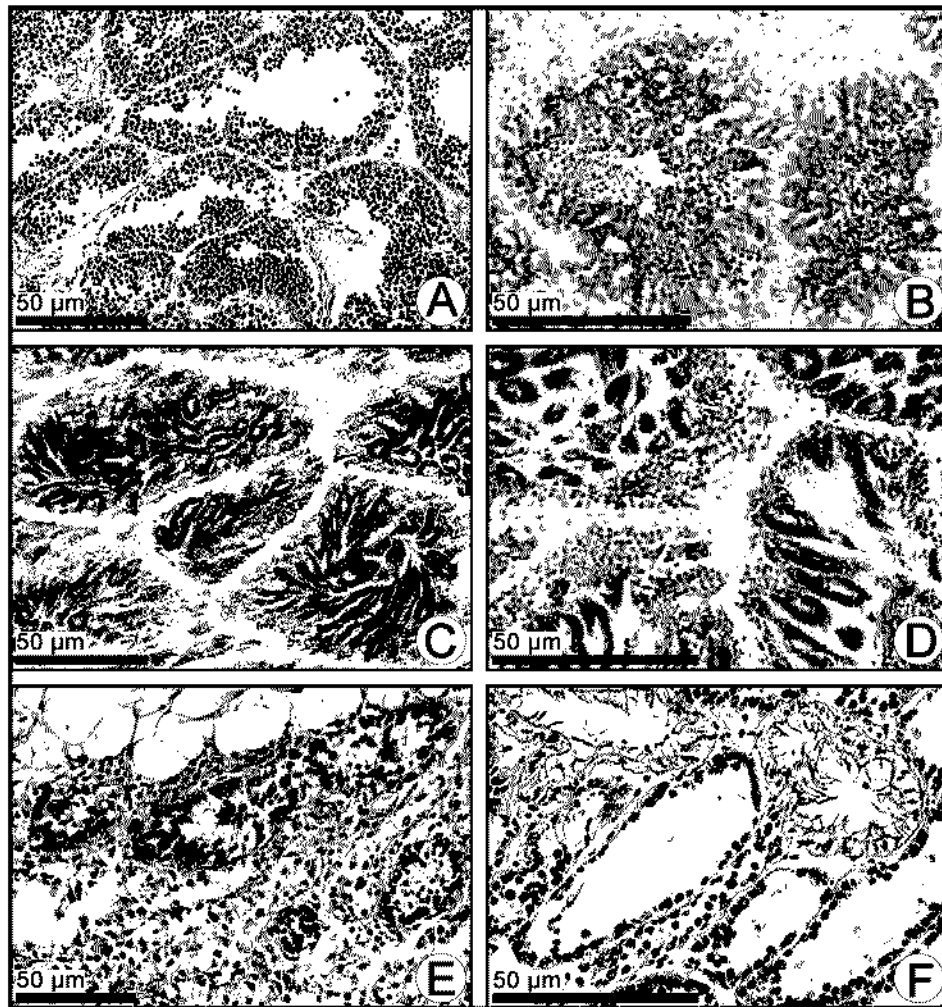


Fig. 3. Photomicrographs of gonadal phases of the male hard clam, *Meretrix petechialis* (A-F). **A**, Section of acini in the early active stage. Note spermatogonia and spermatocytes near the germinal epithelium; **B**, section of the acini in the late active stage. Note spermatocyte, spermatids and spermatozoa during spermiogenesis; **C**, section of the acini in the ripe stage. Note spermatids and numerous spermatozoa in the lumen of the acinus; **D**, section of the acini in the partially spawned stage. Note fully ripe spermatozoa with their tails in the acinus lumen; **E** and **F**, sections of the acini in the spent and inactive stage. Note undischarged spermatozoa, newly formed spermatogonia near the connective tissues in the acini after degeneration.

가득 채우고 있었다. 그 후 새로이 형성된 난소소낭 상피 상에 난원세포들이 일부 출현하여 장기간 잔존하였다 (Fig. 2E, F). 수컷의 경우는 방정 후 퇴화 및 붕괴 중인 정소소낭 내에는 일부 잔존하는 정모세포, 정세포 그리고 퇴화 및 흡수중인 정자들이 출현하였다. 그 후 망상결체조직들이 빈 공간을 채우고 있었고, 새로 생긴 소수의 생식세포들이 분화되어 정소세관의 생식상피에는 소수의 정원세포가 장기간 잔존하였다 (Fig. 3E, F). 퇴화 및 비활성기의 암, 수 개체들은 9월에서 이듬해 2월까지 나타났다.

2. 생식소 발달 관련기관의 부위별 생화학적 성분변화

1) 총단백질 함량변화

총단백질 함량은 내장낭에서 178-291 mg/g의 범위를 보여서 폐각근의 66-135 mg/g 보다 약 두 배 정도 높게 나타났다 (Fig. 4). 분산분석 결과 총단백질 함량의 월별 변화는 폐각근에서는 통계적 유의성이 없었고 ($F = 2.18, p = 0.071$), 내장낭에서는 유의성이 있는 것으로 나타났다 ($F = 40.68, p < 0.001$).

폐각근의 경우, 총단백질 함량은 연중 70-90 mg/g 범위로 거의 일정하였으나, 4월에는 약간 높은 값 (135 mg/g) 을 보였다. 내장낭의 단백질 함량 변화는 1-5월까지 211-315 mg/g로 지속적으로 증가하였고, 5-6월 기간에 급속히 감소하였으며, 이후 10월까지 180-190 mg/g의 일정한 값을 유지하고 있었다. 다중비교 결과, 내장낭에서의 총단백질 함량은 1-2월 ($p = 0.068$), 3-4월 ($p = 0.516$), 6-10월 ($p = 0.137$) 기간 동안 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

생식주기에 따른 백합의 부위별 총단백질 함량의 변화는 폐각근의 경우, 초기활성기인 1-3월까지 큰 변화가 없었으나 후기활성기 및 완숙기인 4월에 최대값에 이른 후 부분산란기인 6, 7월에 점차 감소되어 8월에 최소치를 나타내었고, 퇴화 및 비활성기인 9-10월 사이에 약간 증가되는 경향을 보였다. 내장낭의 경우는 초기활성기 (1-3월), 후기활성기 (3-5월) 및

완숙기인 5월에 최대값을 나타내었고, 그 후 점차 감소하여 7월에 최소치를 이룬 후, 8-10월에 걸쳐 다시 약간 증가하는 양상을 보였다.

2) 총글리코겐 함량변화

총글리코겐 함량은 폐각근에서 15-65 mg/g의 범위로 내장낭에서의 13-31 mg/g보다 높게 나타났다 (Fig. 5). 분산분석 결과 글리코겐 함량의 월 변화는 폐각근 ($F = 237.2, p < 0.001$) 과 내장낭 ($F = 64.04, p < 0.001$) 모두에서 통계적 유의성이 있었다. 폐각근에서 글리코겐 함량은 1-5월 기간에 26-68 mg/g으로 지속적으로 증가하여 5월에 최대로 나타났고, 이후 8월까지 감소하였다. 8월 이후는 20 mg/g 내외의 낮은 값이 유지되고 있었다. 다중비교 결과 폐각근에서의 글리코겐 함량은 8-9월 사이에서만 통계적으로 유의한 차이가 없었다 ($p = 0.999$). 내장낭의 경우, 1월에 14 mg/g으로 낮았으나, 4월의 33 mg/g까지 서서히 증가하였고, 이후 9월까지 25-30 mg/g 범위를 유지하였다. 10월이 되면서 다시 17 mg/g로 감소하였다. 다중비교 결과 내장낭에서의 글리코겐 함량은 2-3월 ($p=0.489$), 7-9월 ($p=0.274$) 기간 동안 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

생식주기에 따른 부위별 총글리코겐 함량의 변화는 폐각근의 경우, 초기활성기, 후기활성기까지 점차 증가하여 완숙기인 4월에 최대치에 이른 후 부분산란기 및 퇴화기인 6-9월까지 서서히 감소된 후 퇴화 및 비활성기인 10월에 약간 증가되는 양상을 보였다. 내장낭의 경우는 1-3월 (초기활성기)까지는 비교적 낮은 값을 보이며 서서히 증가하여 5월 (후기활성기)에 최대에 이른 후 5월 (완숙기) 이후 부분산란 및 퇴화가 일어나는 6-10월까지 서서히 감소되는 경향을 보였다.

폐각근과 내장낭 내 글리코겐 함량변화는 특히, 완숙기인 5월에 역 상관관계를 보여주었는데 이는 총글리코겐 물질이 더 이상 생식소로 이동되지 않는 경우, 최대값에 이른 것을 알 수

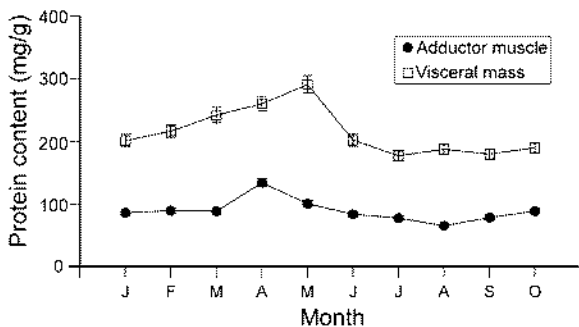


Fig. 4. Monthly changes in protein contents in the adductor muscle and visceral mass of *Meretrix petechialis*.

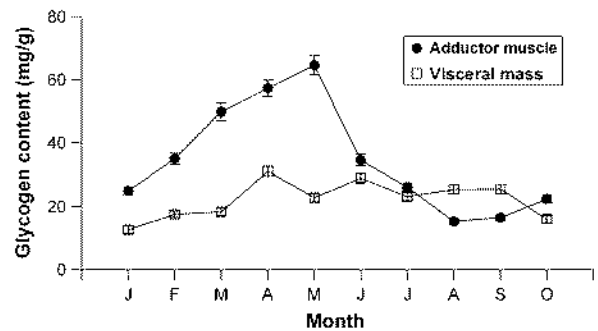


Fig. 5. Monthly changes in glycogen contents in the adductor muscle and visceral mass of *Meretrix petechialis* from January to October, 2002.

있었다.

3) RNA 함량변화

RNA 함량은 내장낭에서 42-87 mg/g의 범위로 폐각근에서의 11-47 mg/g보다 높게 나타났다 (Fig. 6). 분산분석 결과 RNA 함량의 월변화는 폐각근 ($F = 195.2, p < 0.001$) 과 내장낭 ($F = 78.85, p < 0.001$) 모두에서 통계적 유의성이 나타났다. 폐각근에서 RNA 함량은 1-2월에 40-50 mg/g의 범위로 상대적으로 높았다가, 3-4월동안 10-15 mg/g으로 감소하였다. 4월 이후 다시 증가하여 5-10월 기간 동안에는 30-40 mg/g의 범위에서 서서히 증가하며 변화하였다. 다중비교 결과 폐각근에서 RNA 함량은 3-4월 ($p = 0.981$), 5-7월 ($p = 0.9997$), 8-10월 ($p = 0.213$) 기간 동안 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 내장낭의 경우, 1월에 44 mg/g 이었다가 지속적으로 증가하여 5월에는 92 mg/g로 최대값을 기록하였다. 이후 7월까지의 급격히 감소하였고, 8-10월 동안에는 50-60 mg/g의 범위를 나타내었다. 다중비교 결과 내장낭에서 RNA 함량은 1-2월 ($p = 0.059$), 8-10월 ($p = 0.120$) 기간 동안 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

생식주기에 따른 부위별 총 RNA 함량의 변화는 폐각근의 경우, 초기활성기인 1-2월에 높은 값을 나타내었고, 후기활성기인 3-4월에 극감되었으며, 완숙기인 5월에 약간 증가된 후 부분산란기인 6-7월에 다시 낮은 값을 보였다. 그 후 부분산란기 및 퇴화/비활성기인 8-10월까지 다시 증가되는 추세를 보였다. 내장낭의 경우, 1-4월 (초기활성기, 후기활성기, 완숙기) 까지 서서히 총 RNA 함량이 증가하여, 완숙기인 5월에 최대값에 이른 후, 부분산란기인 6, 7월에 급격히 그 값이 감소되었다가 8월에 일시 증가된 다음 퇴화 및 비활성기인 9-10월에 다시 증가되는 경향을 나타내었다.

전반적으로 볼 때 가리비류와 같이 생식소, 소화맹낭, 중장선이 부위별로 구분된 이매패류의 달리 백합은 위 세 가지 부분이 명확하게 구분되지 않아 내장낭으로 분석하여 특정시기 (월) 에 국한되어 폐각근과 내장낭의 생화학적 함량변화가 역

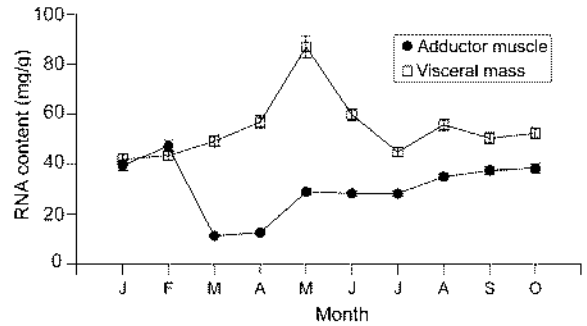


Fig. 6. Monthly changes in RNA contents in the adductor muscle and visceral mass of *Meretrix petechialis* from January to October, 2002.

상관관계를 나타내는 현상을 보였다. 그리고 폐각근 및 내장낭 내 총 RNA 함량 변화 양상은 총단백질 함량 변화 양상과 유사한 경향을 보여 RNA 함량 증가시 단백질 함량의 증가가 일어나고 있음을 알 수 있었다.

4) 상관관계 분석

단백질, 글리코젠, RNA 함량의 변화가 말백합의 폐각근과 내장낭 사이에 서로 상관관계가 있는지 알아보기 위하여 Pearson의 상관계수를 계산하였다 (Fig. 7). 단백질 함량의 경우 폐각근과 내장낭 사이에 통계적으로 유의한 양의 상관관계가 나타났다 ($r = 0.715, p = 0.020$). 글리코젠의 경우에는 양의 상관관계가 있는 것처럼 나타났으나 ($r = 0.216$), 통계적으로 유의하지는 않았다 ($p = 0.550$). RNA의 경우 음의 상관관계가 나타났으나 ($r = -0.233$), 이 또한 통계적으로 유의한 수준은 아니었다 ($p = 0.518$).

고 찰

대부분의 이매패류는 특정 계절에 산란기를 가지는데, 이들의 생식주기를 규명하는 것은 생식생물학적인 면에서 매우 중

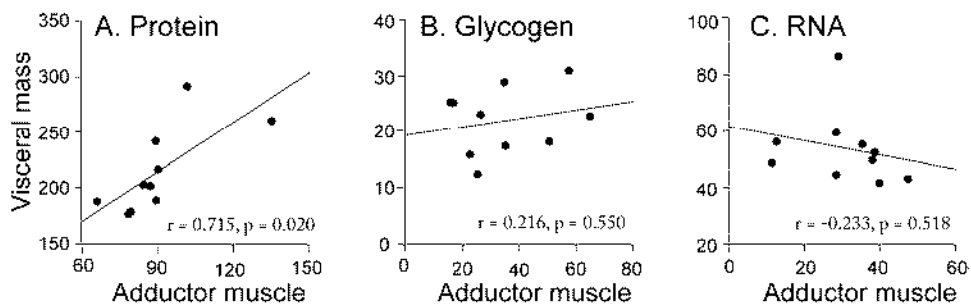


Fig. 7. Correlations of protein (A), glycogen (B), and RNA (C) contents between adductor muscle and visceral mass of *Meretrix petechialis*.

요하다. 이매패류의 생식주기 또는 산란주기의 연구는 역학연구 즉, 연령사정 및 가입기간 뿐만 아니라 생물지질학의 이해에 필수적이다. 생식주기는 생식소의 발달, 산란, 생식소의 퇴화에 이르는 전 과정이다 (Chung, 1997; Chung *et al.*, 1991; Chung and Ryou, 2000).

생식주기 또는 정확한 산란기를 알게 되면 수산생물의 연령을 파악할 수 있으며, 자원량의 가입시기, 어획금지시기를 결정할 수 있는 수산업상 중요한 기초자료가 된다 (Chung and Ryou, 2000). 이매패류에서 생식소 발달 관련 기관들의 생화학적 체성분을 분석한 결과, 생식소 내에서의 생식세포의 성장, 성숙에 관련된 기관의 단백질, 지질, 탄수화물의 함량 변화와 밀접한 관련을 갖는 것으로 보고되어 있다 (Barber and Blake, 1981; Barber *et al.*, 1988; Kang *et al.*, 2000; Chung *et al.*, 2001, 2003, 2004a, b, 2006). Barber (1984) 는 해만가리비 (*Argopecten irradians*) 의 생식소에 영양물질을 공급하는 소화맹낭과 폐각근 내의 영양성분들의 조성 관계를 방사성 동위원소로 추적하여 조사하였던바, 영양분 저장기관인 소화맹낭 내에서 지방산이 생식소로 이동되고 단백질과 글리코겐은 폐각근으로 보내어지며 폐각근 내에서는 글리코겐이 지방산으로 전환된 후 생식소로 이동되어 지방산이 생식소 내에 축적되고, 단백질은 각 기관의 에너지원이 된다고 보고하였다.

지금까지 생식소 발달을 위해 영양 공급을 하는 기관으로 추정되는 생체부위는 족부근육, 외투막, 폐각근, 내장낭, 소화맹낭, 외투막 등으로 알려져 있다. 그러나 이들과 관련하여 최근 연구 보고된 논문들은 단지 폐각근과 내장낭 (가리비류를 제외한 이매패류) 을 중심으로 생화학적 성분의 함량변화를 생식주기와 관련지어 고찰하고 있어 충분한 해석을 하기가 어렵다. 말백합 (*Meretrix petechialis*) 의 생식소 발달단계에 따른 내장낭 내의 총단백질 함량의 월별 변화를 분석한 결과는 통계적으로 유의성을 나타내고 있다 ($F = 40.68, p < 0.001$). 내장낭 내 총단백질 함량변화를 보면, 초기활성기인 1-2월에는 낮은 값을 보였으나 후기활성기인 2-3월에는 다른 이매패류와 달리 점차 증가하는 경향을 보였다가 완숙기인 4, 5월에 최대에 이른다. 그 후 부분산란기인 7-8월에는 감소되었다가 퇴화 및 비활성기에 다시 약간 증가되는 경향을 보였다.

상기 결과를 Chung *et al.* (2004b) 에 의한 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 의 총단백질 분석결과와 비교하여 보면, 일본재첩 내장낭 내의 총단백질 함량은 초기활성기부터 감소되기 시작하여 후기활성기에 최소로 값으로 낮아진 다음, 완숙기에 최대를 이룬 후, 부분산란기에 다시 감소되나 퇴화 및 비활성기에는 다시 증가되는 경향을 보였다고 보고되어 있는데, 일본재첩의 결과는 키조개 (Baik *et al.*, 2001), 바지락 (Chung *et al.*, 2003), 대맛조개 (Chung *et al.*, 2006) 의

생화학적 분석결과와 유사한 경향을 보이고 있다. 그러나 말백합의 결과에서 초기 및 후기활성기의 분석조사 결과를 제외하면 그 이후의 생식소 발달시기에는 거의 유사한 경향을 보이고 있다. 말백합 (*Meretrix petechialis*) 에서 초기 및 후기활성기에 단백질 함량이 증가된 이유가 종 특이성에 관련된 것인지에 관해서는 좀 더 검토해 볼 필요가 있다. 이와 같이, 상기 분석 결과들은 이매패류 종들 사이에는 생식소 발달단계의 일부에서 종간 차이를 조금씩 보이고 있음을 알 수 있다. 그러나 전반적으로 볼 때, 이매패류 종들은 생식소가 성장, 성숙되는 시기에는 난모세포들의 성숙 또는 정자형성을 위해서는 내장낭 내의 생식소 내에서 총단백질 성분이 필요하므로 다른 조직으로부터 영양성분을 받아 들여야 하기 때문에 이 시기에는 이들 성분이 내장낭 내에 최대에 이르는 것으로 사료된다.

말백합의 경우, 폐각근 내 총단백질 함량의 월별 변화는 초기 및 후기활성기에는 비교적 낮은 함량을 나타내나 난모세포가 성장, 발달하는 시기인 4월에는 잠시 약간 증가된 후, 완숙기 및 산란기에 다시 감소하는 경향을 보이다가 퇴화 및 비활성기에 조금씩 다시 증가 하는 경향을 보이고 있다. 이와 같은 현상은 생식소 내에서 생식세포의 성장, 성숙을 위해 폐각근 내 단백질을 단지 에너지 공급원으로 생식소 발달 관련 조직들에 제공한다는 Barber (1984) 의 이론과 관련이 있는 것으로 추정된다.

본 조사에서 글리코겐 함량의 월별 변화는 폐각근과 ($F = 237.2, p < 0.001$) 내장낭 ($F = 64.04, p < 0.001$) 모두에서 통계적으로 유의성을 나타내었다. 폐각근의 경우, 글리코겐의 월별 함량 변화는 후기활성기가 시작되는 2월부터 서서히 증가하여 후기활성기가 끝나는 5월에 최대에 이룬 다음, 완숙 및 부분산란기인 6-8월까지 극감된 후, 퇴화 및 비활성기인 9월에 약간 증가되는 경향을 보였다. 그러나 내장낭의 경우는 폐각근 내의 글리코겐 함량이 극감되기 시작하는 완숙기 및 부분산란기에 오히려 조금씩 증가하는 경향을 나타내었다. 이 결과를 다른 이매패류를 대상으로 조사한 결과들과 비교 검토하여 보면, 종에 따라 조금씩 다르게 특색을 나타내고 있었다. 키조개 (*Atrina pectinata*) 를 대상으로 생화학적 성분 변화를 조사한 보고에 의하면 (Baik *et al.*, 2001), 폐각근 내의 글리코겐 함량 변화는 완숙기 및 산란시기에 폐각근 내의 글리코겐 함량이 내장낭 쪽으로 이동함으로써 이 시기에는 폐각근 내의 글리코겐 함량이 감소되는 반면, 이들 성분이 지방산의 성분으로 전환된 후, 내장낭 내의 생식소 안으로 들어옴으로써 내장낭은 오히려 약간의 양적 증가가 일어나는 것과 관련이 있으며, 이들 성분이 생식소 성숙에 관여하는 것으로 추정하였다 (Barber and Blacke, 1981; Barber, 1984). 따라서 말백합의 글리코겐 함량의 이러한 변화 양상은 Baik *et al.* (2001) 이 보고한 변화 양상과 유사한 경향을 보였으며, Baber

(1984) 가 동위원소로 생화학적 성분의 변화를 추적하여 폐각근 내의 글리코젠이 생식소 내로 이동하는 경로를 밝힌 증거의 일부를 뒷받침하고 있다.

RNA 함량 변화는 내장낭의 경우, 후기활성기가 시작되는 시기인 3월부터 증가되기 시작하여 후기활성기가 끝날 무렵인 5월에 최대에 이른 다음, 완숙기 및 부분산란기에는 감소된 후, 퇴화 및 휴지기에 약간 증가 되는 경향을 보여, 단백질 함량의 월별 변화 양상과 거의 일치하였다. 따라서 생식소 내에서 생식세포의 성장, 발달이 일어나는 시기에는 내장낭 내의 RNA 함량이 크게 증가되어, 단백질 성분 함량이 증가되는 것과 일치하는 경향을 보였다.

폐각근 내의 RNA 함량 변화 역시 초기 및 후기활성기에는 대체로 낮은 값을 보였다. 특히, 후기활성기 중반에는 RNA 함량이 극감되어 최소에 이르나 후기활성기 후반부터 다시 증가된 이후, 완숙기 및 부분산란기에 서서히 약간씩 증가되는 양상을 보여 폐각근 내 단백질 함량의 변화와 유사한 변화 양상을 보였다. 전반적으로 볼 때, 내장낭 내의 RNA 함량 변화 양상은 특히, 단백질 함량 변화와 아주 유사한 양상을 보였다.

이와 같이 RNA 함량 변화에 따라 단백질의 함량이 변화되는 현상은 복족류인 피빨고둥 (*Rapana venosa*) 의 소화선 (digestive gland) 에서도 나타나고 있다 (Chung *et al.*, 1991).

요 약

2002년 1월부터 12월까지 말뚝합 (*Meretrix petechialis*) 을 대상으로 조직학적 관찰에 의해 생식주기를 조사하였고, 생화학적 분석방법에 의해 폐각근 조직과 내장낭 조직의 생화학적 성분 변화를 조사하였다. 본 종의 생식주기는 초기활성기 (1-3월), 후기활성기 (2-5월), 완숙기 (4-8월), 부분산란기 (7-8월) 그리고 퇴화 및 비활성기 (9-2월)로 연속적인 5단계로 구분할 수 있었다.

총단백질 함량은 내장낭에서 폐각근보다 약 2 배 정도 높게 나타났다. ANOVA test 결과, 총단백질 함량의 월별 변화는 폐각근에서 유의한 차이가 없었고 ($p = 0.071$), 내장낭에서는 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.001$). 내장낭 내 단백질 함량은 초기활성기 (1-3월), 후기활성기 (3-5월), 및 완숙기에 높았고, 7월에 가장 낮았다. 글리코젠 함량은 내장낭보다 폐각근에서 더 높았다. 글리코젠 함량의 월별 변화는 폐각근 ($F = 237.2$, $p < 0.001$) 과 내장낭 ($F = 64.04$, $p < 0.001$) 모두에서 유의성을 나타내었다. 글리코젠 함량은 폐각근의 경우, 완숙기인 4월에 최대치에 이른 후, 부분산란기 및 퇴화기인 6-9월까지 서서히 감소하였다. 그리고 내장낭의 경우는 초기활성기까지는 비교적 낮은 값을 보인 후, 후기활성기인 5월에 가장 높았다. RNA 함량은 폐각근보다 내장낭에서 더 높게 나타났다. RNA

함량의 월별 변화는 폐각근 ($F = 195.2$, $p < 0.001$) 과 내장낭 ($F = 78.85$, $p < 0.001$) 모두에서 유의성을 나타내었다. RNA 함량은 폐각근의 경우, 초기활성기인 1-2월에 높았고, 후기활성기인 3-4월에 극감하였으며, 완숙기인 5월에 약간 증가된 후 6-7월에 다시 감소하였다. 그리고 내장낭의 경우는 완숙기인 5월에 가장 높았고, 부분산란기인 6-7월에 급격히 그 값이 감소하였다. 총단백질 함량의 경우 폐각근과 내장낭 사이에 통계적으로 유의한 양의 상관관계가 나타났다 ($r = 0.715$, $p = 0.020$). 글리코젠의 경우에는 양의 상관관계가 있는 것처럼 나타났으나 ($r = 0.216$), 통계적으로 유의한 수준은 아니었다 ($p = 0.550$). RNA의 경우 음의 상관관계가 나타났으나 ($r = -0.233$), 이 또한 통계적으로 유의한 수준은 아니었다 ($p = 0.518$).

전반적으로 볼 때, 가리비류와 같이 생식소, 소화맹낭, 중장선이 부위별로 구분이 된 이매패류와 달리 백합은 위 3가지 부분이 명확하게 구분되지 않아 내장낭으로 분석하여 특정시기 (월) 에 국한되어 폐각근과 내장낭의 생화학적 함량변화가 역상관관계를 나타내는 현상을 보였다. 특히, 폐각근과 내장낭 내 총 RNA 함량 변화 양상은 총단백질 함량 변화 양상과 유사한 경향을 보여 RNA 함량 증가시 단백질 함량의 증가가 일어나고 있음을 알 수 있었다.

REFERENCES

- Baik, S.H., Kim, K.J., Chung, E.Y., Choo, J.J. and Park, K.H. (2001) Seasonal variation in biochemical components of the visceral mass and adductor muscle in the pen shell, *Atrina pectinata*. *Journal of the Fisheries Science and Technology*, **4**: 18-24.
- Barber, B.J. and Blake, N.J. (1981) Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **52**: 121-134.
- Barber, B.J. (1984) Reproductive energy metabolism in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* (Say). 122 p. Ph. D. Thesis, University of South Florida, Tampa.
- Barber, B.J., Getchell, R., Shumway, S. and Shick, D. (1988). Reduced fecundity in a deep-water population of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, in the Gulf of Maine, U.S.A. *Marine Ecology Progress Series*, **42**: 207-212.
- Choi, S.S. and Song, Y.K. (1974) Studies on the artificial fertilization and development of *Meretrix lusoria*. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, **7**(1): 1-6. [in Korean]
- Choi, S.S. (1975) Comparative studies on the early embryonic development and growth of *Meretrix lusoria* and *Cyclina sinensis*. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, **8**(3): 185-195. [in Korean]
- Chun, S.K. and Lee, J.B. (1976) Studies on the

- trematode larvae infected in the hard clam, *Meretrix lusoria*. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, **9**(1): 35-42. [in Korean]
- Chun, S.K., Chang, D.S., Park, C.K., Kim, Y.G. and Rho, Y.G. (1981) Basic studies for the production of the hard clam *Meretrix lusoria* (RÖDING) in Jeonbug farming area. *Bulletin of Fisheries Research Development Agency*, **26**: 7-36. [in Korean]
- Chung, E.Y., Lee, T.Y. and An, C.M. (1991) Sexual maturation of the venus clam, *Cyclina sinensis*, on the west coast of Korea. *Journal of Medical and Applied Malacology*, **3**: 125-136.
- Chung, E.Y. (1997) Ultrastructural study of germ cell development and reproductive cycle of the hen clam, *Macra chinensis* on the west coast of Korea. *Development and Reproduction*, **1**: 141-156.
- Chung, E.Y. and Ryou, D.K. (2000) Gametogenesis and sexual maturation of the surf clam *Macra veneriformis* on the west coast of Korea. *Malacologia*, **42**: 149-163.
- Chung, E.Y., Kim, S.Y. and Park, K.H. (2001) Changes on biochemical composition of the digestive gland of the female purple shell, *Rapana venosa*, in relation to the ovarian developmental phases. *The Korean Journal of Malacology*, **17**(1): 27-33. [in Korean]
- Chung, E.Y., Kim, J.B., Moon, J.H. and Hur, S.B. (2003) Changes in biochemical composition of the adductor muscle and visceral mass tissues of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, in relation to gonad developmental phases. *The Korean Journal of Malacology*, **19**(1): 41-51. [in Korean]
- Chung, E.Y., Park, K.H., Kim, J.B. and Lee, C.H. (2004a) Seasonal changes in biochemical components of the adductor muscle and visceral mass tissues in the female *Cyclina sinensis*, in relation to gonad developmental phases. *The Korean Journal of Malacology*, **20**(1): 85-92. [in Korean]
- Chung, E.Y., Kim, J.B., Kwak, O.Y. and Lee, C.H. (2004b) Seasonal changes in biochemical component of the adductor muscle, visceral mass and foot muscle of *Corbicula japonica*, in relation to gonad developmental phases. *The Korean Journal of Malacology*, **20**(2): 111-120. [in Korean]
- Chung, E.Y., Kim, H.J., Kim, J.B. and Lee, C.H. (2006) Changes in biochemical components of several tissue in *Solen grandis*, in relation to gonad developmental phases. *The Korean Journal of Malacology*, **22**(1): 27-38. [in Korean]
- Hatanaka, M., Imai, T. and Sato, R. (1943) On the cultivations of *Tapes philippinarum* and *Meretrix lusoria*. *Bulletin of the Japanese Society Fisheries Science*, **11**(5, 6): 218-223. [in Japanese]
- Hur, Y.B. (1994) Comparative studies on the embryonic development and the growth of larvae of eight bivalve species. 82 p. A thesis submitted for degree of the Master, Graduate School, National Fisheries University of Pusan. [in Korean]
- Ikuta, K. (1988a) Heavy metal concentrations and year-class structure of a venus clam *Meretrix lusoria*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**(4): 709-715. [in Japanese]
- Ikuta, K. (1988b) Seasonal variations of some heavy metal concentrations in a venus clam *Meretrix lusoria*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**(4): 817-822. [in Japanese]
- Iwata, K. (1948) Artificial discharge of reproductive substance by potassium salts injection in *Venerupis philippinarum*, *Meretrix lusoria* and *Macra sulcataria*. *Bulletin of the Japanese Society Fisheries Science*, **13**(6): 237. [in Japanese]
- Kang, C.K., Park, M.S., Lee, P.Y., Choi, W.J. and Lee, W.C. (2000). Seasonal variations in condition reproductive activity, and biochemical composition of the pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in two coastal bays of Korea. *Journal of Shellfish Research*, **19**: 771-778 [in Korean].
- Lee, J.H. (1997) Histological studies on the gametogenesis and reproductive cycle of the hard clam, *Meretrix lusoria*. *The Korean Journal of Malacology*, **13**(2): 131-141. [in Korean]
- Lee, J.Y. (1991) Effects of some hazardous substances on the physiological function for hard clam, *Meretrix lusoria*. *Bulletin of the Kunsan Fisheries Junior College*, **25**(2): 29-33. [in Korean]
- Lee, J.Y. and Kim, Y.G. (1991) Environmental survey on the cultivation ground in the west coast of Korea. *Journal of Aquaculture*, **4**(2): 111-128. [in Korean]
- Min, D.K., Lee, J.S., Koh, D.B. and Je, J.G. (2004). Mollusks in Korea (revised supplementary edition). 566 p. Min Molluscan Research Institute. Seoul. [in Korean]
- Taki, I. (1949) Spawning season of *Meretrix lusoria* (Bivalves) in Tokyo Bay in 1947. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries*, **15**(9): 479-486. [in Japanese]
- Tanaka, Y. (1954) Spawning season of important bivalves in Ariake Bay III. *Tapes philippinarum*. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries*, **19**(12): 1165-1167. [in Japanese]
- Tanaka, Y. (1969) Studies on propagation of a hard clam, *Meretrix lamarckii*-1. Artificial breeding. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, **58**: 163-168. [in Japanese]
- Yoo, J.S. (1976) Korean Shells in Colour. pp. 129-130. Ilgisa, Seoul. [in Korean]