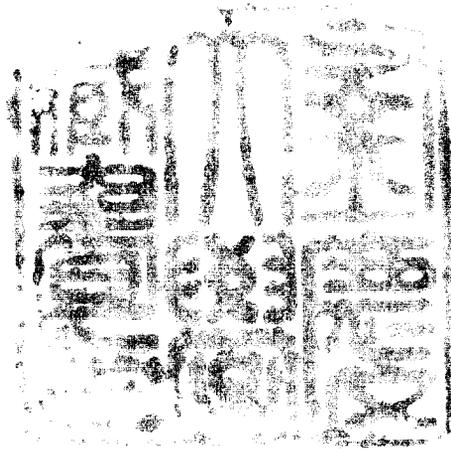


수산학석사 학위논문

다슬기과 3종의 번식주기와 출산유도



2002년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

장 해 진

수산학석사 학위논문

다슬기과 3종의 번식주기와 출산유도

지도교수 장 영 진

이 논문을 수산학석사 학위논문으로 제출함

2002년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 물 학 과

장 해 진

장해진의 수산학석사 학위논문을 인준함

2001년 12월 일

주 심 이 학 박사 허 성 범 

위 원 수 산 학 박사 방 인 철 

위 원 농 학 박사 장 영 진 

목 차

Abstract	iii
I. 번식주기	1
1. 서 론	1
2. 재료 및 방법	3
2.1. 재료의 채집	3
2.2. 상대성장	3
2.3. 생식소의 구조 및 발달	4
2.4. 생식세포의 미세구조	4
2.5. 난경분포	4
2.6. 보육낭의 유생조성	5
2.7. 번식주기	6
3. 결 과	7
3.1. 다슬기	7
3.1.1. 채집지의 수온	7
3.1.2. 상대성장	7
3.1.3. 생식소의 구조 및 발달	9
3.1.4. 생식세포의 미세구조	11
3.1.5. 난경분포	13
3.1.6. 보육낭의 유생조성	16
3.1.7. 번식주기	17
3.2. 꽃채다슬기	19
3.2.1. 채집지의 수온	19
3.2.2. 상대성장	19
3.2.3. 생식소의 구조 및 발달	21
3.2.4. 생식세포의 미세구조	23
3.2.5. 난경분포	25
3.2.6. 보육낭의 유생조성	27
3.2.7. 번식주기	28
3.3. 염주알다슬기	30
3.3.1. 채집지의 수온	30
3.3.2. 상대성장	30

Reproductive Cycle and Parturition Induction in Three Species of the Pleuroceridae

Hae Jin Chang

*Department of Fisheries Biology, Graduate School,
Pukyong National University,
Busan 608-737, Korea*

Abstract

This study was performed, from January, 1998 to January, 2001, to obtain the basic information of the reproductive cycle and the induction of parturition in the three species of freshwater snail, *Semisulcospira libertina libertina*, *Semisulcospira gottschei* and *Koreanomelania globus* (Mesogastropoda; Pleuroceridae).

1. Reproductive cycle

Three species of Pleuroceridae had two main reproductive cycle. *S. libertina libertina* could be divided into five successive stages: multiplicative (March, October), growing (April and May, November), mature (June and July, December), ovulation (August, January) and resting (September, February) stages in female and multiplicative (March, October), growing (April, November), mature (May and June, December), copulatory (July and August, January), resting (September, February) stages in male. Two main parturition periods of *S. libertina libertina* were March to May and September and October.

Reproductive cycle of *S. gottschei* could be divided into five successive

stages: multiplicative (February, September), growing (March, October), mature (April and May, November), ovulation (June and July, December) and resting (August, January) stages in female and multiplicative (February, August), growing (March and April, September), mature (May, October to December), copulatory (June, December) and resting (July, January) stages in male. Two main parturition periods of *S. gottschei* were April and May, September and October.

The reproductive cycle of an oviparous freshwater snail, *K. globus* could be divided into five successive stages: multiplicative (March, September), growing (April and May, October and November), mature (June, December), spawning (July, January) and recovery (August, February) stages in female and multiplicative (March, September), growing (April and May, October), mature (June, November), spawning (July, December and January) and recovery (August, February) stages in male.

2. Parturition induction

This study investigated the parturition time, number of newly parturient embryo and parturition rate of embryo to various stimuli on ovoviviparous freshwater snails, *S. libertina libertina* and *S. gottschei*. *S. gottschei* were more effective than *S. libertina libertina* to parturition induction. Two species not responded to exposure of NH_4OH and H_2O_2 and showed to response the rising of water temperature and the exposure of serotonin and acetylcholine, but only *S. gottschei* responded to the air exposure. In case of *S. libertina libertina* exposed in 10^{-9} M acetylcholine, the number of newly parturient embryo was 62 inds., which was the most among experimental groups, and parturition rate of embryo was higher than other groups. In *S. gottschei*, the number of newly parturient embryo was 98 inds. at 9°C , which was the most among experimental groups. The number of newly parturient embryo was 78 inds. at the exposure of 10^{-12} M acetylcholine.

It could be concluded that the treatment of acetylcholine showed an positive effect in the seedling production of *S. libertina libertina* and *S. gottschei*.

I. 번식주기

1. 서론

다슬기류는 복족강(Gastropoda), 전새아강(Prosobranchia), 중복족목(Mesogastropoda), 다슬기과(Pleuroceridae)로 분류되며, 한국을 비롯하여 일본, 대만, 중국 등에 널리 분포하고 있다. 우리나라에는 2속 9종이 서식하는 것으로 보고되고 있으며, 이들은 자웅이체로서 난생 또는 난태생이다. 이중 다슬기(*Semisulcospira libertina libertina*)와 곶채다슬기(*Semisulcospira gottschei*)는 다슬기속(*Semisulcospira*속)으로 난태생종이며, 염주알다슬기(*Koreanomelania globus*)는 알다슬기속(*Koreanomelania*속)으로 난생종이다(Kwon, 1990).

우리나라의 강, 호수, 연못 및 계곡 등에 널리 서식하고 있는 다슬기류는 식용으로서 기호도가 높은 유용 수산자원이다. 그러나 최근에는 생활하수, 농약, 중금속 등에 의한 다슬기 서식지 오염과 행락객의 무분별한 채취로 인해 자원이 급격히 줄어들고 있는 실정이다. 이와 같이 감소된 다슬기에 대한 자연 자원 보호 및 증·양식 기술 개발이 중요한 과제로 등장하고 있으며, 이 종에 대한 번식생물학적 연구와 양식산업에 이용하기 위한 종묘생산 및 양식기술 개발 관련 연구가 필요하다. 이를 위해서 조직학적 방법에 의해 다슬기의 번식 주기를 파악하는 것은 종묘생산을 위한 기초지식을 얻는 데 중요한 자료가 된다.

다슬기에 관해 국외에서는 생태학적 연구(Habe and Itagaki, 1978), 생식기관의 해부·조직학적 연구(Nakano and Nishiwaki, 1989), 배우자 형성과 보육낭 배조성의 계절적 변화(Koike et al., 1992), 번식생태(Nakano and Izawa, 1996) 등의 번식생물학적인 연구가 진행되고 있다. 우리나라에서는 태백산맥을 중심으로 한 주름다슬기(*S. forticosta*)의 분포(Kil, 1977), 다슬기의 기생충학적 연구(Im et al., 1986), 영양학적 성분(Kim et al., 1985) 및 세포학적 연구(Kim

et al., 1987) 등이 보고되고 있다.

패류의 생식주기에 대하여는 소라 *Turbo cornutus* (Lee, 1980), 빨조개 *Anodonta* (*Sinanodonta*) *woodiana* (Chung, 1980), 새조개 *Fulvia mutica* (Chang and Lee, 1982), 맛조개 *Solen strictus* (Chung et al, 1986), 바지락 *Ruditapes philippinarum* (Chung et al., 1994), 참가리비 *Patinopecten yessoensis* (Chang et al., 1985; Chang et al., 1997), 참굴 *Crassostrea gigas* (Min, 1999), 왕우럭 *Tresus keenae* (Kim et al., 1999) 등의 연구가 보고되고 있으나, 다슬기류에 있어서는 꽃체다슬기의 생식시기에 관한 조직학적 연구(Kang, 1986)가 있을 뿐, 다슬기류의 번식에 관련된 기초생물학적인 연구는 찾아보기 힘든 실정이다. 또한 다슬기류는 지역에 따른 개체변이가 심하므로, 다슬기류의 종에 따른 생식기관 및 번식기구에 관한 세부적인 연구가 필요하다.

그러므로 본 연구에서는 다슬기, 꽃체다슬기 및 염주알다슬기를 대상으로 종별 서식지 수온을 조사하고, 조직학적 방법 및 월별 난경분포에 의해 생식세포 발달단계와 번식주기를 파악하였다. 또한 난태생인 두 종의 다슬기에 대하여는 보육낭의 유생조성을 조사하여, 출산시기를 구명함으로써, 담수고둥의 번식기구 및 종묘생산 기술개발에 관한 기초자료를 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료의 채집

본 연구에 사용된 다슬기는 1998년 1월부터 12월까지 경상남도 양산시 내원사 계곡에서, 곶채다슬기와 염주알다슬기는 강원도 평창군 평창강 유역에서 각각 2000년 1월부터 12월, 2000년 2월부터 2001년 1월까지 채집하였다. 채집시 봉상온도계를 이용하여 수온을 조사하였으며, 채집된 개체중 형태가 정상적인 것으로 다슬기는 매월 40마리를, 곶채다슬기와 염주알다슬기는 매월 20마리를 선택하여 각고 및 각경은 버니어 캘리퍼스로 0.01 mm까지 측정하였고, 패각으로부터 육질부를 분리하여 육중(meat weight: MW)과 각중 (shell weight: SW)을 조사하였다. 이때 전중, 육중 및 각중은 정밀저울(Denver Instrument Company, U.S.A)을 이용하여 0.01 g까지 계량하였다(Table I-1).

Table I-1. Number and size of three species freshwater snails used for the experiment

Species	No. of specimens	Shell height (mm)	Shell diameter (mm)	Total weight (g)	Meat weight (g)	Shell weight (g)
<i>Semisulcospira libertina</i>	480	15.9±3.4	7.8±1.4	0.6±0.3	0.2±0.1	0.4±0.2
<i>Semisulcospira gottschei</i>	240	27.3±3.4	11.5±1.2	1.7±0.5	0.8±0.2	0.9±0.3
<i>Koreanomelania globus</i>	240	15.5±2.1	9.2±1.5	1.1±0.5	0.5±0.2	0.6±0.3

2.2. 상대성장

생체측정 자료를 토대로 하여 각고에 대한 각경, 전중, 육중 및 각중의 상대성장식을 구하였으며, 기울기 차와 상관계수의 유의차 유무는 Computer

Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul, Min. USA)로 분산분석을 실시하고 최소 유의차를 검정하였다.

2.3. 생식소의 구조 및 발달

생식소의 구조를 파악하기 위하여 육질부를 Bouin 용액에 고정한 후, 종횡으로 연속절편을 만들어 생식소의 해부학적 위치를 조사하였다.

생식세포의 발달과정을 관찰하기 위하여 계측 직후 생식소 일부를 절취하여 Bouin 용액에 고정한 후, 파라핀 절편법에 따라 5~7 μm 의 절편을 제작하였다. 제작된 표본은 Harris's haematoxylin과 0.5% eosin으로 이중염색하였으며, 생식세포의 발달단계는 광학현미경으로 관찰하여 구분하였다.

2.4. 생식세포의 미세구조

다슬기류의 생식세포의 미세구조를 파악하기 위하여, 생식소의 일부를 0.1 M phosphate buffer solution (PBS, pH 7.2)으로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2시간 동안 전고정(pre-fixation)하였다. 이후 PBS 완충액으로 세척한 다음 1% OsO₄ (phosphate buffer, pH 7.3)에 2시간 동안 후고정을 하고, 50~100% 단계별 ethanol에 15분씩 탈수하였다. 탈수가 끝나면 ethanol을 propyleneoxide로 교환하고, propyleneoxide와 epon의 혼합액에 넣어 침투시킨 후, epon 812에 포매하여, 35, 45 및 60°C에서 각각 12, 12 및 48시간씩 중합시켰다. 포매된 생식세포의 시료는 ultramicrotome (LKB, Nova, Sweden)을 이용하여 0.5 μm 두께로 semithin section한 다음, toluidine blue로 염색하여 관찰할 부위를 결정하였다. 관찰부위가 정해진 포매 시료는 다시 70 nm 두께로 초박절(ultrathin section)하였다. 초박절한 절편은 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경(JEM 1200 E-XII, 60~80 kV, JEOL, Japan)으로 관찰하였다.

2.5. 난경분포

난경의 변화는 매월 2~5개의 서로 다른 조직표본에서 난모세포내 핵과 인 이 횡단된 것만을 골라 현미경과 연결된 컴퓨터의 화상분석프로그램(Matrox

Electronic Systems Ltd, Canada)을 이용하여 장경과 단경을 측정 한 후, 그 평균값을 이용하여 월별 평균난경과 난경분포를 조사하였다.

2.6. 보육낭의 유생조성

보육낭의 유생수 및 유생 단계별 조성을 조사하기 위하여, 매월 개체별로 보육낭의 존재 유무를 파악하고, 분리한 보육낭으로부터 유생을 적출하여 광학현미경으로 유생수와 유생의 발달단계를 관찰하였다. 유생의 발달단계는 Nakano (1990)의 방법을 이용하여 거의 원형에 가까운 형태의 trochophore (T), 섬모를 갖고 있으며 torsion이 시작되는 단계인 pre-veliger (P), 1회의 torsion과 패각형성 단계의 veliger (V), 2회 이상의 torsion과 눈, 더듬이 등의 기관이 관찰되는 juvenile (J)의 4단계로 구분하여 계수하였다 (Fig. I-1).

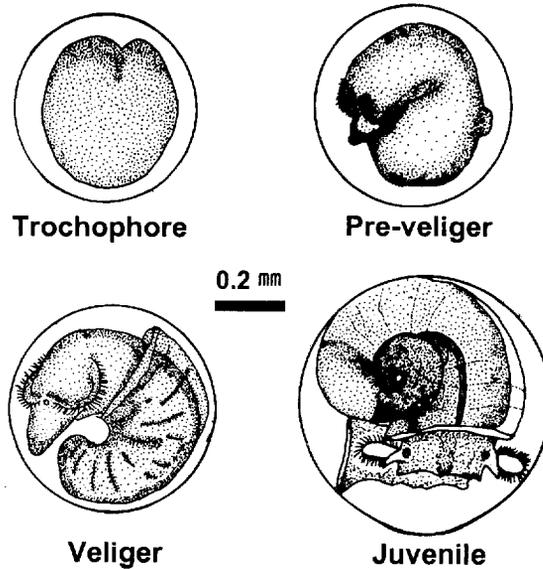


Fig. I-1. Four stages of larvae by morphological characteristics.

2.7. 번식주기

매월 제작된 조직표본은 Chang and Lee (1982)의 방법을 준용하여 난태생 종인 다슬기와 곳체다슬기는 분열증식기(multiplicative stage: Mu), 성장기(growing stage: G), 성숙기(mature stage: M), 배란기(ovulation stage: O) 및 교미기(copulatory stage: C), 휴지기 (resting stage: R)로, 난생종인 염주알다슬기는 분열증식기(multiplicative stage: Mu), 성장기(growing stage: G), 성숙기(mature stage: M), 산란기(spawning stage: S) 및 회복기(recovery stage : R)의 연속적인 5단계로 구분하였다.

3. 결 과

3.1. 다슬기

3.1.1. 채집지의 수온

다슬기 채집지역의 월별 수온은 연중 1.3~22.5℃로, 2월부터 서서히 높아지기 시작하여 9월에 22.5℃로 최고값을 보였으며, 12월에 1.3℃로 최저값을 나타냈다(Fig. I-2).

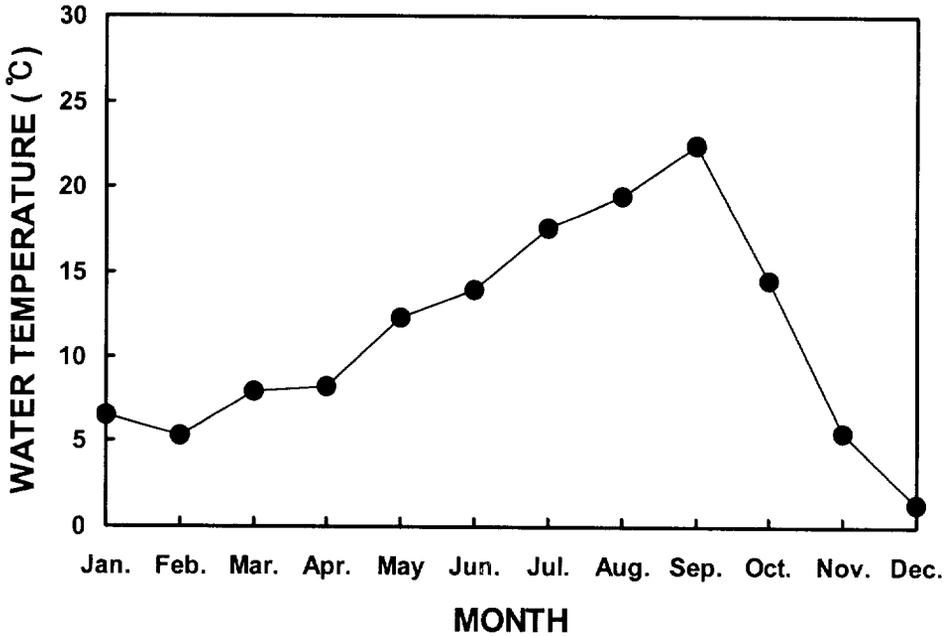


Fig. I-2. Monthly changes of water temperature at the habitat of *Semisulcospira libertina libertina*.

3.1.2. 상대성장

조사 기간 동안 480 개체에 있어 각고에 대한 각경의 상대성장과 각고에 대한 전중, 육중 및 각중의 상대성장을 Fig. I-3에 나타냈다. 각고(SH)와 각경(SD)의 관계는 $SD=0.3583SH+2.1648$ ($R^2=0.8345$)의 회귀직선(回歸直線)으로 나타났

다. 한편 각고(SH)에 대한 전중(TW), 각고(SH)에 대한 육중(MW) 및 각고(SH)에 대한 각중(SW)의 상대성장은 각각 $TW=0.0005SH^{2.4853}$ ($R^2=0.8953$), $MW=0.0004SH^{2.849}$

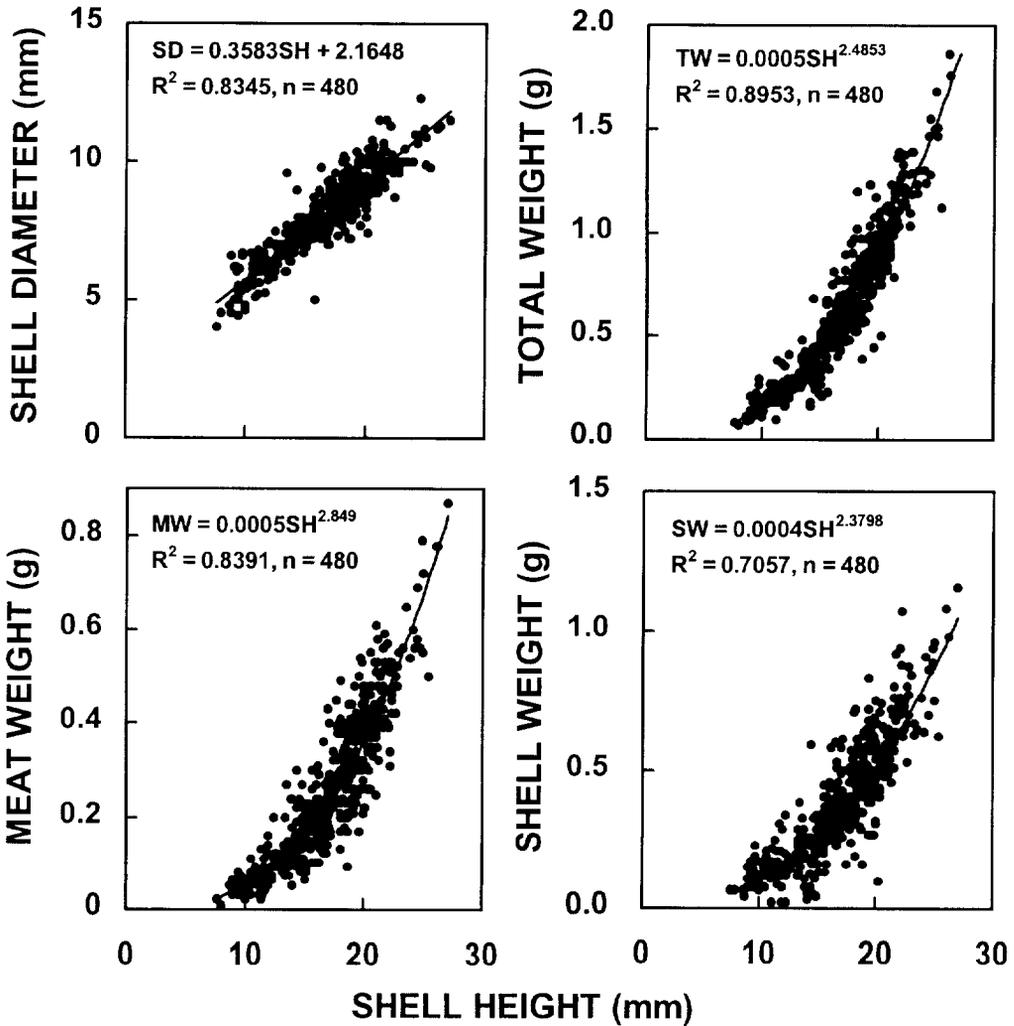


Fig. I-3. Relative growth between shell height (SH), shell diameter (SD), total weight (TW), meat weight (MW) and shell weight (SW) of *Semisulcospira libertina libertina*.

($R^2=0.8391$), $SW=0.0004SH^{2.3798}$ ($R^2=0.7057$)의 지수함수 관계를 보였다. 각각의 상대 성장에 대한 상관계수의 차이를 검정한 결과, 각고에 대한 각경, 전중, 육중 및 각중 사이의 유의한 차이를 나타냈다($P<0.05$).

3.1.3. 생식소의 구조 및 발달

다슬기의 생식소는 소화맹낭(digestive diverticula)의 위쪽 표면부터 몸체 후부 끝까지 연장되어 있었으며, 난소는 난소소낭, 정소는 정소세관으로 이루어져 있었다. 외형적으로 다슬기의 암컷과 수컷을 구별하는 것은 어려웠으나, 패각을 제거한 후 관찰한 결과, 생식소 부위의 색이 암컷은 청록색, 수컷은 황색을 나타내고 있었고, 보육낭(brood pouch)의 유무로써 2차적으로 성 판별이 가능하였다. 조직학적으로 관찰한 결과, 다슬기는 자용이체였으며, 난소에는 각정의 축주(columellar) 옆을 길게 달리는 수란관(oviduct)이, 정소에서는 수정관(vas deferens)이 관찰되었다. 수정관은 좁은 관으로 비어있을 땐 거의 보이지 않았지만, 정자로 가득차 있을 때 유백색을 띠어 쉽게 판별할 수 있었다.

다슬기의 암·수 생식소를 조직학적으로 관찰한 결과, 다음과 같이 분열증식기, 성장기, 성숙기, 배란 및 교미기, 휴지기의 연속적인 5단계로 구분할 수 있었다.

분열증식기 (multiplicative stage: Mu)

난소소낭의 생식상피상에서 난원세포가 활발히 분열증식하여 난원세포 수가 증가하였다. 난원세포의 직경은 $20 \mu\text{m}$ 내외였으며, 핵과 인이 뚜렷이 관찰되었다. 정소에서는 정소세관의 생식상피상에서 정원세포가 분열증식하여 점차 정소세관 내측으로 발달하고 있었다(Fig. I-4 Mu).

성장기 (growing stage: G)

난소에서는 성장을 시작한 난모세포들이 난소소낭을 채우기 시작했으며, 핵과 더불어 세포질의 빠른 양적 증가를 관찰할 수 있었다. 성장한 난모세포의 직경은 $100\sim300 \mu\text{m}$ 였다. 정소에서는 분열증식을 마친 정원세포가 제1차 정모

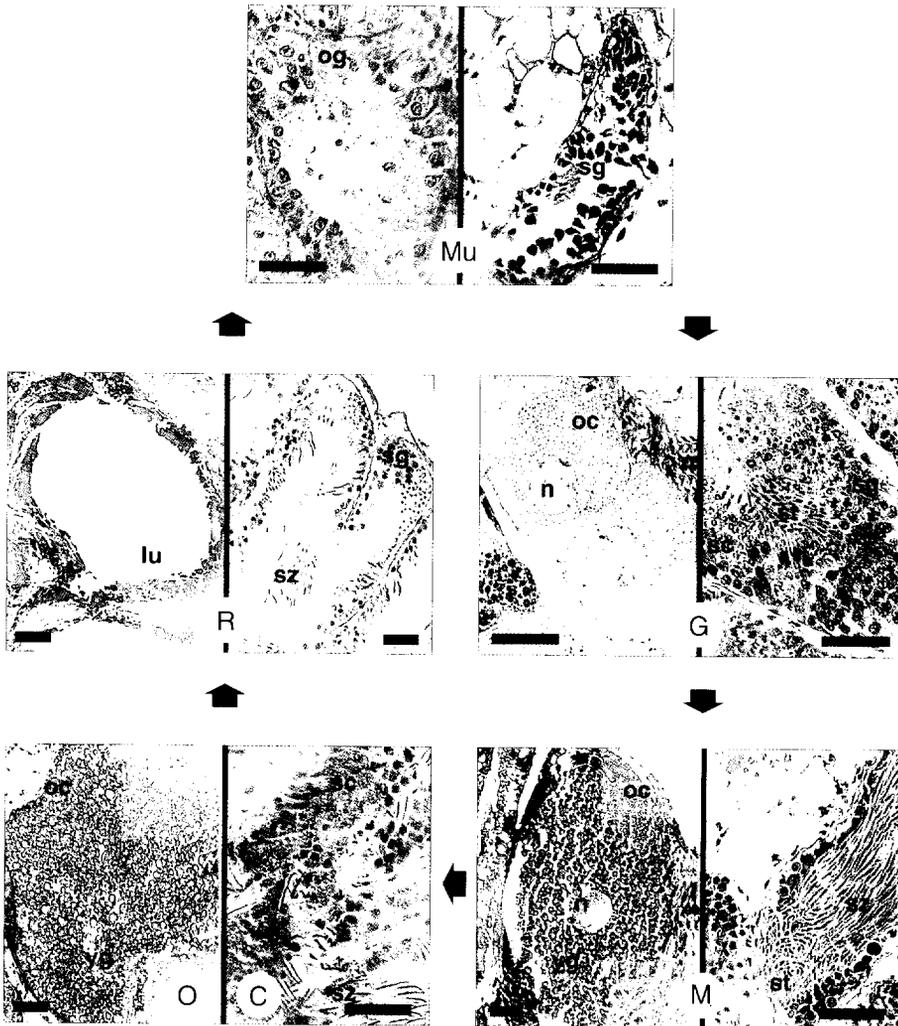


Fig. 1-4. Histological identifications of the gonad stages in *Semisulcospira libertina libertina*. Left side of each photograph shows ovary and right side shows testis. Mu: multiplicative stage, G: growing stage, M: mature stage, O: ovulation stage, C: copulatory stage, R: resting stage. lu: lumen, n: nucleus, oc: oocyte, og: oogonia, sc: spermatocyte, sg: spermatogonia, st: spermatid, sz: spermatozoa, yg: yolk granule. Scale bar=50 μ m.

세포로 발달하였다. 제1차 정모세포는 제1차 성숙분열을 거쳐 제 2차 정모세포로 발달하여 정소세관 내강을 가득 채우고 있었으며, 제2차 정모세포는 성숙분열에 의해 정세포로 되었다(Fig. I-4 G).

성숙기 (mature stage: M)

난소에서는 난모세포가 성장을 거듭하여, 세포질에 난황물질을 축적하여 성숙란의 모양을 갖추었으며, 대부분이 타원형이었다. 핵의 이동이 관찰되었으며, 성숙한 난모세포는 직경이 300~500 μm 였고, 핵경은 50~100 μm 였다. 정소에서는 생식상피 주변에 정모세포들과 정세포들이 존재하고 정소세관의 중앙에는 성숙 변태한 정자들이 세관의 내강을 채움으로써 물결모양의 흐름을 이루었다(Fig. I-4 M).

배란기 (ovulation stage: O) 및 교미기 (copulatory stage: C)

난소에서는 호산성 색소에 진하게 염색되는 난황과립이 충만하고 핵 이동이 완료된 다수의 난모세포가 관찰되었다. 배란기 난모세포는 직경 450~600 μm 로 성숙기의 난모세포 크기와 비슷하였다(Fig. I-4 O). 정소에서는 정자들이 체외로 방출되어 물결모양의 정자배열은 없어지고, 일부 미방출된 정자가 관찰되는 조직상을 보였다(Fig. I-4 C).

휴지기 (resting stage: R)

배란·교미가 끝난 난소소낭 및 정소세관은 위축되었고, 내강이 비어 있는 조직상을 보였다. 그러나 소낭내에는 미방출된 난모세포도 관찰되었으며, 정소세관을 가득 채웠던 정자들 중에 일부 방출되지 않고 잔존해 있는 정자가 관찰되었다(Fig. I-4 R).

3.1.4. 생식세포의 미세구조

다슬기의 난모세포는 난소소낭 상피세포에 붙어서 소낭으로부터 영양물질을 공급받으며 성장한다. 난황형성기 난모세포는 전자밀도가 높은 인(nucleolus, NU)을 가진 핵(nucleus, N)이 이중의 단위막으로 둘러싸여 있으며, 세포질에는 전자밀도가 높은 다량의 난황과립(yolk granule, YG)과 전자밀도가 낮은

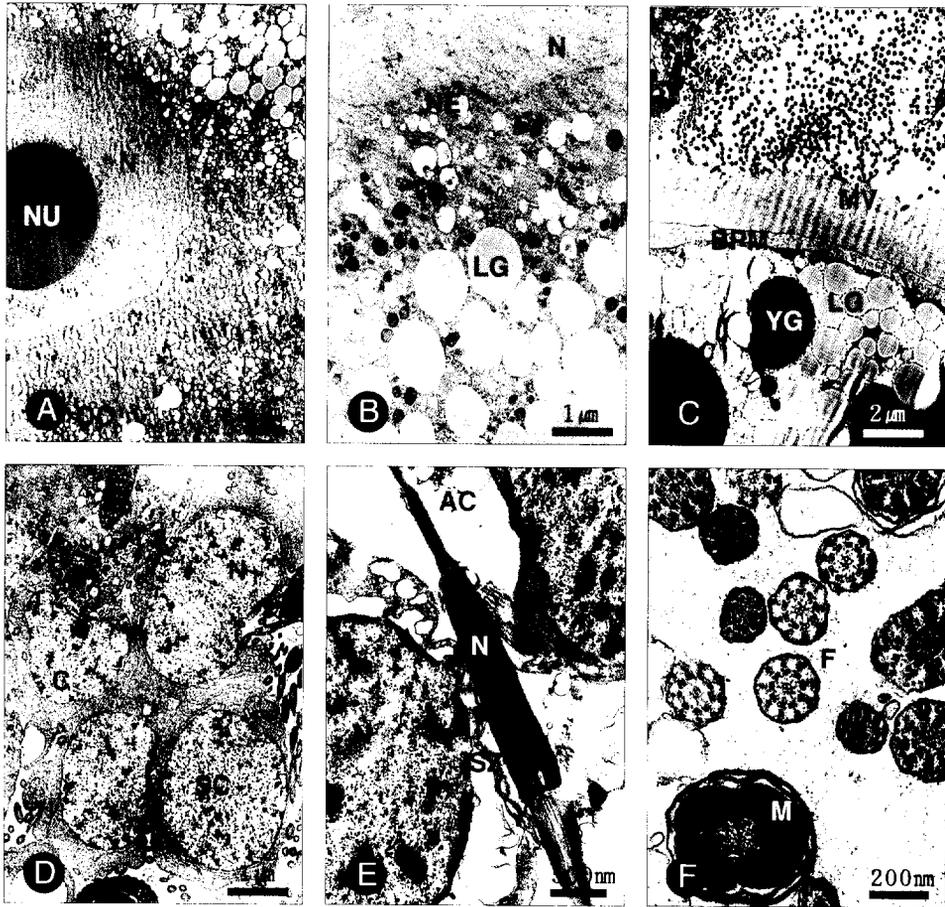


Fig. I-5. Electron micrographs of germ cells and brood pouch in *Semisulcospira libertina libertina*. (A): vitellogenic oocyte; (B): mature oocyte; (C): brood pouch in female; (D): section of spermatocyte; (E): section of spermatozoon; (F): mitochondria and flagella. AC, acrosome; BPM, brood pouch membrane; C, chromatin; F, flagellum; LG, lipid granule; M, mitochondrion; MV, microvilli; N, nucleus; NE, nucleus envelope; NU, nucleolus; OC, oocyte; SZ, spermatozoa; YG, yolk granule.

지방과립(lipid granule, LG)이 분포하였다(Fig. I-5 A, B). 보육낭은 세포질의 바깥쪽에 3~4 μm 의 미융모(microvilli, MV)로 이루어진 막으로 둘러싸여 있었다(Fig. I-5 C).

다슬기의 정원세포(spermatogonium, SG)는 정소세관의 생식상피(GE) 위에 여러 층으로 배열되어 있고, 다슬기는 원형의 세포질 내에 7 μm 전후의 둥근 핵을 가지고 있었다(Fig. I-5 D). 핵내에는 여러 모양의 염색질이 산재하였다. 정모세포(spermatocyte, SC) 단계에는 핵내에 염색질의 응축이 활발히 이루어지고 있었다. 타원형에 가까운 정모세포는 서서히 원형의 정세포(spermatid, ST)로 변하며, 염색질은 핵내에 가득 차게 되고, 미토콘드리아는 핵의 후방에 위치하게 되며 중심체가 관찰되었다. 이후 정세포는 계속적인 정자로의 변태 과정을 거치며, 세포질은 점차적으로 소실되고, 핵의 전단부에는 침체성 물질이 나타난다. 변태를 완료한 정자(spermatozoon, SZ)들은 세관의 내강을 향하여 분포하며, 치밀한 핵질로 충만한 고깔형으로 머리(N)의 길이는 약 2.5 μm 였으며, 그 선단에 화살촉 모양의 침체(acrosome, AC)가 존재하였다. 침체는 1.5 μm 의 침체간(axial rod)이 침체막으로 싸여 침체포를 형성하고 있으며, 바깥쪽을 원형질막이 싸고 있었다(Fig. I-5E). 중편부에는 4개의 미토콘드리아(M)와 원단 중심소체(proximal centriole, PC)가 편모(flagellum, F)와 연결되어 있었다(Fig. I-5F).

3.1.5. 난경분포

다슬기의 난소에서 월별로 조사한 평균 난경은 4월에 $211.6 \pm 133 \mu\text{m}$ 였던 것이 점차 작아져 6월에 $155.1 \pm 133 \mu\text{m}$ 였으며, 7월에는 급격히 성장하여 $249.6 \pm 122 \mu\text{m}$ 로 연중 가장 큰 값을 보였다. 이후 점차 작아지는 경향을 보이면서 12월에 $134.3 \pm 106 \mu\text{m}$ 로 연중 가장 작은 값을 나타냈다(Fig. I-6).

다슬기의 난경계급을 0 μm 부터 150 μm 의 간격으로하여 4단계로 나누어 조사한 난경의 월별변화는 Fig. I-7과 같이, 난경 0~150 μm 의 난모세포는 3월과

10월에 각각 58.7%, 58.4%로 높게 나타났고, 7월과 8월에 각각 24%, 21.4%로 낮게 나타났다. 난경 150~300 μm 의 난모세포는 5월과 11월에 많았으며, 300~450 μm 의 난모세포는 7~9월에 걸쳐 높게 나타났다. 난경 450~600 μm 의 성숙

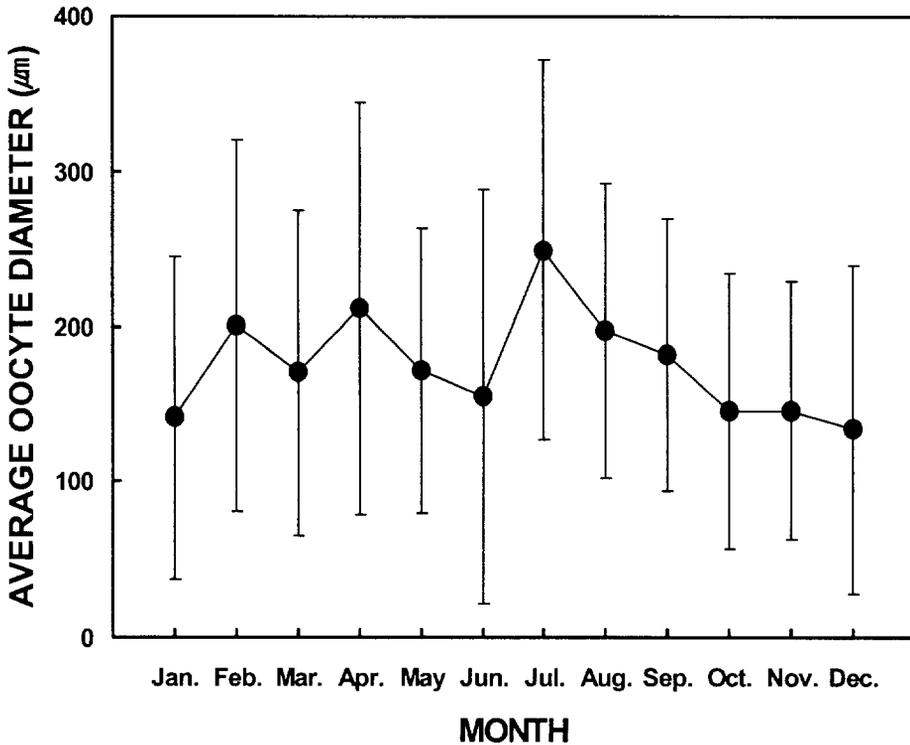


Fig. I-6. Monthly changes in average oocyte diameter of *Semisulcospira libertina libertina*.

한 난모세포는 2월 이후 점차 감소하여 5월에 관찰되지 않았으며, 6월부터 증가하는 경향으로 8월에 8.3%로 가장 높은값을 보였다. 이후 9월부터 감소하기 시작하여 10, 11월에 나타나지 않았다.

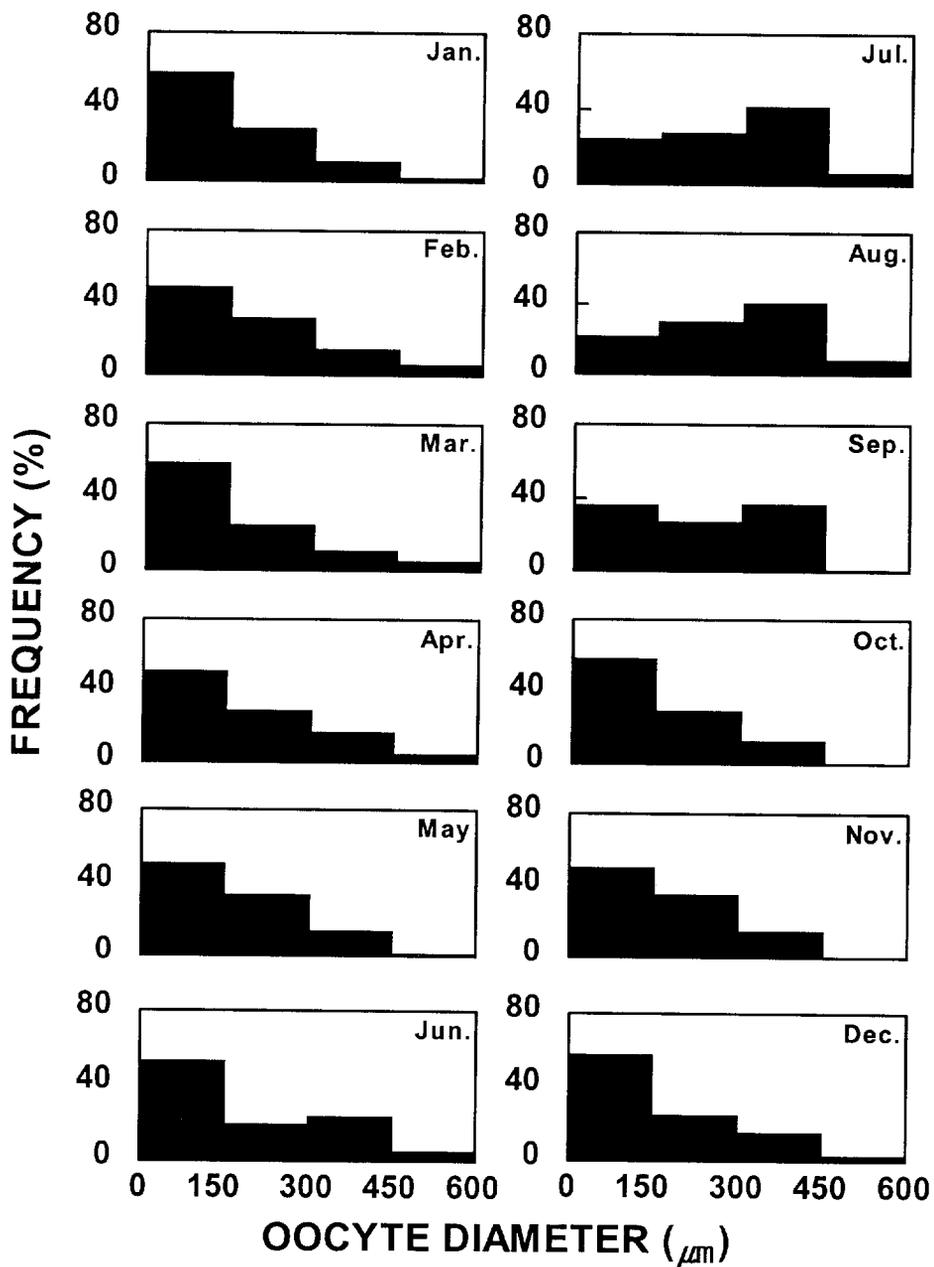


Fig. I-7. Relative frequency distribution of the oocyte diameter of *Semisulcospira libertina libertina*.

3.1.6. 보육낭의 유생조성

다슬기 보육낭의 평균 유생수는 7월이 91 ± 33 마리로 연중 최소값을 나타냈으며, 11월에 396 ± 174 마리로 연중 최다값을 보였다. 또한, 평균 유생수는 2~4월, 6, 7월에 감소하고 9~11월에 증가하여, 봄·여름에 감소하고 가을에 증가하는 경향을 나타냈다(Fig. I-8).

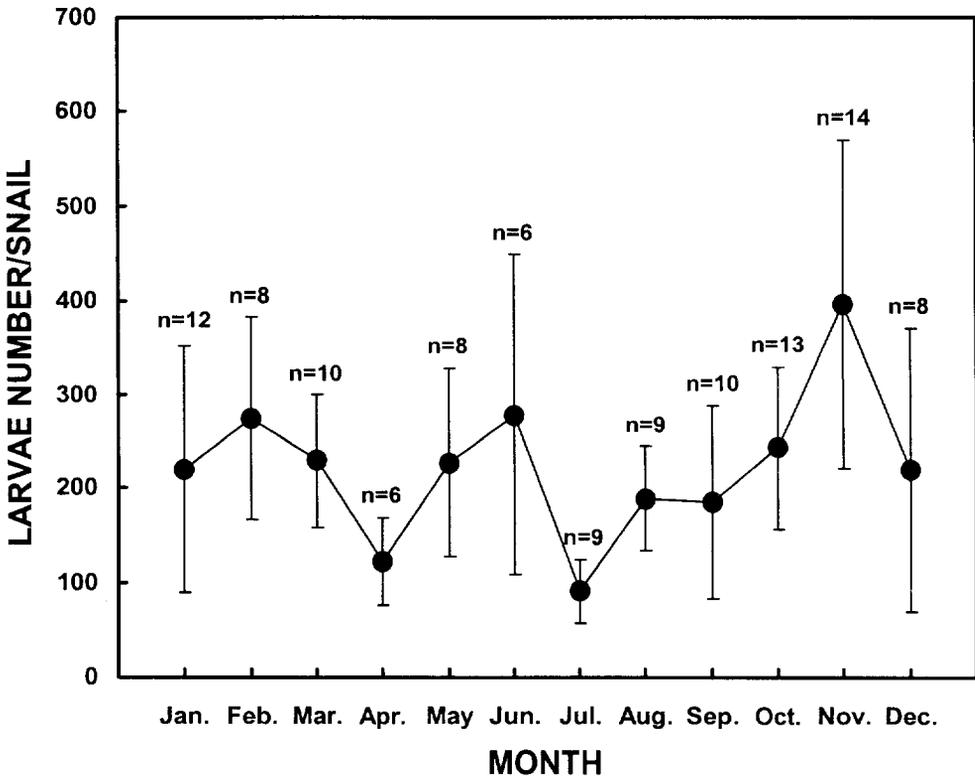


Fig. I-8. Monthly changes of average number of larvae in brood pouch of female *Semisulcospira libertina libertina*.

보육낭 유생의 조성을 월별로 관찰한 결과, trochophore는 3월부터 증가하기 시작하여 5월에 66.7%로 연중 가장 높게 나타났으며, 6월에 19.4%로 급격하게 감소하는 경향을 보였다. 또한 7~9월에 걸쳐 높게 나타났으나, 10월에 7.4%로 감소하였다. Pre-veliger는 trochophore가 감소한 6월과 8월 그리고 10

월에 유의한 증가를 관찰할 수 있었으며, 11월에 70.7%로 연중 가장 높게 나타났다. Pre-veliger 유생은 2월을 제외하고 연중 20% 이상 관찰되었으며, 특히 10~12월에 높게 나타났다. Veliger는 2월에 60.9%로 연중 최고값을 보였으며, 이후 3~5월 그리고 7~9월에 감소하는 경향을 보였다. 출산 전 단계인 juvenile은 1월에 13.9%로 가장 높았으나, 3~5월 그리고 8~11월까지 감소하는 경향을 보였다. Juvenile은 연중 20% 이하의 낮은 비율로 관찰됨으로써, 다슬기는 주년 출산하는 종임을 알 수 있었다. 특히, 6, 7월에 비해 12~2월에 juvenile의 비율이 높았던 점으로 보아 가을보다는 봄에 출산이 활발하게 이루어지는 것으로 판정되었다(Fig. 1-9).

3.1.7. 번식주기

다슬기의 생식소 발달단계를 조직학적으로 관찰한 결과, 암컷과 수컷은 혹서기와 혹한기를 제외한 2회의 배란·교미기를 가지고 있었다. 다슬기의 경우 암컷의 난모세포 분열은 3월과 10월에 개시되었으며, 4, 5월과 11월에 성장하여 6, 7월, 12월에 성숙한 개체가 나타났다. 성숙한 난모세포는 8월과 1월에 배란기를 거쳐 9월과 2월에 휴지기의 조직상을 보였으며 발달중인 난모세포도 관찰되었다. 수컷 정소의 발달단계의 월변화는 암컷과 비슷한 경향을 나타냈으며, 3월과 10월에 정원세포가 분열·증식하기 시작하였고, 4월과 11월에 정원세포가 정모세포와 정세포로 성장하여 5, 6월과 12월에는 성숙·변태한 정자들이 다수 나타났다. 수컷의 주된 교미시기는 7, 8월과 1월로 나타났으며, 9월과 2월에는 방출후 일부 잔존 정자가 관찰되는 휴지기의 조직상을 보였다. 다슬기의 난모세포는 수정 이후 보육낭으로 옮겨져 각 발생단계를 거친 다음 부화하여 출산되는데, 8월에 배란된 난모세포는 9, 10월에, 1월에 배란된 난모세포는 혹한기를 지나 3~5월에 주로 출산되는 경향을 보였다.

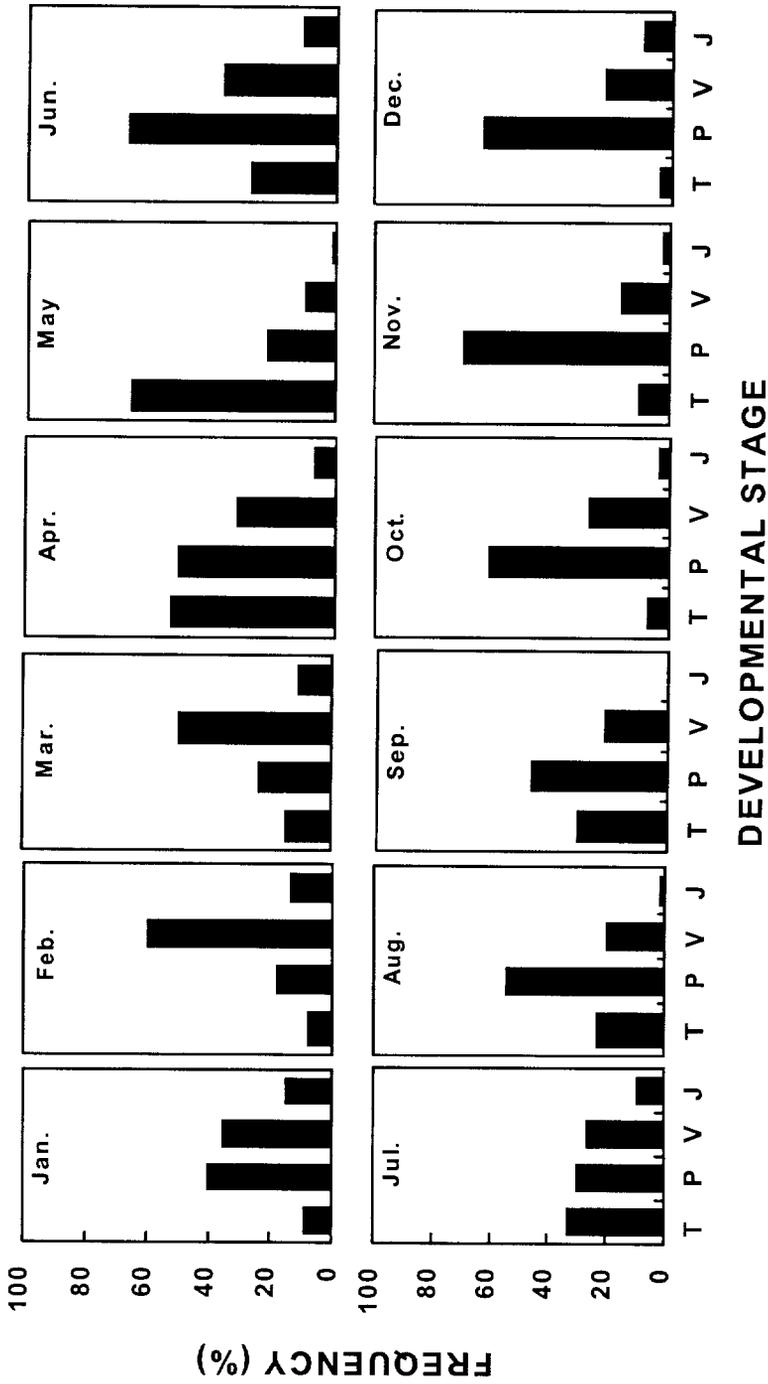


Fig. I-9. Monthly composition of developmental stages of larvae in brood pouch of female *Semisulcospira libertina*. T: trochophore, P: pre-veliger, V: veliger, J: juvenile.

3.2. 꾀다슬기

3.2.1. 채집지의 수온

꾀다슬기 채집지역의 월별 수온은 3월부터 높아지기 시작하여 7월에 25℃로 최고값을 보였으며, 이후 낮아져 12월에는 1℃로 최저값을 나타냈다(Fig. I-10).

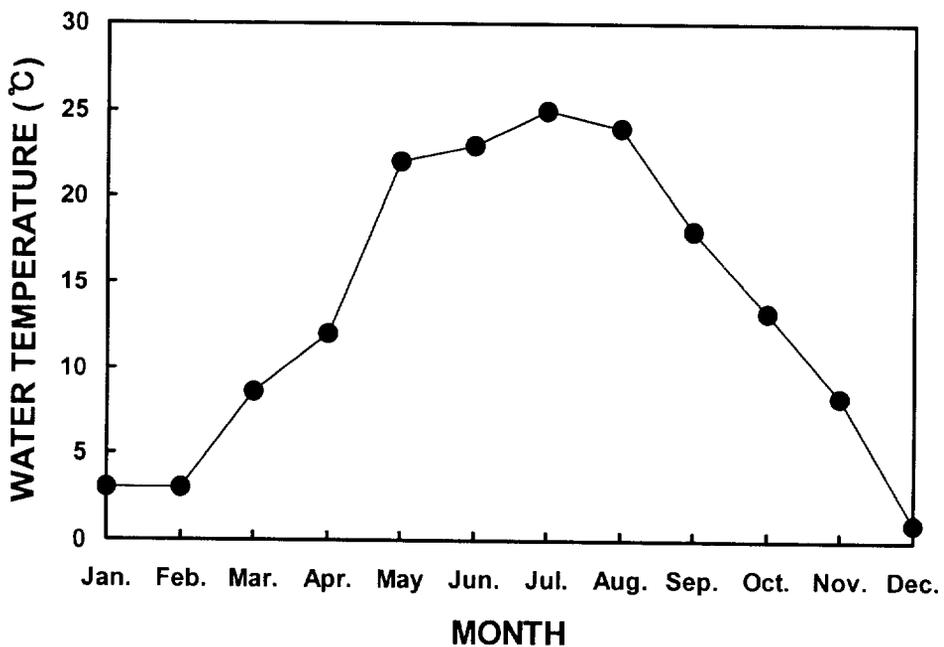


Fig. I-10. Monthly changes of water temperature at the habitat of *Semisulcospira gottschei*.

3.2.2. 상대성장

조사 기간 동안 240개체에 있어 각고에 대한 각경, 전중, 육중 및 각중의 상대성장은 Fig. I-11에 나타냈다. 각고(SH)와 각경(SD)의 관계는 $SD=0.2481SH+4.6814$ ($R^2=0.5077$)의 회귀직선으로 나타났으며, 각고(SH)에 대한 전중(TW), 육중(MW) 및 각중(SW)의 상대성장식은 각각 $TW=0.0006SH^{2.4016}$ ($R^2=0.8352$), $MW=0.0003SH^{2.3644}$

($R^2=0.7437$), $SW=0.0002SH^{2.4933}$ ($R^2=0.741$)의 지수함수 관계를 보였다. 각각의 상대성장에 대한 상관계수의 차이를 검정한 결과, 각고에 대한 각경, 전중, 육중 및 각중 사이의 유의한 차이를 나타냈다($P<0.05$).

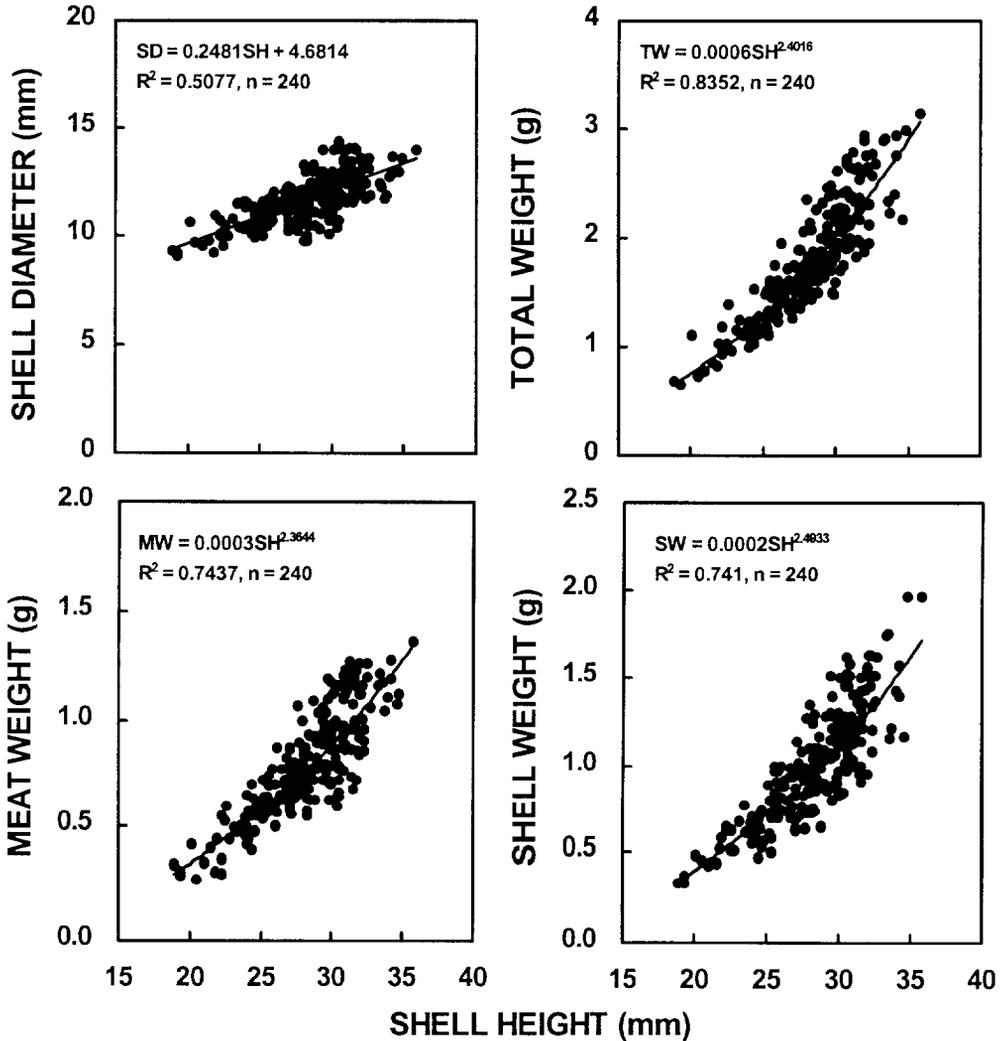


Fig. I-11. Relative growth between shell height (SH), shell diameter (SD), total weight (TW), meat weight (MW) and shell weight (SW) of *Semisulcospira gottschei*.

3.2.3. 생식소의 구조 및 발달

꽃체다슬기의 생식소 구조는 소화맹낭의 위쪽 일부 표면에 위치하여 몸체 후부 끝까지 연장되어 있었다. 난소는 난소소낭, 정소는 정소세관으로 이루어져 있었으며, 생식소가 암컷은 청록색, 수컷은 황색을 나타내고 있었다. 난태생인 꽃체다슬기는 보육낭의 유무로써 2차적인 성 판별이 가능하였다. 조직학적으로 관찰한 결과, 꽃체다슬기는 자웅이체로 판정되었으며, 암컷에는 수란관이, 수컷에서는 수정관이 관찰되었다.

꽃체다슬기 생식소의 발달과정을 조직학적 방법에 의해 조사한 결과, 매일 발달된 생식세포가 관찰되었으며, 생식소의 발달단계는 암·수 각각 5단계로 구분하였다.

분열증식기 (Mu)

생식상피상에서 난원세포와 정원세포의 활발한 분열증식을 관찰할 수 있었다. 일부 난원세포에서는 세포질의 증가를 관찰할 수 있었으며, 난원세포의 직경은 20 μm 내외였다. 정소에서는 정소세관의 생식상피상에서 정원세포가 분열증식하여 점차 정소세관 내측으로 발달하고 있었다(Fig. I-12 Mu).

성장기 (G)

생식상피상에서 만들어진 난원세포와 정원세포들이 생식상피상에 부착한 채 성장하여 차츰 난소소엽의 내강 쪽으로 채워져 가며, 정소는 정소상피로부터 정원세포, 정모세포 및 정세포가 내강을 향해서 성장해 가고 있는 모습이 관찰되었다(Fig. I-12 G).

성숙기 (M)

성장중인 난모세포들이 완전히 성숙하여 600 μm 내외의 크기로 되며, 난황과립으로 가득찬 난모세포가 난소소엽내에 거의 채워졌다. 정소소낭내에는 번태를 마친 정자들로 거의 가득 채워지며, 이 때 생식소는 최대로 비대해 있었다(Fig. I-12 M).

배란기 (O) 및 교미기 (C)

난소소엽은 호산성색소에 진하게 염색되는 난황과립이 충만해 있었으며(Fig.

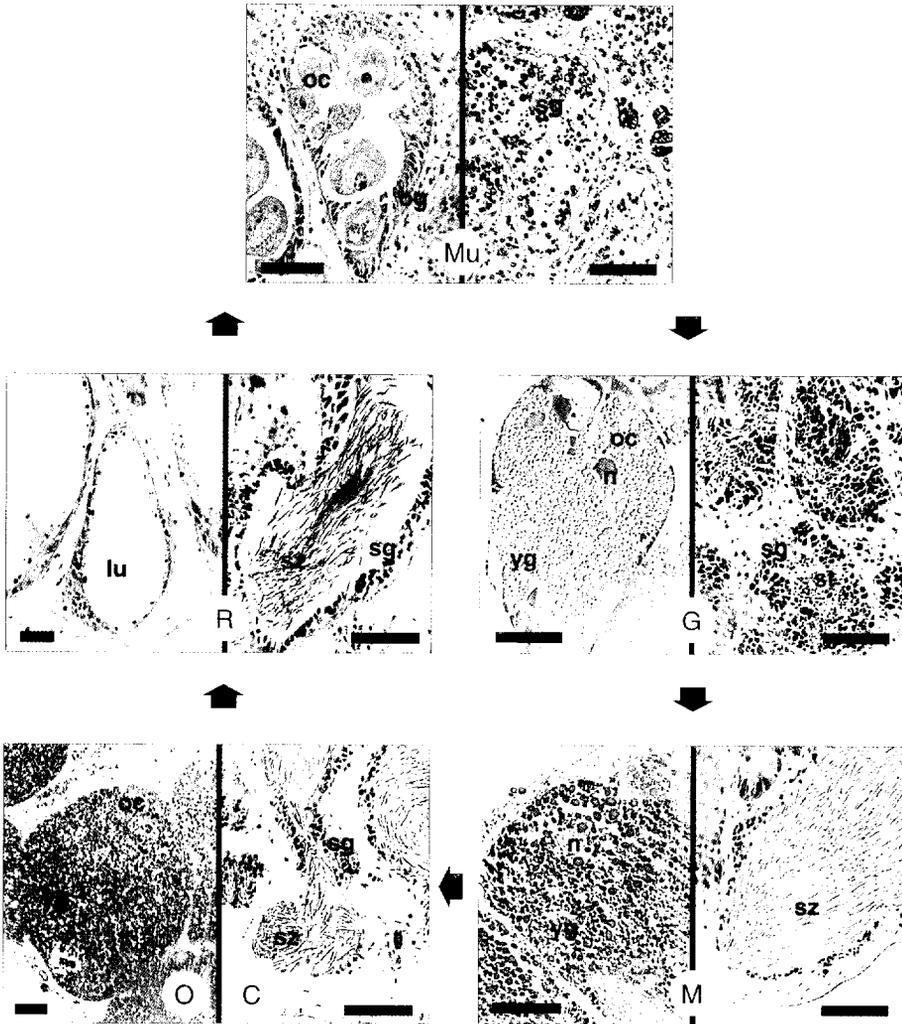


Fig. I -12. Histological identifications of the gonad stages in *Semisulcospira gottschei*. Left side of each photograph shows ovary and right side shows testis. Mu: multiplicative stage, G: growing stage, M: mature stage, O: ovulation stage, C: copulatory stage, R: resting stage. lu: lumen, n: nucleus, oc: oocyte, sc: spermatocyte, sg: spermatogonia, st: spermatid, sz: spermatozoa, yg: yolk granule. Scale bar=50 μ m.

I-12 O), 정소소낭내에는 성숙한 정자들이 물결모양을 이루고 있었다. 그러나 이 시기에도 정소소낭의 생식상피에 발달중인 정모세포들을 관찰할 수 있었다 (Fig. I-12 C).

휴지기 (R)

난소소낭 및 정소세관이 위축되었고, 내강이 비어 있는 조직상을 보였다. 정소세관 내에는 일부 미방출 정자가 관찰되었으며, 동시에 정소세관 내측으로 발달중인 정원세포를 관찰할 수 있었다(Fig. I-12 R).

3.2.4. 생식세포의 미세구조

곳체다슬기는 난소소낭 상피세포에 붙어서 소낭으로부터 영양물질을 공급받으며 난모세포가 성장하며, 난황형성기 난모세포는 인(nucleolus, NU)과 핵(nucleus, N)이 이중의 단위막으로 둘러싸여 있었다(Fig. I-13 A). 성숙한 난모세포의 세포질에는 다량의 난황과립이 관찰되었으며(Fig. I-13 B), 보육낭은 세포질의 바깥쪽에 3~4 μm 의 미융모(microvilli, MV)로 이루어진 막으로 둘러싸여 있었다(Fig. I-13 C).

곳체다슬기의 정소세관에는 정원세포(spermatogonium, SG)와 정모세포(spermatocyte, SC), 정세포(spermatid, ST)가 층을 이루어 배열되어 있었으며, 세포질에는 부정형의 많은 미토콘드리아와 리보솜 및 소포체가 관찰되었다 (Fig. I-13 D). 이후 계속적인 정자 변태과정을 거쳐, 세포질은 점차적으로 소실되고, 핵의 전단부에는 첨체성 물질이 나타난다. 변태를 완료한 정자(spermatozoon, SZ)들은 세관의 내강을 향하여 분포하며, 치밀한 핵질로 충만한 고깔형으로 머리(N)의 길이는 2.5~3 μm 였으며, 그 선단에 화살촉 모양의 첨체(acrosome, AC)가 존재하였다. 첨체는 1.5~2 μm 의 첨체간(axial rod)이 첨체막으로 싸여 첨체포를 형성하고 있으며, 바깥쪽을 원형질막이 싸고 있었다 (Fig. I-13 E). 중편부에는 다슬기와 마찬가지로 4개의 미토콘드리아(M)와 원단 중심소체(proximal centriole, PC)가 편모(flagellum, F)와 연결되어 있었다 (Fig. I-13 F).

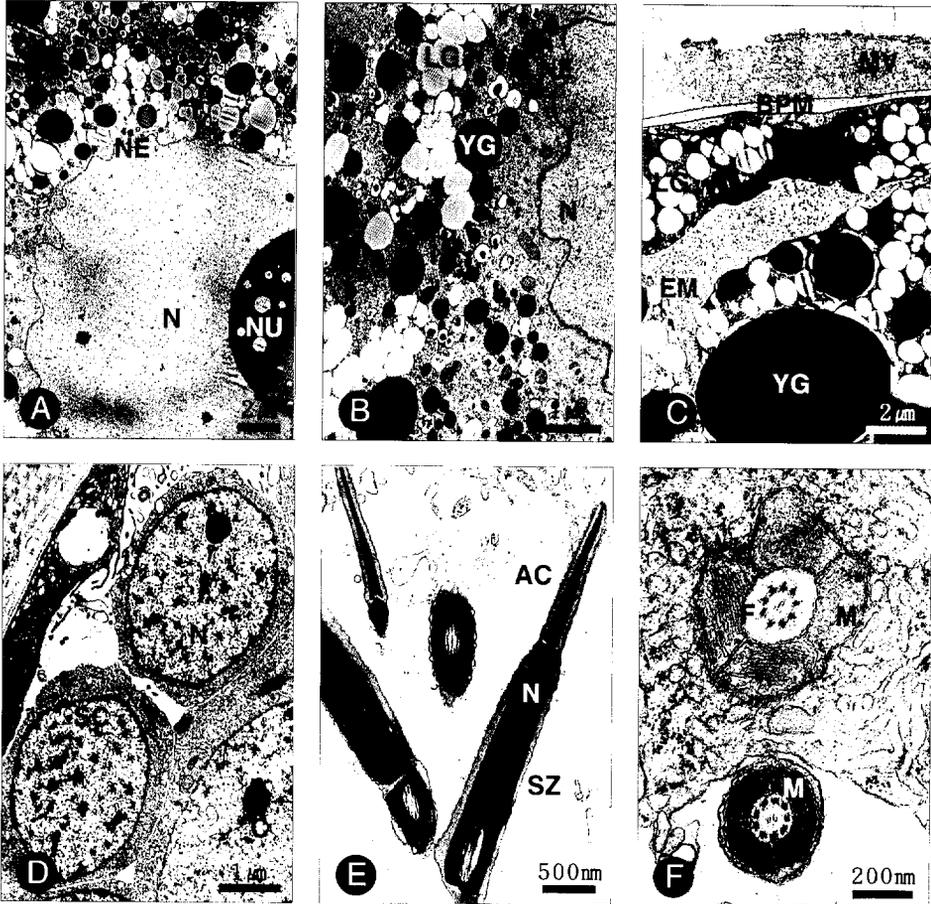


Fig. I-13. Electron micrographs of germ cells and brood pouch in *Semisulcospira gottschei*. (A): vitellogenic oocyte; (B): mature oocyte; (C): brood pouch in female; (D): section of spermatocyte; (E): section of spermatozoon; (F): mitochondria and flagella. AC, acrosome; BPM, brood pouch membrane; C, chromatin; EM, embryo; F, flagellum; LG, lipid granule; M, mitochondrion; MV, microvilli; N, nucleus; NE, nucleus envelope; NU, nucleolus; SZ, spermatozoa; YG, yolk granule.

3.2.5. 난경분포

꽃채다슬기(*S. gottschei*)의 평균 난경은 4월에 $184.3 \pm 56.1 \mu\text{m}$ 에서 5월에 $350.0 \pm 127.6 \mu\text{m}$ 로 급격하게 증가하여 연중 최대값을 나타냈으며, 이후 9월까지 $132.4 \pm 65.2 \mu\text{m}$ 의 크기로 감소하였다. 10, 11월에 다시 증가하여 약 $300 \mu\text{m}$ 에 이르렀으며, 12월에 작아져 $113.4 \pm 50.5 \mu\text{m}$ 로 연중 최소값을 보였다(Fig. I-14).

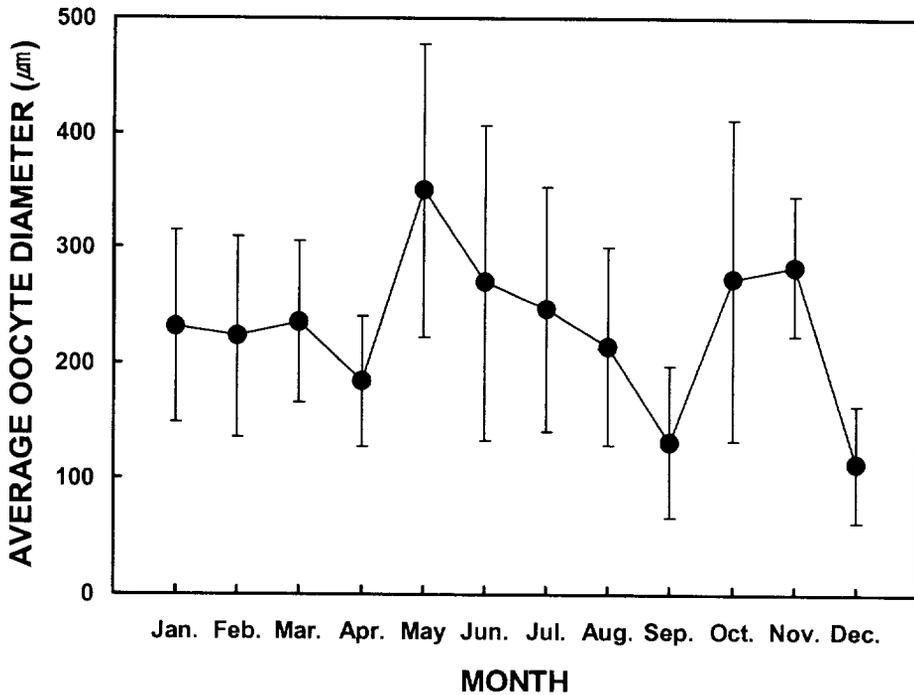


Fig. I-14. Monthly changes in average oocyte diameter of *Semisulcospira gottschei*.

다슬기와 마찬가지로 난경계급을 4단계로 나누어 조사한 결과, $0 \sim 150 \mu\text{m}$ 크기의 난모세포는 2, 3월에 10% 미만의 낮은 값을 보였으나, 4월에 25.7%로 증가하였다가 5월에 다시 감소하는 경향을 보였다. 또한 9월에 60.3%로 연중 최고값을 나타냈으며, 10, 11월에 감소하였다. $150 \sim 300 \mu\text{m}$ 크기의 난모세포는 2월에 75%로 연중 가장 높은 값을 보였으나, 이후 6월까지 감소하였다. 이후 7

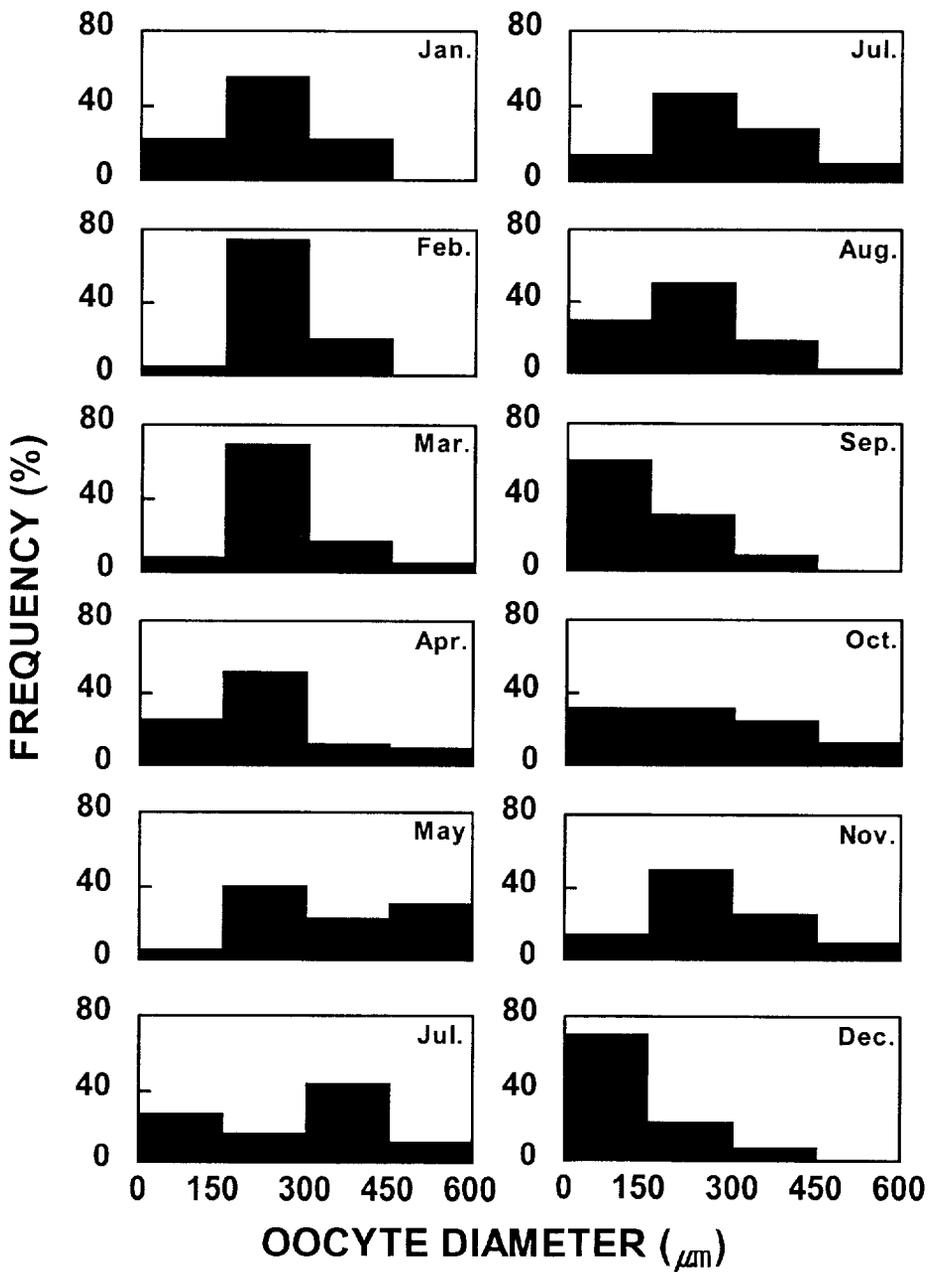


Fig. I-15. Relative frequency distribution of the oocyte diameter of *Semisulcospira gottschei*.

월에 50%로 다소 증가하였으나, 10월까지 감소하는 경향을 보였다. 300~450 μm 크기의 난모세포는 5월에 그 빈도가 증가하여 6, 7월에 높게 나타났다. 450~600 μm 크기의 난모세포의 빈도는 3월~5월, 10, 11월에 높은 값을 보였으며, 12월~2월, 9월에는 나타나지 않았다(Fig. I-15).

3.2.6. 보육낭의 유생조성

꽃체다슬기의 보육낭 평균 유생수에서는 특별한 경향은 없었으나, 가을·겨울이 봄·여름에 비해 평균 유생수가 많은 것으로 나타났다(Fig. I-16).

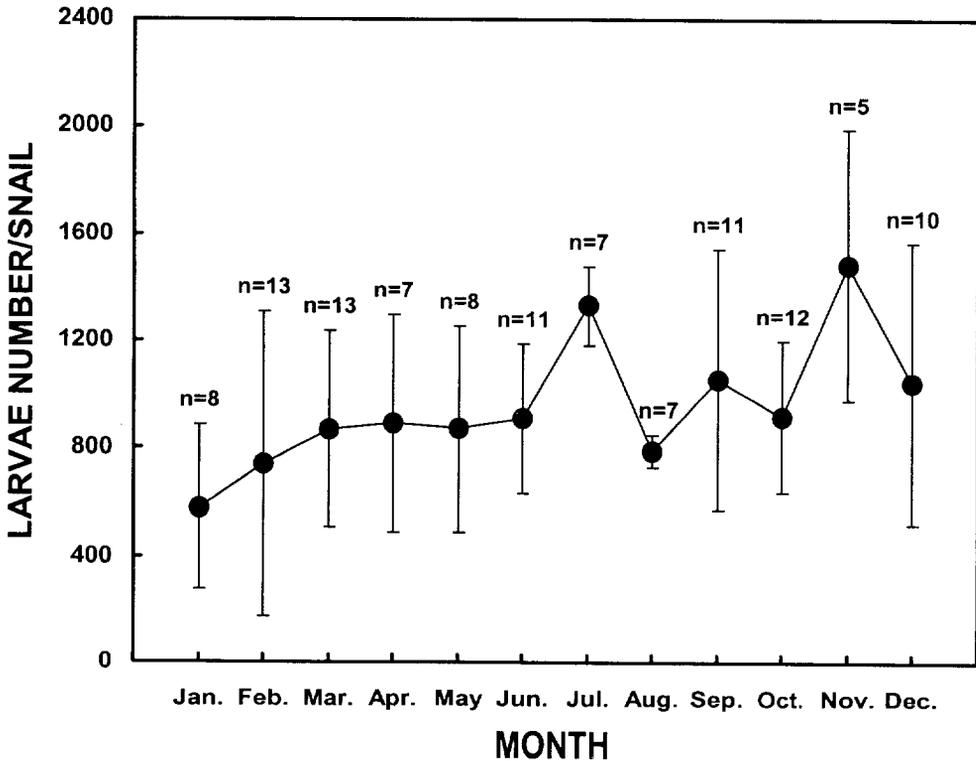


Fig. I-16. Monthly changes of average number of larvae in brood pouch of female *Semisulcospira gottschei*.

월별 유생조성에서 trochophore는 1월에 1.2%로 연중 가장 낮게 나타났으며, 5월에 65.2%로 급격하게 증가하여 연중 최고값을 보였다. 이후 감소하여 8월에 6%로 나타났으며, 10월에 38.4%로 다시 증가하였다가 12월에 3.2%로 감소하였다. Pre-veliger는 1월에 2.3%에서 6월에 27.6%로 증가하였다가 8월에 7.2%로 감소하였다. 이후 증가하여 10월에 24.0%로 나타났으며, trochophore와 마찬가지로 12월까지 감소하는 경향을 보였다. Veliger 단계의 유생은 4월에 32.7%에서 5월에 10.4%로 감소하였다가 6~12월까지 증가·감소를 반복하였다. Juvenile은 1월에 82.4%로 연중 가장 높은 값을 보였으며, 5월에 1.4%로 점차 감소하였다. 이후 증가하여 8월에 64.2%로 증가하였고, 9, 10월에 감소하였다가 11, 12월에 증가하는 경향을 보였다. 꾀다슬기의 juvenile은 trochophore의 빈도가 증가하는 5월과 10월에 감소하는 경향으로 서로 역상의 관계를 보였으며, 다슬기와 마찬가지로 연중 2회의 출산 성기를 갖는 것으로 나타났다 (Fig. I-17).

3.2.7. 번식주기

조직학적 관찰로써 꾀다슬기의 번식주기를 조사한 결과, 연 2회의 배란·교미기를 관찰할 수 있었으며, 암컷은 분열증식기 2월·9월, 성장기 3월·10월, 성숙기 4, 5월·11월, 배란기 6, 7월·12월, 휴지기 8월·1월로, 수컷에서는 분열증식기 2월·8월, 성장기 3, 4월·9월, 성숙기 5월·10, 11월, 교미기 6월·12월, 휴지기 7월·1월인 것으로 관찰되었다.

이상의 결과로부터 꾀다슬기는 연중 발달중인 생식세포를 갖고 있으며, 2회의 주된 번식주기를 갖는 것으로 판정되었다.

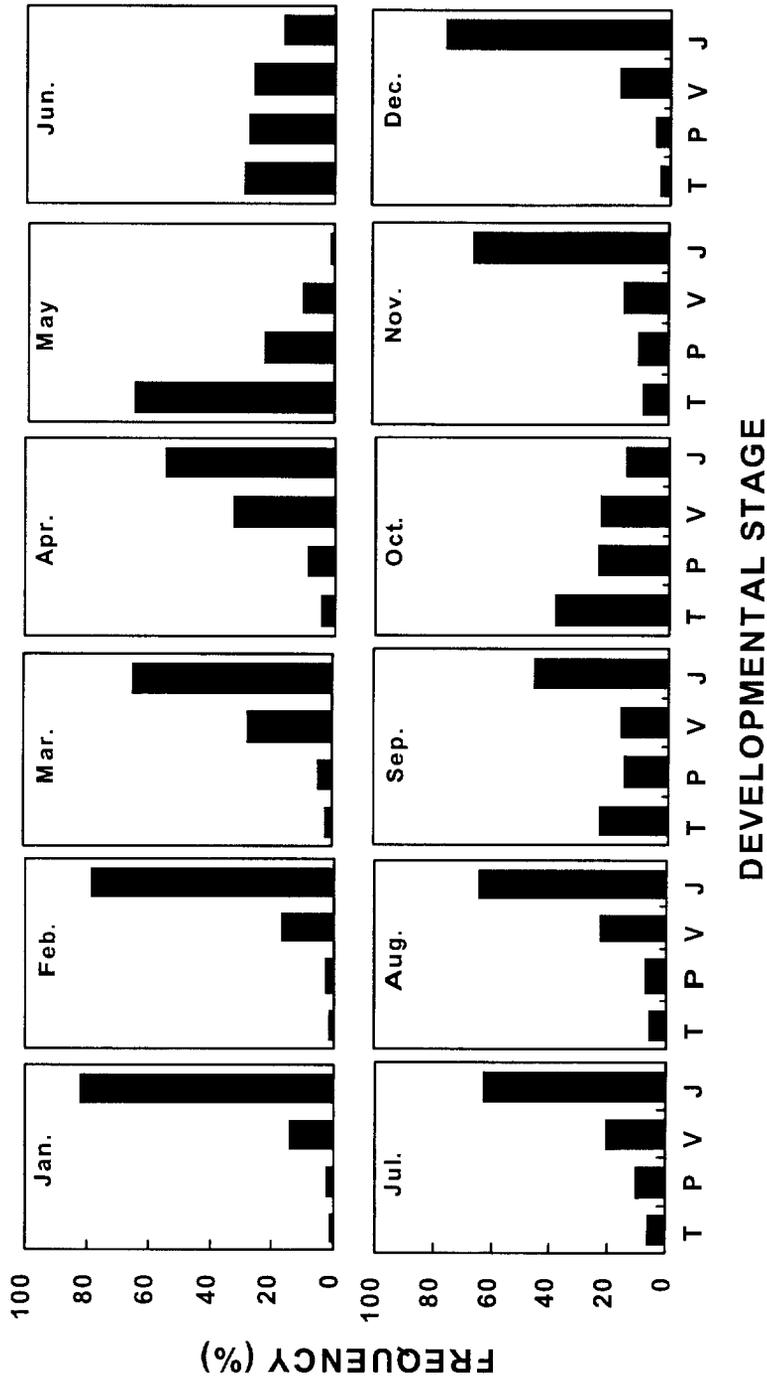


Fig. I -17. Monthly composition of developmental stages of larvae in brood pouch of female *Semisulcospira gottschei*. T: trochophore, P: pre-veliger, V: veliger, J: juvenile.

3.3. 염주알다슬기

3.3.1. 채집지의 수온

염주알다슬기 채집지역의 월별 수온은 3월 9°C에서 높아지기 시작하여 5월에 20°C로 연중 최고값을 나타냈다. 이후 6월에서 8월까지 17~18°C로 큰 변화를 나타내지 않았으며, 12월에 0.5°C로 연중 최저값을 보였다(Fig. I-18).

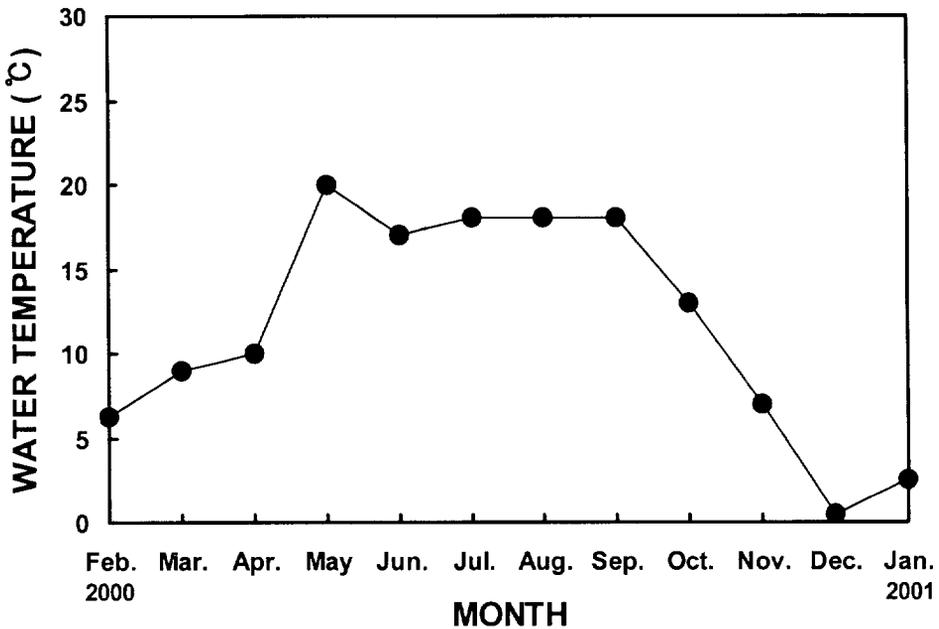


Fig. I-18. Monthly changes of water temperature at the habitat of *Koreanomelania globus*.

3.3.2. 상대성장

조사 기간 동안 240개체에 있어 각고에 대한 각경의 상대성장과 각고에 대한 전중, 육중 및 각중의 상대성장을 Fig. I-19에 나타냈다. 각고(SH)와 각경(SD)의 관계는 $SD=0.5647SH+0.413$ ($R^2=0.6672$)의 회귀직선으로 나타났다. 한편 각고(SH)에 대한 전중(TW), 각고(SH)에 대한 육중(MW) 및 각고(SH)에 대한 각중(SW)의 상대성장은 각각 $TW=0.0007SH^{2.6391}$ ($R^2=0.8479$), $MW=0.0003SH^{2.6622}$

($R^2=0.7553$), $SW=0.0003SH^{2.689}$ ($R^2=0.662$)의 지수함수 관계를 보였다. 각각의 상대 성장에 대한 상관계수의 차이를 검정한 결과, 각고에 대한 각경, 전중, 육중 및 각중 사이의 유의한 차이를 나타냈다($P<0.05$).

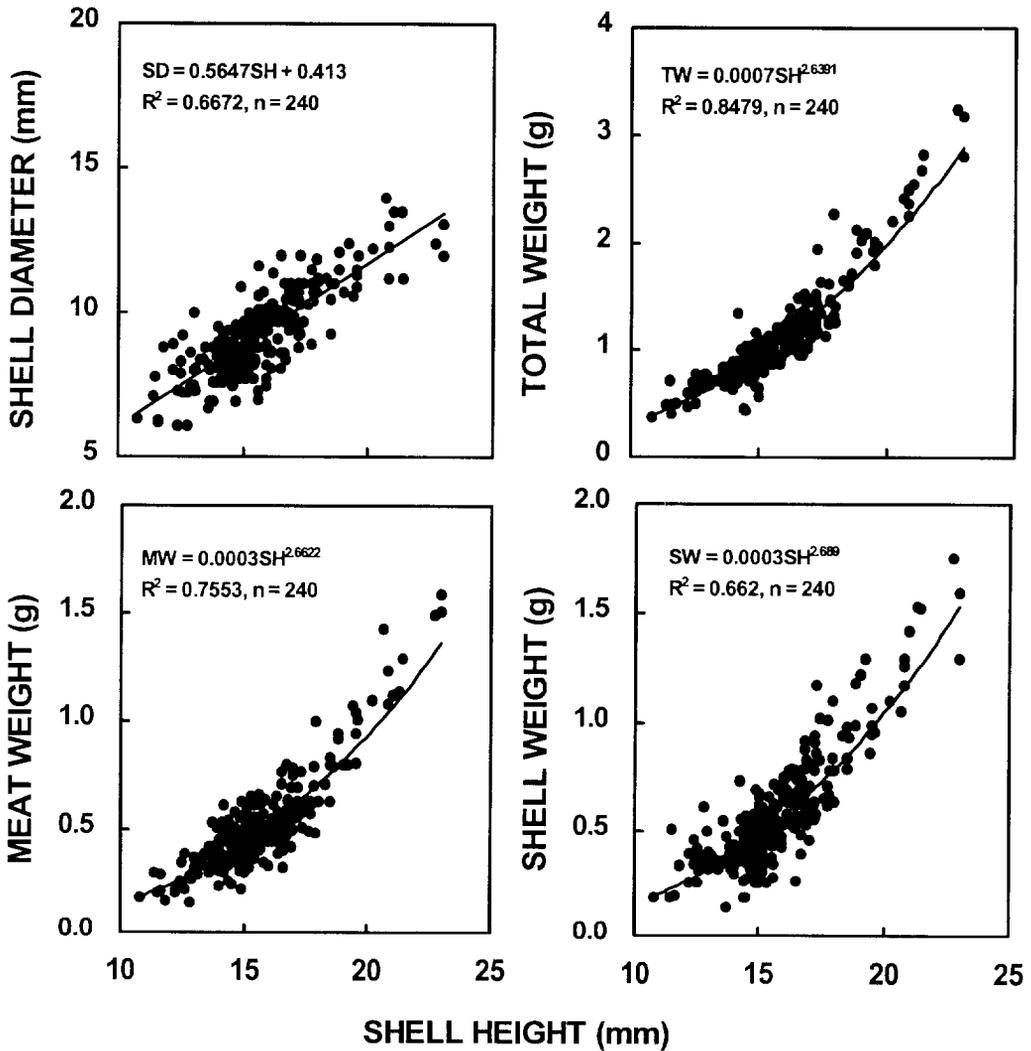


Fig. I -19. Relative growth between shell height (SH), shell diameter (SD), total weight (TW), meat weight (MW) and shell weight (SW) of *Koreanomelania globus*.

3.3.3. 생식소의 구조 및 발달

난생인 염주알다슬기의 생식소의 구조는 앞에서 기술한 다슬기 및 꾀체다슬기와 유사했으며, 보육낭은 존재하지 않았다. 생식소 부위의 색도 암컷은 청록색, 수컷은 황색을 띠고 있었다.

염주알다슬기의 생식소에서도 연중 발달중인 생식세포가 관찰되었으며, 생식소 발달과정은 암·수 각각 연속적인 5단계로 구분하였다.

분열증식기 (Mu)

난소 또는 정소가 난소소엽과 정소소엽을 구성하고, 이들 생식상피 위에서 난원세포와 정원세포가 활발하게 분열증식하였다. 생식소의 일부에서 이러한 분열증식기의 난원세포를 연중 관찰할 수 있었다. 정소에서는 정소세관 내측으로 분열증식한 정원세포가 채워지고 있는 모습이었다(Fig. I-20 Mu).

성장기 (G)

분열증식기에 이어 각 난소소엽은 더욱 신장되었으며, 핵과 세포질이 비대해졌다. 정소에서는 성숙분열을 거쳐 만들어진 정세포들이 정소세관 내측으로 빠르게 증가하고 있었다(Fig. I-20 G).

성숙기 (M)

성숙기의 난소는 난소소엽 내측으로 성숙란이 위치하며, 난소소엽 상피세포로부터 발달해오는 성장기의 난모세포도 관찰할 수 있었다. 성숙기의 난모세포는 난황과립으로 가득차 있었으며, 이 시기까지는 핵과 인을 뚜렷히 관찰할 수 있었다. 정소에서는 성장기 정소세관을 가득 채우던 정세포들이 정자로 변태하였다(Fig. I-20 M).

산란기 (S)

성숙한 난모세포가 체외로 방출되기 위해 난소소낭의 벽으로부터 간격이 생기기 시작하며, 방출 중인 난모세포가 관찰되었다. 정소에서는 정자들이 체외로 방출되면서 세관내에 빈곳이 생겨나기 시작하였다(Fig. I-20 S).

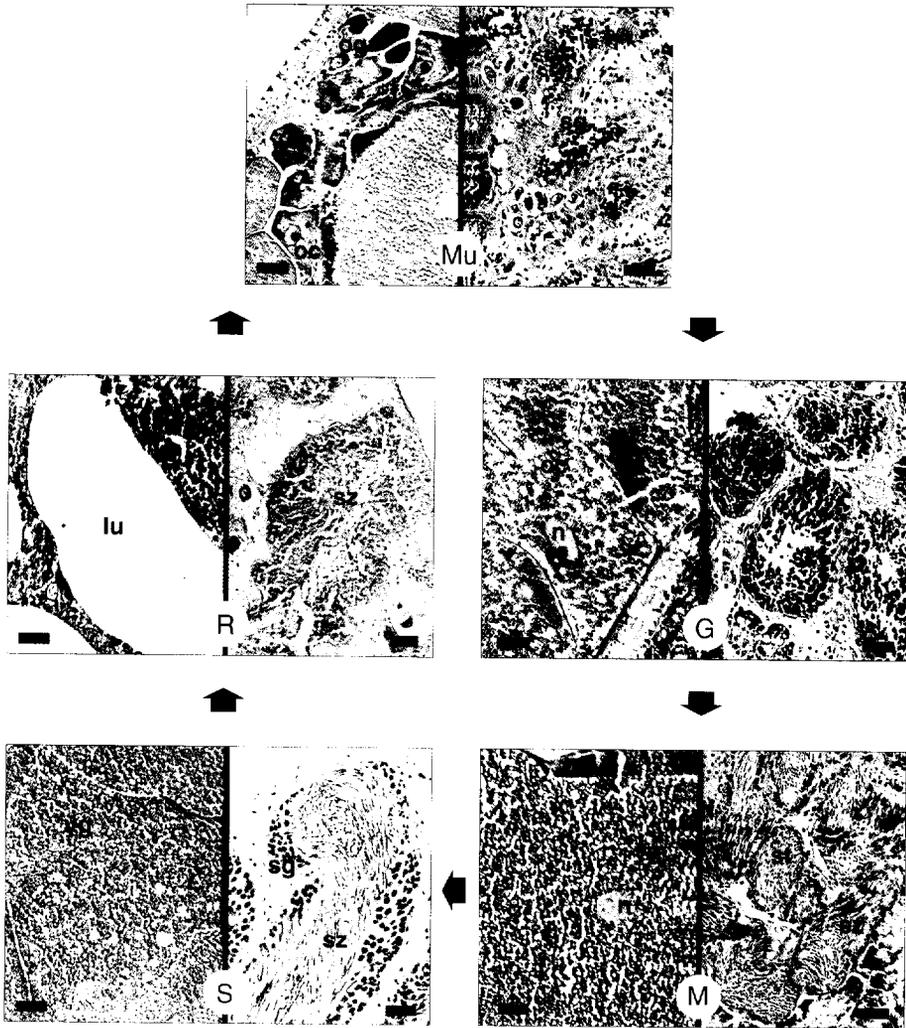


Fig. I -20. Histological identifications of the gonad stages in *Koreanomelania globus*. Left side of each photograph shows ovary and right side shows testis. Mu: multiplicative stage, G: growing stage, M: mature stage, S: spawning stage, R: resting stage. n: nucleus, oc: oocyte, og: oogonia, sc: spermatocyte, sg: spermatogonia, st: spermatid, sz: spermatozoa, yg: yolk granule. Scale bar=50 μ m.

회복기 (R)

방란이 끝난후 난소소낭 벽으로부터 새로운 난모세포들의 분열이 활발하게 시작되었으며, 일부 성장기의 난모세포도 관찰되었다. 방정후 정소는 잔존 정자가 퇴화·흡수되며, 정소에서도 새로운 정원세포의 분열을 확인할 수 있었다 (Fig. I-20 R).

3.3.4. 생식세포의 미세구조

염주알다슬기의 난황형성기 난모세포는 난황과립으로 가득차 있었으며(Fig. I-21 A, B), 난소소낭은 약 $1.5 \mu\text{m}$ 의 미음모로 둘러싸여 있었다(Fig. I-21 C).

염주알다슬기의 정자형성 과정은 앞에서 기술한 다슬기나 꽃체다슬기와 유사하였으며, 구조에서도 차이가 없었다(Fig. I-21 D). 변태를 완료한 정자(spermatozoa, SZ)들은 세관의 내강을 향하여 분포하여 있었으며, 고깔형의 머리(N)는 길이가 $2.5\sim 3 \mu\text{m}$ 였으며, $1.5\sim 2 \mu\text{m}$ 의 첨체(acrosome, AC)가 존재하였다. 첨체간(axial rod)이 첨체막으로 싸여 첨체포를 형성하고 있으며, 바깥쪽을 원형질막이 싸고 있었다(Fig. I-21 E). 중편부에는 4개의 미토콘드리아(M)와 원단 중심소체(proximal centriole, PC)가 편모(flagellum, F)와 연결되어 있었다(Fig. I-21 F).

3.3.5. 난경분포

염주알다슬기의 평균 난경은 2월에 $229.5\pm 74.2 \mu\text{m}$ 로 연중 최대값을 보였으며, 3월에 $174.0\pm 78.3 \mu\text{m}$ 로 감소하였다가 5월에 $198.1\pm 77.7 \mu\text{m}$ 로 증가하는 경향을 보였다. 이후 9월에 $126.5\pm 49.9 \mu\text{m}$ 로 감소하여 연중 최소값을 나타냈으며, 10월부터 다시 증가하였다(Fig. I-22).

염주알다슬기는 다슬기와 꽃체다슬기에 비하여 평균 난경이 작은 것으로 나타나, 난경계급을 $0\sim 100 \mu\text{m}$, $100\sim 200 \mu\text{m}$, $200\sim 300 \mu\text{m}$, $300\sim 400 \mu\text{m}$ 의 4단계로 나누었으며, $0\sim 100 \mu\text{m}$ 크기의 난모세포는 3월에 22.6%로 증가하여 4월~6월에 걸쳐 감소하였고, 9월에 43.5%로 다시 증가하여 연중 최고값을 나타냈다. $100\sim 200 \mu\text{m}$ 크기의 난모세포는 4월에 73.3%였으나, 이후 감소하여 6월에 34.8%로 연중 최저값을 보였다. 이는 7월부터 증가하여 8월에 66.7%로 연중

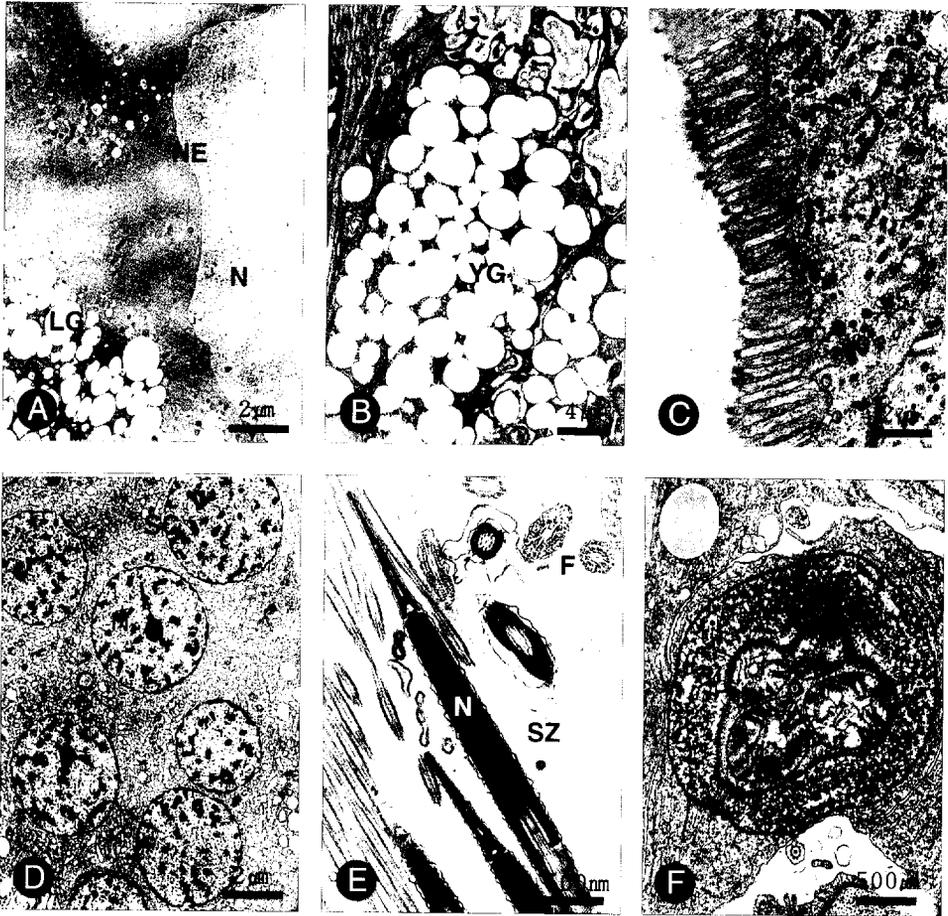


Fig. I-21. Electron micrographs of germ cells in *Koreanomelania globus*. (A): vitellogenic oocyte; (B): mature oocyte; (C): microvilli around ovary vesicular; (D): section of spermatocyte; (E): section of spermatozoon; (F): mitochondria. AC, acrosome; C, chromatin; F, flagellum; LG, lipid granule; M, mitochondrion; MV, microvilli; N, nucleus; NE, nucleus envelope; NU, nucleolus; SC, spermatocyte; SZ, spermatozoa; VE, vitelline envelope; YG, yolk granule.

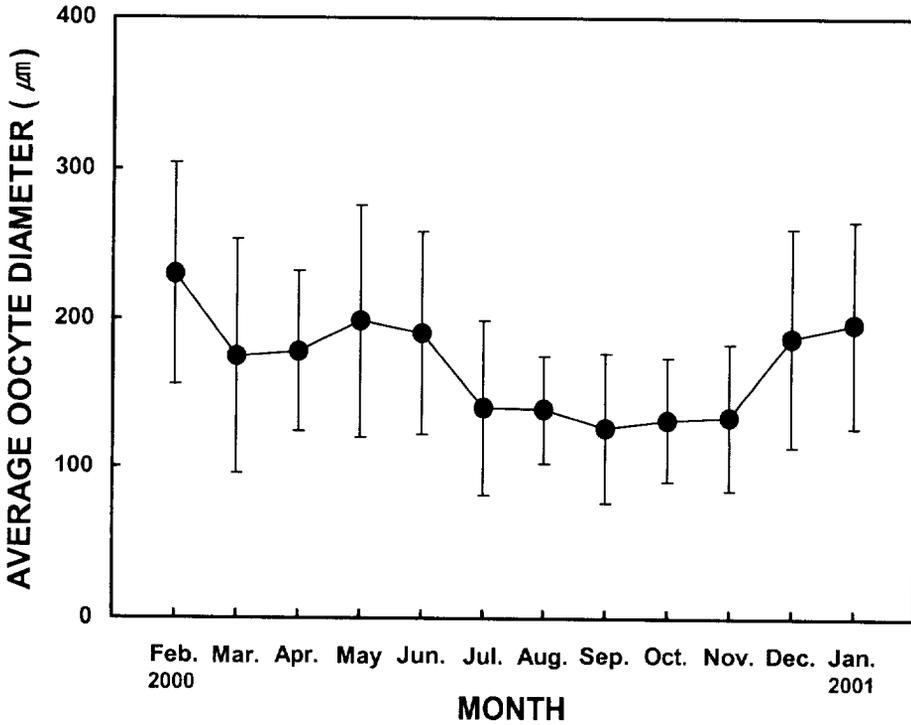


Fig. I-22. Monthly changes in average oocyte diameter of *Koreanomelania globus*.

최고값을 나타냈으며, 이후 감소하였다. 200~300 μm 의 빈도는 6월에 42.2%로 연중 가장 높은 값을 보였으며, 이후 감소하였다가 12월부터 증가하는 것으로 나타났다. 300~400 μm 의 난모세포는 2월에 27.8%로 연중 최고값이었으며, 3월과 4월에 감소하였다가 5월에 다시 증가하여 6월에 14.3%로 하였다. 이후 7월부터 감소하여 9~11월에는 나타나지 않았다(Fig. I-23).

3.3.6. 번식주기

난생종인 염주알다슬기는 연중 발달중인 생식세포를 관찰할 수 있었는데, 암컷에서는 3월과 9월에 분열증식한 난모세포는 4, 5월 및 10, 11월에 핵과 인이 뚜렷이 관찰되는 성장기의 난모세포를 관찰할 수 있었으며, 6월과 12월

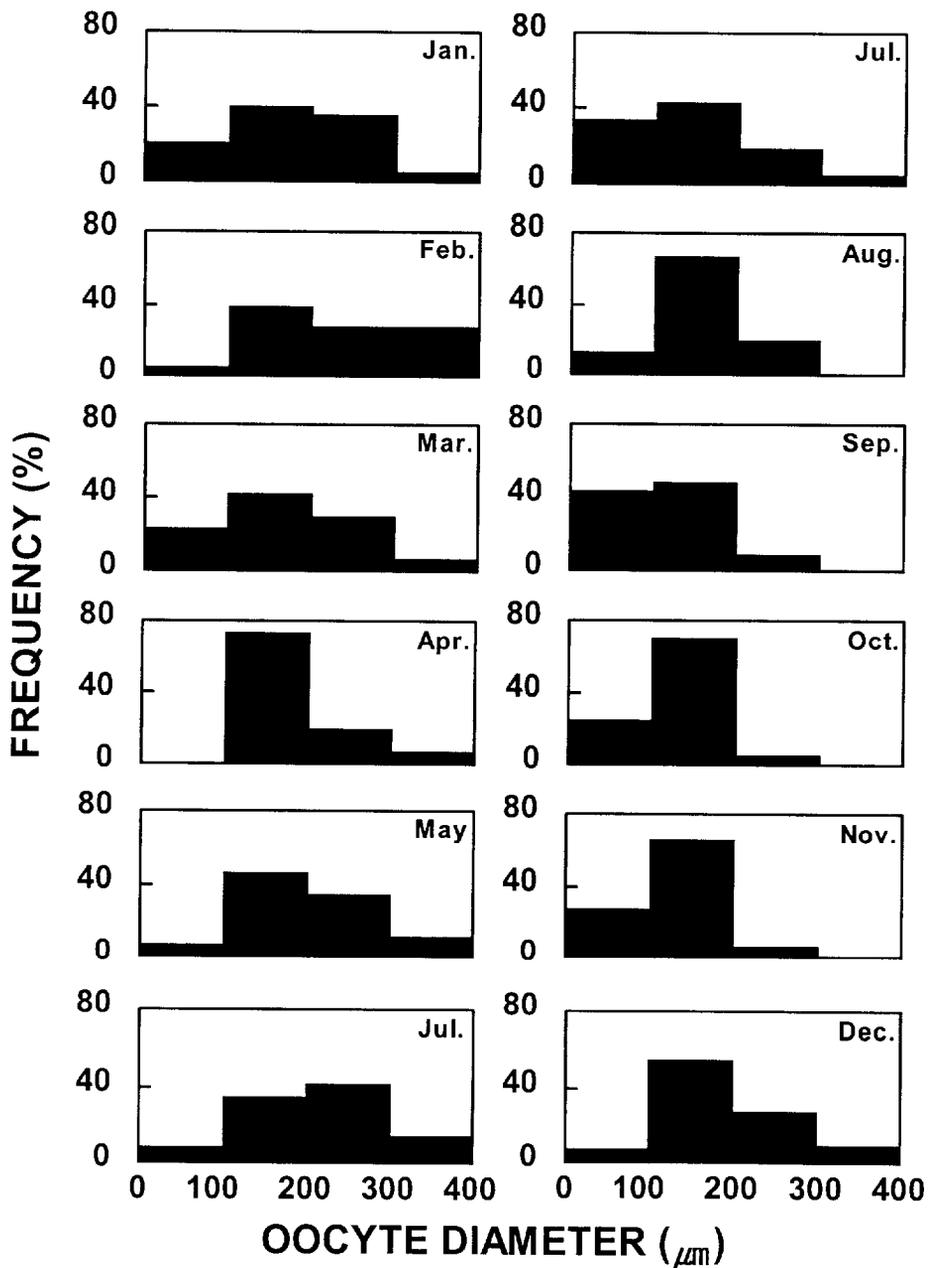


Fig. I-23. Relative frequency distribution of the oocyte diameter of *Koreanomelania globus*.

에 난황과립으로 가득찬 성숙한 난모세포가 나타났다. 이후 7월과 1월에 대부분 산란하고 8월과 2월에 회복기의 조직상을 보였다. 그리고 수컷에서는 3월과 9월에 분열증식기의 생식세포를 관찰할 수 있었다. 이후 4, 5월 그리고 10월에 걸쳐 성장기의 모습이 관찰되었으며, 특히 5월 정세포가 정소세관 내측에 다수 분열해 있는 것이 보였다. 6월과 11월에는 성숙·변태한 정자가 방출직전에 이르렀으며, 7월과 12, 1월에 방출기의 조직상이 관찰되었다. 이후 8월과 2월에는 방출기와 분열증식기가 동시에 관찰되는 회복기의 모습이였다.

4. 고찰

우리나라 강원도 일부 산간지대를 제외하고 전국도처의 산간계곡에 분포하고 있는 다슬기류는 폐흡충(*Paragonimus westermani*) 및 요꼬가와 흡충(*Metagonimus yokogawai*)을 매개하는 담수 고등으로서 기생충학적으로 매우 중요한 의의를 갖고 있다. Nakano and Nishiwaki (1989)는 다슬기의 생태학적 연구를 통해 종(種) 및 서식 환경이 번식에 미치는 영향이 크다고 보고한 바 있다. 따라서 종에 따른 번식주기를 파악하는 것은 필수적이며, 출산기를 파악하는 것은 다슬기류의 종묘생산시 기초 자료로 이용될 수 있다.

본 연구에 사용된 다슬기류 3종의 생식소는 소화맹낭의 위쪽 일부 표면에 위치하여 몸체 후부 끝까지 연장되어 있었으며, 난소는 청록색을, 정소는 황색을 나타내고 있었다. 대부분의 조개류 정자는 여러 개의 미토콘드리아가 2개의 중심체를 둘러싸고 있는 primitive type으로 보고되고 있으며(Franzen, 1956), 중편부에는 4~5개의 미토콘드리아를 가지고 있다(Longo and Dornfield, 1967). 본 연구의 다슬기류 3종에서도 primitive type으로 2개의 중심체를 4개의 미토콘드리아가 둘러싸고 있는 구조를 보였다. Hylander and Summers (1977)는 정자의 첨체구조가 난모세포의 난막과 연관이 있다고 하였으며, Franzen (1983)도 동일한 내용을 보고하였다. 따라서 다슬기류는 수정시 두꺼운 젤리층의 난막을 쉽게 통과하기 위해서 정자의 첨체가 화살촉 모양을 하고 있는 것으로 추정된다. 정자의 편모는 한 쌍의 중심 미세소관과 9쌍의 주변 미세소관을 가지는 전형적인 9+2구조를 나타냈다. 다슬기류의 정자는 두부가 긴 막대모양으로 3 μm 전후에 달하고, 첨체는 1.5~1.6 μm 의 긴 화살촉 모양으로 Kim and Yoo (2000)가 보고한 참재첩, *Corbicula leana*의 정자와 비슷한 구조였다.

3종의 다슬기류의 평균 난경은 다슬기 179.2±12.0 μm , 꽃체다슬기 229.8±88.8 μm , 염주알다슬기 166.8±60.8 μm 로 나타나, 꽃체다슬기의 난경이 다른 두 종의 다슬기에 비해 큰 것으로 확인되었으며, 난생종인 염주알다슬기의 평균 난경

이 가장 작은 것으로 나타났다. 세 종의 다슬기는 연중 발달중인 난모세포를 가지고 있었으며, 다슬기와 꽃체다슬기에서 가장 성숙했다고 생각되는 450~600 μm 의 난모세포 빈도가 각각 2월·8월, 5월·10월에 높게 보이고, 염주알다슬기에서는 300~400 μm 크기의 난모세포가 2월과 7월에 높게 나타남으로써, 세 종의 다슬기는 연중 2회의 주된 번식주기를 갖는 것으로 판단된다.

또한 생식소의 조직학적 관찰에 의한 다슬기, 꽃체다슬기 및 염주알다슬기의 생식세포 형성은 각각 3월, 2월 및 3월에 시작되는 것을 알 수 있었다. 이 중 다슬기와 꽃체다슬기에서는 발달하기 시작한 난모세포가 성숙하여 배란전에 수컷과의 교미를 통해 들어온 정자와 수정이 이루어지는 것으로 보인다. Nakano and Nishiwaki (1989)는 다슬기 생식기관에 관한 해부·조직학적 연구를 통해 암컷에 저장낭(spermatophore bursa)이 존재한다고 보고하였으나, 수컷과의 교미시기에 관한 보고는 찾아보기 힘들다. 본 연구에서는 조직학적 방법에 의해 다슬기와 꽃체다슬기 수컷의 교미 시기를 파악하였는데, 다슬기는 7, 8월, 1월에 꽃체다슬기는 6월과 12월에 교미하는 것으로 나타나, 교미시기 역시 암컷의 배란기와 마찬가지로 연중 2회 일어나는 것으로 생각된다.

보육양 유생수의 월별변화에서 다슬기는 2~4월, 6, 7월에 평균 유생수가 감소하고, 11월까지 유생수가 증가하였다. 꽃체다슬기는 3~5월, 7, 8월, 9, 10월에 수시로 감소하여 다슬기와는 차이가 있었지만, 평균 유생수가 봄·여름에 비해 가을·겨울에 많은 것으로 나타났다. 이러한 경향은 연중 수온이 10.2~23.7°C로서 일본 군마현(群馬縣)에 서식하는 다슬기의 유생수가 봄·여름에 감소하고, 가을·겨울에 증가한다는 Koike et al. (1992)의 연구와 비슷한 결과였다.

다슬기와 꽃체다슬기는 연중 보육양에 발생 중인 유생을 보유하고 있었다. 다슬기에서 유생을 발달단계에 따라 구분하여 계수한 결과, trochophore, pre-veliger, veliger 단계의 유생은 연중 나타났으며, 출산 전 단계인 juvenile

은 9월을 제외한 모든 월에서 관찰할 수 있었다. 9월에 juvenile이 관찰되지 않았던 점으로 보아, 대부분의 개체가 봄·여름에 출산을 종료하고 고수온기에는 juvenile 이전 단계만 보유하고 있는 것으로 생각된다. 그러나 꽃체다슬기에서는 연중 4단계의 유생을 관찰할 수 있었다. Trochophore의 빈도는 다슬기와 꽃체다슬기 두 종에서 모두 5월에 연중 가장 높은 값을 나타냈으며, 이후 감소하여 9월에 다시 증가하는 경향을 보였다. 이것은 봄 수온 상승과 함께 생식세포의 성숙이 일어나서 교미를 통해 들어온 정자와 수정을 통해서 유생이 보육낭으로 보내져 trochophore의 빈도가 증가한 것으로 생각된다. 봄 수온 상승과 함께 생식세포의 성숙이 일어난다는 것은 Koike et al. (1992)의 보고에서도 언급된 바 있다. 이때 보육낭으로 보내진 trochophore는 발생단계를 거쳐 pre-veliger 유생이 되는데, 5월과 9월 이후에 다슬기와 꽃체다슬기 보육낭내 pre-veliger 유생의 빈도가 높아진 것은 이전에 보육낭에서 발생한 trochophore에 의한 것으로 생각된다. 다슬기에서는 6월에 비해 10, 11월에 pre-veliger의 빈도가 높게 나타났는데, 이것으로 수온 하강기 보다는 수온 상승기에 유생이 다음 단계로 발생하는 데 걸리는 시간이 짧다는 것을 알 수 있었다. 그러나 꽃체다슬기에서는 6월과 10월에 pre-veliger의 빈도가 유사하게 나타났다. 이는 서식지 환경의 차이 때문인 것으로 생각된다. Nakano (1990)는 수온 25℃에서 유생을 인공적으로 배양한 경우, 수정에서 veliger 유생까지 17.2일이 걸린다고 보고한 바 있다. 따라서 여름의 고수온에서는 유생의 발생이 빠르게 진행되고, 유생이 보육낭내에 저장되어 있는 기간도 겨울보다는 짧은 것으로 추측된다. 다슬기와 꽃체다슬기에서 여름철에는 veliger 유생의 급격한 발달을 관찰할 수 없었는데, 이는 고수온기에 다슬기 유생의 발생 속도가 빠르고 난소로부터 초기 발생배가 보육낭으로 연속 유입됨에 따라 유생단계별 비율의 차이가 없었던 때문으로 생각된다. 다슬기와 꽃체다슬기 두 종에서 출산 전 단계인 juvenile의 빈도는 1월에 가장 높았고, 5월까지 계속 감소하는 경향을 보였으

며, 이후 6, 7월에 그 빈도가 다소 높아졌으나, 8월부터 감소하였다. 따라서 봄에 trochophore의 발생과 함께 전년도에 성숙해 있던 juvenile의 출산이 3~5월에 이루어지고, trochophore의 빈도가 가장 높은 5월까지 대다수의 juvenile이 출산이 되는 것으로 생각되며, 5월에 발생한 trochophore는 이후 발생단계를 거쳐 9, 10월에 대부분의 유생을 출산하는 것으로 판단된다. Nakano and Izawa (1996)는 일본 미에현(三重縣)에 서식하는 다슬기의 보육낭 유생을 조사한 결과, 8월말에 보육낭에서 발생한 유생이 휴지상태로 겨울을 지내고 다음 해 4~6월에 걸쳐 출산하여, 겨울에 보육낭내 유생을 저장하는 기간이 8개월이 걸린다고 하였다. 본 연구에서 9월에 발생한 trochophore 유생이 다슬기는 다음 해 3~5월에, 꾀체다슬기는 4, 5월에 주로 출산되는 것으로 나타나, 일본 미에현(三重縣)에 서식하는 다슬기 보다 보육낭에 유생을 저장하는 기간이 다소 짧은 것으로 밝혀졌다.

이상의 다슬기, 꾀체다슬기 및 염주알다슬기의 난경분포와 생식세포의 발달과정, 보육낭내 유생 조성의 월별변화를 고찰해 볼 때, 다슬기류는 생식소에 연중 발달중인 생식세포를 가지고 있으며, 난태생종에서는 발달한 생식세포는 교미를 통해 들어온 정자와 수정하여 보육낭으로 이동하는 것을 알 수 있었다. 다슬기와 꾀체다슬기는 가을에 보육낭에서 발생한 유생을 월동후 각각 3~5월, 4, 5월에 대부분 출산하고, 봄에 발생한 유생은 같은 해 9, 10월에 출산하여, 봄·가을 연 2회의 출산성기를 갖는 것으로 나타났으며, 위의 2종에 비해 수온이 낮은 지역에 서식하는 난생종인 염주알다슬기는 2월과 7월에 주로 산란하는 것으로 판단되었다.

II. 출산유도

1. 서론

일반적으로 패류의 산란유발은 종묘생산에 있어 생산성을 높이는 우선적인 해결과제로서, 충분히 성숙한 어미로부터 일시적으로 대량의 수정란을 안정적으로 얻기 위한 연구가 시도되어 왔다. 이러한 조개류의 산란은 내·외적인 요인에 의해 조절이 되는 것으로 보고되고 있다(Giese and Kanatani, 1987).

산란유발 방법으로는 온도자극, 간출자극, 전기자극 등의 물리적 자극(Galtsoff, 1938; Loosanoff and Davis, 1963)과 H_2O_2 , NH_4OH , KCl , $BaCl_2$ 등의 화학적 자극(Iwata, 1971a; Kikuchi and Uki, 1974; Gibbons and Castagona, 1984; Crawford, 1986) 및 신경절 현탁액, 난자와 정자 현탁수 등의 생물학적 자극(Iwata, 1971b)이 있으며, 이를 단독 또는 병행하여 이용할 수 있다. 그러나 대부분이 해산 복족류인 전복류의 인공 종묘생산방법으로 연구되었다. 이때패류에 있어서는 자외선 조사해수 및 serotonin에 의한 가리비류(Uki and Kikuchi, 1974; Matsutani and Nomura, 1982, 1986; Tanaka and Murakoshi, 1985)에 대한 연구가 있으며, 우리나라에서도 가리비(Kang et al., 1996) 및 코끼리조개(Lee et al., 1997)의 인공 종묘생산의 방법으로 산란유발에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

다슬기류는 재첩류와 석패과 일부 등과 함께 아직도 분류가 불완전한 것으로 지적되고 있다(Kwon, 1990). 이와 같이 분류가 불완전한 이유는 수류와 수저면의 토질 구성의 차이 등 서식환경에 따라 패각의 크기, 모양, 색깔 등에서 많은 다양성을 나타내기 때문이다(Davis, 1969). 다슬기류는 의학적 측면에서 폐흡충(*Paragonimus westermani*) 및 요꼬가와 흡충(*Metagonimus yokogawai*)의 제1중간 숙주로서 관여하고 있으며, 반딧불이의 먹이로써, 그리고 다슬기 자체를 식용 및 약용하고 있다는 경제적 측면에서 유용한 담수 고등임에 비추어

불 때, 이 종의 양식 및 자원증식을 도모하기 위한 연구가 요구된다.

다슬기류(genus *Semisulcospira*)가 출산하는 치패의 수와 이들 치패의 실내사육에 관한 Nagai et al. (1979), Nakano (1990), Takami (1995) 등의 연구도 보고되고 있으며, 특히 다슬기와 꽃체다슬기는 난태생종으로 연중 보육낭에 발달중인 유생을 보육하며(Koike et al., 1992; Nakano and Izawa, 1996), 안정적인 수온과 먹이 조건에서 연속적인 출산이 가능하다(Nagai et al., 1979).

본 연구에서는 난태생종인 다슬기와 꽃체다슬기를 대상으로 앞에서 얻어진 번식주기 조사결과를 토대로, 여러 가지 물리·화학적 및 생물학적인 자극 방법에 따른 다슬기류의 효과적인 출산유도 방법을 파악하여, 다슬기류의 인공종묘 생산에 대한 기초 자료로 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험에 사용된 다슬기와 꾀체다슬기는 출산기인 9월에 각각 경상남도 양산시 내원사 계곡, 강원도 평창군 평창강 일대에서 채집된 것으로 이들에 대한 생물학적 조사는 Table. II-1과 같다. 채집된 모패는 연구실로 옮겨 20℃ 실내 수조(20 ℓ)에 수용하여 사육하였다.

Table II-1. Number and size of *Semisulcospira libertina libertina* and *Semisulcospra gottschei* used for the experiment of paturition induction

Species	Sex	Number	Shell height (mm)	Shell diameter (mm)	Total weight (g)
<i>Semisulcospira</i>					
<i>libertina</i>	Female	265	19.3±3.1	8.3±0.8	1.0±0.3
<i>libertina</i>					
<i>Semisulcospira</i>	Female	281	30.0±2.4	12.7±1.5	2.4±0.8
<i>gottschei</i>					

2.2. 출산유도 방법

2.2.1. 공기 노출과 수온 자극

다슬기와 꾀체다슬기 각각 20마리를 공기 노출 자극에서는 바람이 잘 통하고 그늘진 곳에 10분, 30분, 60분, 90분씩 노출시킨 후 각각 1마리씩 250 mL의 출산용기에 수용하였으며, 수온자극에서는 20℃에 수용되어 있던 다슬기와 꾀체다슬기 각각 20마리를 250 mL의 출산용기에 1마리씩 넣고 3℃, 6℃, 9℃ 및 12℃의 수온상승 자극을 주었다.

2.2.2. NH₄OH와 H₂O₂ 자극

NH₄OH와 H₂O₂ 첨가 자극에서는 다슬기와 꾀체다슬기 각각 20마리를 250 mL의 출산용기에 각각 1마리씩 수용하고, NH₄OH는 2×10⁻³, 4×10⁻³, 6×10⁻³ 및

8×10^{-3} N로 H_2O_2 는 0.25×10^{-2} , 0.5×10^{-2} , 1×10^{-2} 및 2×10^{-2} N을 첨가시켰다.

2.2.3. Serotonin과 acetylcholine 자극

250 mL의 출산용기에 다슬기와 꾀새다슬기를 각각 1마리씩 수용하고 신경 전달물질인 serotonin (5-hydroxytryptamine, $C_{14}H_{19}N_5O_2 \cdot H_2SO_4$, 5-HT, Sigma, USA)은 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} 및 10^{-2} M씩, acetylcholine chloride ($C_7H_{16}INO_2$, Acros, Belgium)는 10^{-12} , 10^{-9} , 10^{-6} 및 10^{-3} M로 처리하여 자극하였다.

2.3. 출산유도 효과

2.3.1. 출산개시 시간 및 출산개체 비율

각각의 출산유도 자극에 대하여 자극후 출산개시시까지의 소요시간 및 반응한 암컷의 수로써 출산개체 비율을 조사하였다.

2.3.2. 출산 유생수

출산개시후 7시간제에 모든 실험 개체의 폐각을 제거하여 암·수 구별을 하였으며, 출산된 유생수를 계수하였다.

2.3.3. 유생 출산율

암컷의 보육낭을 적출하여 잔존 유생수를 계수하였다. 출산된 유생과 보육낭에 잔존 유생의 단계구분은 Nakano (1990)의 방법을 따랐으며, 총 유생출산율과 juvenile 출산율은 다음의 식을 이용하여 구하였다.

$$\text{총 유생출산율} = \frac{\text{출산 유생수}}{\text{출산 유생수} + \text{잔존 유생수}} \times 100$$

$$\text{Juvenile 출산율} = \frac{\text{출산 juvenile 수}}{\text{출산 juvenile 수} + \text{잔존 juvenile 수}} \times 100$$

출산유도 자극에 따른 모든 자료는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul, Min. USA)로 분산분석을 실시하여 최소 유의차 유무를 판정하였다.

3. 결 과

3.1. 다슬기

3.1.1. 출산개시 시간 및 출산개체 비율

여러 가지 출산유도 자극에 따른 다슬기의 출산개시 시간 및 출산개체 비율은 Table II-2와 같다. 사육수온(20°C)보다 3, 6, 9, 12°C 상승시킨 모든 실험구에서 출산이 유도되었으나, 암컷의 출산율은 9°C 상승시킨 실험구에서 71.4%로 가장 높게 나타났다. 출산개시시까지의 소요시간은 12°C 상승시켰을 때 20분으로 가장 짧았다. 다슬기는 공기 노출, H₂O₂ 및 NH₄OH 첨가 자극에 대해서는 반응하지 않았다. Serotonin 첨가 자극에서는 전체적으로 출산율이 낮았으며, 출산율은 10⁻⁶ M에서 12.5%로 가장 좋았으나 소요시간이 10⁻⁴ M보다도 긴 것으로 나타났다. 그러나 acetylcholine 첨가 자극에서는 10⁻⁹ M에서 66%로 암컷의 출산율이 가장 높게 나타났으며, 10⁻¹² 및 10⁻³ M에서는 출산하지 않았다.

3.1.2. 출산 유생수

여러 가지 출산유도 자극 방법에 따른 다슬기의 출산 유생수를 Fig. II-1에 나타내었다. 다슬기는 공기 노출, NH₄OH 및 H₂O₂ 자극에 대해서는 출산하지 않았다. 수온을 12°C 상승시켰을 때 20마리로 많은 유생을 출산하였으며, 수온이 높을수록 출산 유생수도 많아지는 경향을 보였다. Serotonin을 10⁻⁴ M 첨가하였을 때는 6마리 출산하였으며, acerylcholine은 10⁻⁹ M 첨가하였을 때 62마리로 가장 많이 출산하였다(P<0.05).

3.1.3. 유생 출산율

출산유도 자극후 암컷의 보육낭내 유생수를 계수하여 총 유생출산율을 조사한 결과, 각각의 자극 방법에 대해 수온을 12°C 상승시켰을 때 3.2±2.2%로 가장 높았다. Serotonin은 10⁻⁴ M 첨가시, acetylcholine은 10⁻⁹ M 첨가시 각각 3.9±0.7%, 24.4±0.5%의 유생출산율을 보였으며, 이중 acetylcholine을 10⁻⁹ M 첨가시에 유의하게 가장 많은 출산율을 나타냈다(Fig. II-2).

Table. II-2. Effect of various stimuli on the parturition of *Semisulcospira libertina libertina*

Stimulus	Condition	Parturition number	Parturition rate (%)	Required time to parturition (min.)
Temperature	3°C	4/14	28.6	40
	6°C	6/10	60	32
	9°C	10/14	71.4	18
	12°C	4/10	40	15
Air exposure	10 min.	0/12	-	-
	30 min.	0/10	-	-
	60 min.	0/13	-	-
	90 min.	0/8	-	-
NH ₄ OH	2×10 ⁻³ N	0/8	-	-
	4×10 ⁻³ N	0/12	-	-
	6×10 ⁻³ N	0/8	-	-
	8×10 ⁻³ N	0/7	-	-
H ₂ O ₂	0.25×10 ⁻³ N	0/10	-	-
	0.5×10 ⁻³ N	0/12	-	-
	1×10 ⁻³ N	0/8	-	-
	2×10 ⁻³ N	0/11	-	-
Serotonin	10 ⁻⁸ M	1/10	10	65
	10 ⁻⁶ M	1/8	12.5	60
	10 ⁻⁴ M	1/16	6.3	30
	10 ⁻² M	1/12	8.3	125
Acetylcholine	10 ⁻¹² M	0/12	-	-
	10 ⁻⁹ M	8/12	66.7	10
	10 ⁻⁶ M	1/12	8.3	60
	10 ⁻³ M	0/16	-	-

*Number of the parturient female/total number of the treated female

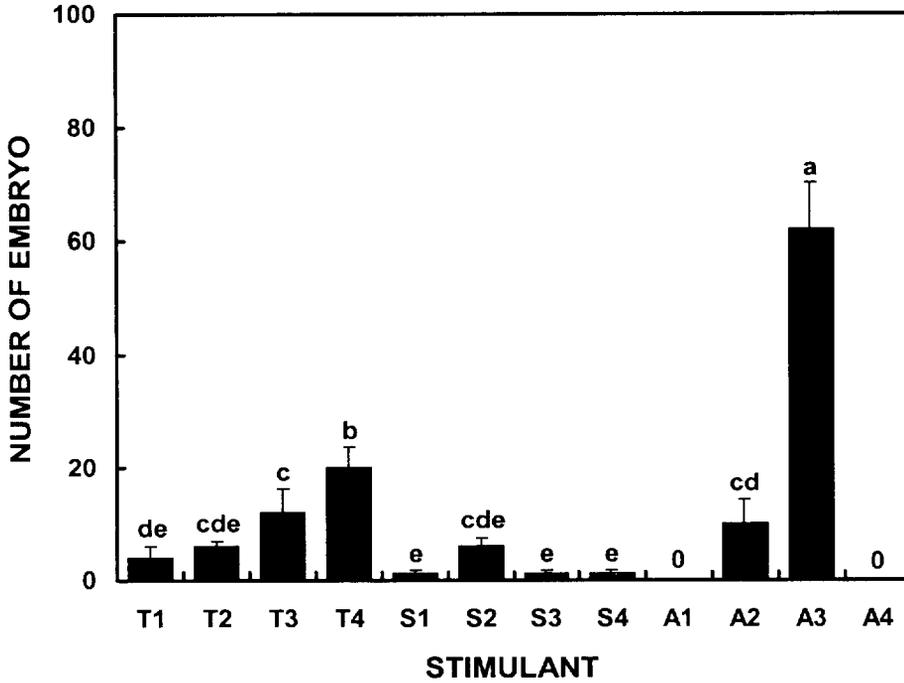


Fig. II-1. Number of newly parturient embryos to various stimuli on *Semisulcospira libertina libertina*. T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

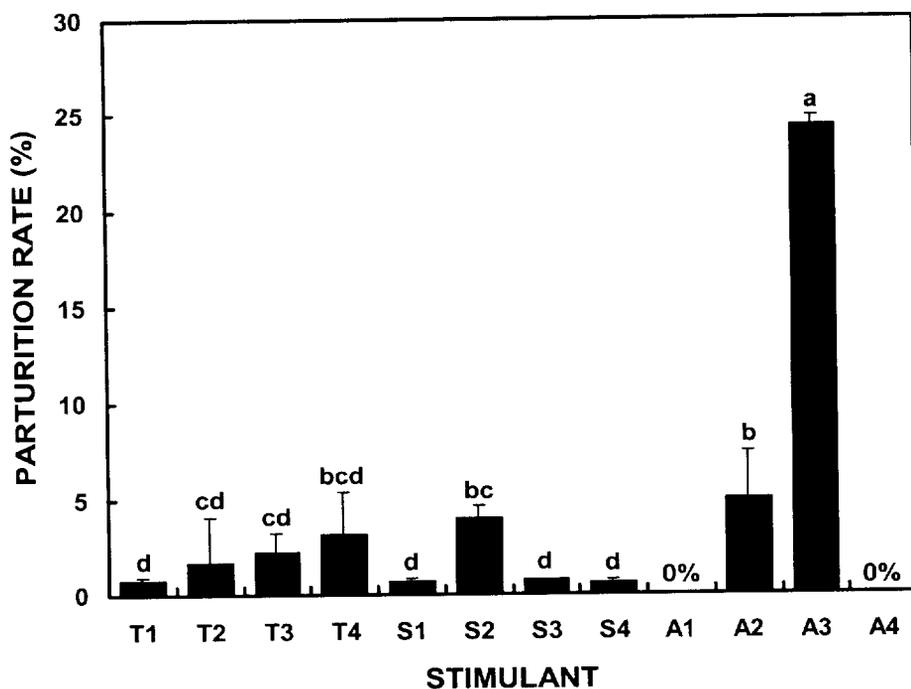


Fig. II-2. Parturition rate of total embryos to parturition induction on *Semisulcospira libertina libertina*. T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

보육낭내 juvenile의 수와 출산된 juvenile의 수를 계수하여 조사한 juvenile 출산율은 총 유생출산율의 경향과 비슷하였다. 수온자극에서 다슬기는 12℃ 상승시에 13.4±4.5%를 보였으며, serotonin 10⁻⁴ M에서 21.4±9.4%로 꾀체다슬기보다 높은 출산율을 나타냈다. Acetylcholine 첨가 자극에서도 총 유생출산율이 가장 높았던 10⁻⁹ M 첨가시에 57.5±5.3%로 juvenile 출산율도 높은 것으로 나타났다. 따라서 다슬기의 juvenile 출산율은 신경전달물질인 acetylcholine을 10⁻⁹ M 첨가했을 때 가장 좋은 결과를 얻었다(Fig. II-3).

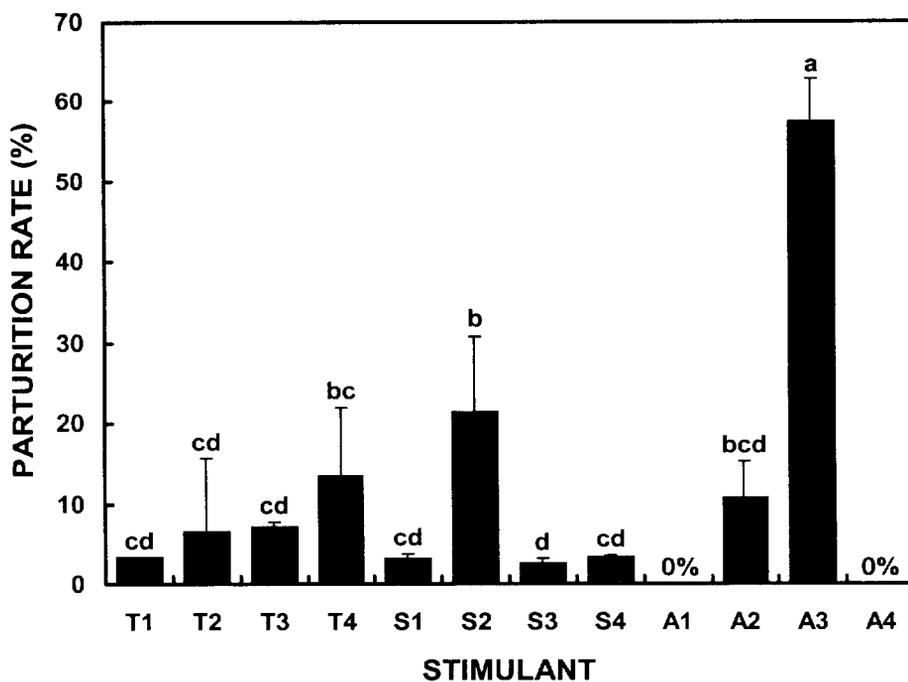


Fig. II-3. Parturition rate of juvenile to parturition induction on *Semisulcospira libertina libertina*. T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

3.2. 콧체다슬기

3.2.1. 출산개시 시간 및 출산개체 비율

콧체다슬기는 다슬기와는 달리 공기 노출에 대해서는 암컷의 출산율이 10분 노출시 50%였으며, 30분, 60분, 90분 노출시 100%로 나타났다. 소요시간은 10분 노출시 18분에서 90분 노출시 10분으로 노출시간이 길수록 소요시간이 짧았다. 사육수온(20°C)보다 수온을 상승시킨 모든 실험구에서 출산이 유도되었으며, 3°C 상승시킨 것을 제외한 모든 실험구에서 100% 출산하였다. 출산개시 시까지의 소요시간은 3°C 상승시에 25분, 12°C 상승시에 11분으로 온도가 높아질수록 소요시간도 짧아지는 경향을 나타냈다. Serotonin 첨가 자극에서 다슬기는 암컷의 출산율이 낮은 반면 콧체다슬기는 10^4 M에서 100%를 보였으며, 10^8 M에서 출산개시시까지 20분 소요된 반면, 10^2 M에서 6분이 소요되어 serotonin 농도가 높을수록 소요시간은 짧은 것으로 나타났다. Acetylcholine 첨가 자극에 대해서는 10^{-12} M에서 암컷의 출산율이 100%를 나타냈으며, 출산개시시까지 소요시간은 10분으로 가장 짧았다(Table II-3).

3.2.2. 출산 유생수

공기 노출에 대하여 다슬기는 출산하지 않았으나, 콧체다슬기는 60분 노출시에 68마리 출산하였다. 수온자극에 대하여는 9°C 상승시에 98마리로 가장 많은 유생을 출산하였으나, NH_4OH 와, H_2O_2 에 의해서는 다슬기와 마찬가지로 콧체다슬기에서도 출산된 유생이 없었다. 신경전달물질인 serotonin 첨가 자극에서 다슬기는 10^4 M에서 6마리 출산하였으나, 콧체다슬기는 같은 농도에서 24마리로 가장 많은 유생을 낳았으며, 농도에 따른 유의차가 인정되었다 ($P>0.05$). 또한 acetylcholine 첨가 자극에서 콧체다슬기는 10^{-12} M에서 78마리를 출산하였다(Fig. II-4).

3.3.3. 유생 출산율

출산유도 자극후 암컷의 보육낭내 유생수를 계수하여 총 유생출산율을 조사한 결과 콧체다슬기는 수온을 9°C 상승시켰을 때 $12.0\pm 6.4\%$ 로 가장 높게 나타났다. 공기 노출 자극에 대해서 콧체다슬기는 출산 유생수가 가장 많았던 60분

Table. II-3. Effect of various stimuli on the parturition of *Semisulcospira gottschei*

Stimulus	Condition	Parturition number	Parturition rate (%)	Required time to parturition (min.)
Temperature	3°C	8/10	80	25
	6°C	12/12	100	21
	9°C	8/8	100	17
	12°C	6/10	60	11
Air exposure	10 min.	6/12	50	18
	30 min.	10/10	100	16
	60 min.	12/12	100	12
	90 min.	16/16	100	10
NH ₄ OH	2×10 ⁻³ N	0/15	-	-
	4×10 ⁻³ N	0/12	-	-
	6×10 ⁻³ N	0/12	-	-
	8×10 ⁻³ N	0/10	-	-
H ₂ O ₂	0.25×10 ⁻³ N	0/10	-	-
	0.5×10 ⁻³ N	0/11	-	-
	1×10 ⁻³ N	0/7	-	-
	2×10 ⁻³ N	0/12	-	-
Serotonin	10 ⁻⁸ M	8/16	50	20
	10 ⁻⁶ M	8/8	50	16
	10 ⁻⁴ M	8/16	100	10
	10 ⁻² M	4/12	33	6
Acetylcholine	10 ⁻¹² M	14/14	100	10
	10 ⁻⁹ M	8/12	67	20
	10 ⁻⁶ M	8/12	67	32
	10 ⁻³ M	6/12	50	34

*Number of the parturient female/total number of the treated female

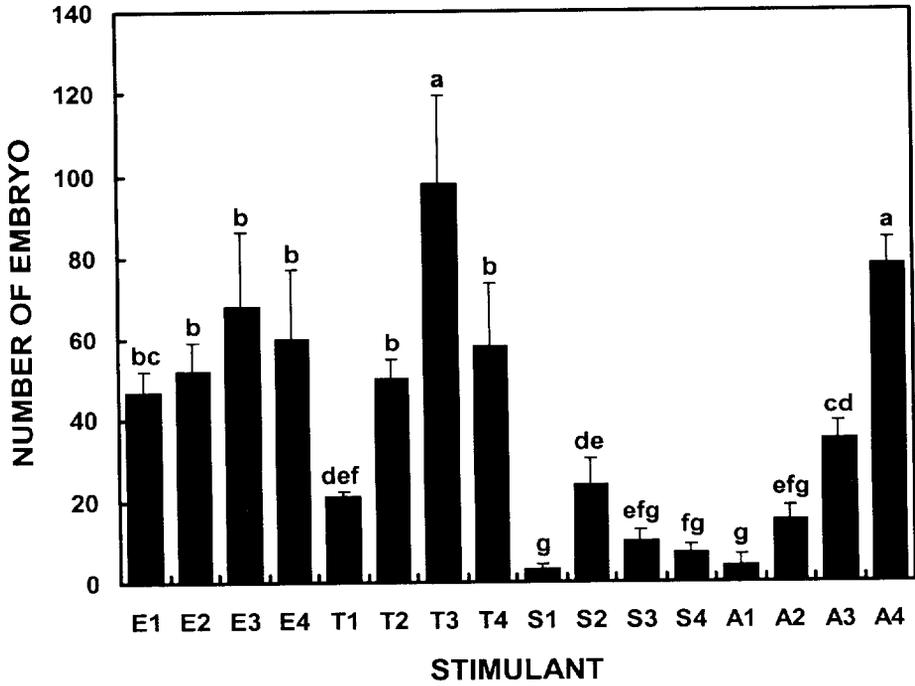


Fig. II-4. Number of newly parturient embryos to various stimuli on *Semisulcospira gottschei*. E1, 10 min. air exposure; E2, 30 min. air exposure; E3, 60 min. air exposure; E4, 90 min. air exposure; T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

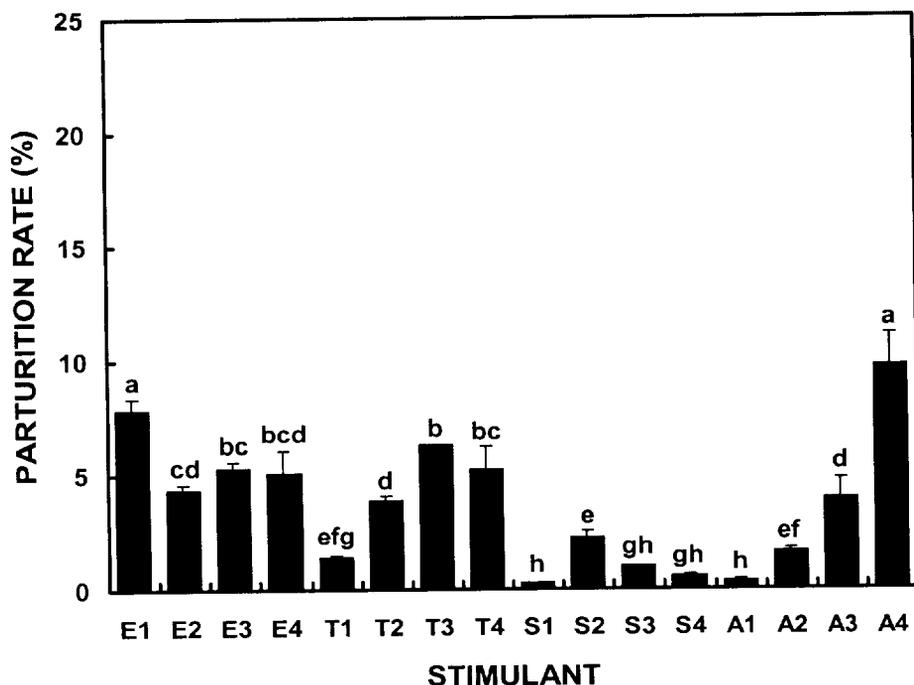


Fig. II-5. Parturition rate of total embryos to parturition induction on *Semisulcospira gottschei*. E1, 10 min. air exposure; E2, 30 min. air exposure; E3, 60 min. air exposure; E4, 90 min. air exposure; T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

분 노출시에 $5.3 \pm 0.3\%$ 로 가장 높게 나타났으나, 유의한 차이는 나타나지 않았다($P > 0.05$). 꽃체다슬기는 serotonin을 10^{-4} M 첨가했을 때 $2.3 \pm 0.3\%$ 의 총 유생 출산율을 나타냈으며, acetylcholine 첨가 자극에 대해서는 10^{-12} M에서 $9.7 \pm 1.4\%$ 로 가장 높게 나타났다(Fig. II-5).

꽃체다슬기도 다슬기와 마찬가지로 보육낭내 juvenile의 수와 출산된 juvenile의 수를 계수하여 조사한 juvenile 출산율은 총 유생출산율의 경향과 비슷하였다. 수온자극에서 꽃체다슬기는 9°C 에서 $56.3 \pm 3.7\%$ 로 나타남으로써 전체 juvenile의 50% 이상이 수온을 9°C 상승시킴으로써 출산이 가능한 것으로 나타났다. 꽃체다슬기의 juvenile 출산율은 10분 공기 노출시 $47.4 \pm 3.8\%$ 로 높게 나타났으며, 총 유생출산율이 가장 높았던 60분 노출시에 $48.7 \pm 10.6\%$ 로 약 50%의 juvenile이 출산되었다. 10분 노출시에 juvenile 출산율이 높았던 것은 다른 개체에 비해 총 juvenile의 수가 적었기 때문인 것으로 생각된다. Serotonin 및 acetylcholine 첨가 자극에서도 총 유생출산율이 가장 높았던 조건에서 juvenile 출산율도 높은 것으로 나타났는데, serotonin 10^{-4} M에서 $8.3 \pm 0.1\%$ 로, acetylcholine 10^{-12} M에서 $61.7 \pm 11.2\%$ 로 나타났다. 이상의 결과로부터 juvenile 출산율은 acetylcholine 10^{-12} M에서 가장 높게 나타났다(Fig. II-6).

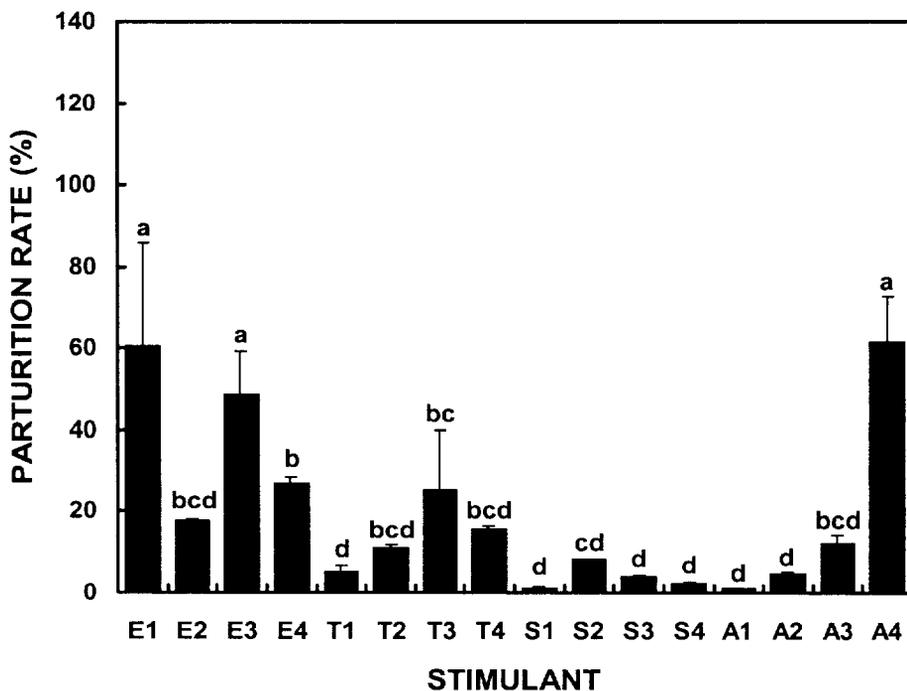


Fig. II-6. Parturition rate of juvenile to parturition induction on *Semisulcospira gottschei*. E1, 10 min. air exposure; E2, 30 min. air exposure; E3, 60 min. air exposure; E4, 90 min. air exposure; T1, 3°C increasing; T2, 6°C increasing; T3, 9°C increasing; T4, 12°C increasing; S1, serotonin 10^{-2} M; S2, serotonin 10^{-4} M; S3, serotonin 10^{-6} M; S4, serotonin 10^{-8} M; A1, acetylcholine 10^{-3} M; A2, acetylcholine 10^{-6} M; A3, acetylcholine 10^{-9} M; A4, acetylcholine 10^{-12} M.

4. 고찰

일반적으로 수온자극은 성숙한 모패의 사육수온보다 3~5°C 높은 수온을 유지함으로써 또는 수온상승 및 하강의 반복자극에 의해 산란유발이 가능하다. 다슬기 암컷은 사육수온 보다 9°C 높였을 때 71.4%로 가장 높은 출산율을 보였다. 출산 유생수는 12°C 상승시켰을 때 20마리로 가장 많았으나, 9°C 상승구에서 18마리 출산하여 유의차는 나타나지 않았다($P>0.05$). 꾀체다슬기에서는 6°C, 9°C, 12°C 상승시켰을 때 모두 100%의 출산율을 나타내었으며, 9°C 상승시에 가장 많은 유생을 출산하였다. 또한 출산개시시까지의 소요시간은 두 종 모두 수온이 높을수록 짧아지는 경향을 보여, 결과적으로 다슬기와 꾀체다슬기 모두 수온을 9°C 높일 때 가장 좋은 효과를 나타내었다. 공기 노출 자극에 대해서 다슬기는 출산하지 않은 반면, 꾀체다슬기는 10분 노출시를 제외하고 모든 실험구에서 100% 암컷의 출산율을 보였으며, 출산개시시간은 노출시간이 길수록 빨라지는 것으로 나타났다. 또한 60분 노출시 68마리의 유생을 출산하여 가장 좋은 효과를 나타내었다. NH_4OH 에 의한 산란은 pH 상승에 의하여 유발되는 것으로 알려져 있으며(Sagara, 1958), 가무락은 $8 \times 10^{-3} \sim 3 \times 10^{-2}$ N의 해수에서, 백합은 $1 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^{-2}$ N에서 방란·방정이 이루어져 패류의 종류에 따라 방란·방정을 일으키는 NH_4OH 의 농도에 차이가 있는 것으로 보고되고 있으나(Choi, 1975), 다슬기와 꾀체다슬기는 NH_4OH 에 반응하지 않았다. 해산 복족류인 전복의 경우 모패에 자외선조사 해수를 흘려줌으로써 방란·방정이 유발되며(Kikuchi and Uki, 1974), 이러한 자외선조사 해수의 효과는 H_2O_2 나 O_3 첨가의 경우와 마찬가지로 광화학 반응으로 생성되는 oxydant가 산란을 유발하는 일련의 생화학적 반응을 촉발함으로써 나타난다고 알려져 있다(Kikuchi and Uki, 1974). 다슬기와 꾀체다슬기의 H_2O_2 에 대한 출산 영향을 조사해 보았으나, 두 종 모두 NH_4OH 에서와 마찬가지로 출산을 하지 않았다. Serotonin에 대한 다슬기의 출산율은 10^{-6} M에서 12.5%를 나타내긴 했지만, 출

산개시시까지 60분 이상의 시간이 소요되며, 그 출산한 유생수도 매우 적어 수온자극보다 효과가 낮았다. 꽃게다슬기에서는 serotonin 10^4 M에서 100%의 출산율을 보였으며, 출산개시시까지의 소요시간도 다슬기보다 짧았다. 그러나 출산 유생수가 적어서 serotonin은 다슬기류의 출산유도에는 적합하지 않은 것으로 판단된다. Acetylcholine 첨가 자극에서 다슬기는 10^9 M에서 66.7%의 출산율을 보였으며, 출산개시시까지의 소요시간도 10분으로 수온자극보다도 짧은 시간내에 출산이 일어났다. 또한 출산 유생수에 있어서도 수온자극으로 출산된 유생수보다 많았다. 꽃게다슬기에서는 acetylcholine 10^{12} M에서 100%의 출산율을 나타냈으며, 출산개시시까지의 소요시간은 10분, 출산 유생수는 78마리로 가장 좋은 효과를 나타내었다. 이상의 결과로부터 다슬기는 acetylcholine을 10^9 M의 농도로 첨가하는 것이 가장 좋은 출산유도의 효과를 보이며, 꽃게다슬기에서는 수온을 9°C 상승시키거나, acetylcholine을 10^9 M 첨가하는 것이 좋은 효과를 나타냈다. 그러나 조개류에서 산란유발에 미치는 수온의 영향에 관한 생리적 기구가 정확히 밝혀지지 않고 있으며(Hirai et al., 1988), 수온자극은 모패의 사육 및 처리조건에 따라 유발률이 다르게 나타나 계획성 있는 채란 방법이 되지 못하는 것으로 지적되고 있다. 꽃게다슬기는 또한 간출자극에 대해서도 높은 출산율을 보였으며, 일반적으로 해산 패류에 있어서는 이것이 모패에 삼투압의 변화를 줌으로써 산란이 유발된다고 보고되고 있다.

1980년대 이후 serotonin이 가리비를 비롯한 조개류의 산란기구에 중요한 역할을 한다는 사실이 밝혀지고 있으며, 가리비 난소의 생식상피와 난소소낭에서 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. *Spisula solidissima*에서는 $20\ \mu\text{M}$ 이상의

serotonin 0.4 ml를 생식소에 주사하면, 2~3분 이내에 방란·방정이 유발되지
만, dopamine이나 acetylcholine 등 다른 신경전달 물질은 방란을 유발하지 못
하는 것으로 보고되고 있다(Hirai et al., 1988). Matsutani and Nomura (1987)
는 PG가 참가리비의 난소조각으로부터 알의 방출을 유발하고, 이런 작용은
PG 생합성 저해제인 aspirin의 투입으로 억제되고 PG E₂에 의해 촉진된다고
보고하였다.

이상의 결과들로부터 여러 자극들에 대하여 곳체다슬기가 다슬기에 비해 민
감하게 반응하는 것으로 나타났으며, 두 종 모두 serotonin 첨가 자극보다도
acetylcholine 첨가 자극에 대하여 높은 출산율을 보였다. 따라서 다슬기와 곳
체다슬기는 acetylcholine과 같은 신경전달 물질이 계획적인 출산을 유발하는
물질로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

Ⅲ. 요약

다슬기과 3종, 다슬기(*Semisulcospira libertina libertina*), 꽃체다슬기(*Semisulcospria gottschei*) 및 염주알다슬기(*Koreanomelania globus*)에 대한 번식생물학적인 기초자료를 얻고자 번식주기와 출산유도에 대하여 조사하였다.

1. 번식주기

다슬기과 3종은 연중 2회의 주된 번식주기를 갖는 것으로 나타났다. 다슬기의 번식주기는 암컷에서 분열증식기 3월·10월, 성장기 4, 5월·11월, 성숙기 6, 7월·12월, 배란기 8월·1월, 휴지기 9월·2월로, 수컷에서는 분열증식기 3월·10월, 성장기 4월·11월, 성숙기 5, 6월·12월, 교미기 7, 8월·1월, 휴지기 9월·2월인 것으로 판정되었으며, 암컷의 주된 출산시기는 3~5월, 9, 10월이었다.

꽃체다슬기는 암컷에서 분열증식기 2월·9월, 성장기 3월·10월, 성숙기 4, 5월·11월, 배란기 6, 7월·12월, 휴지기 8월·1월로, 수컷에서는 분열증식기 2월·8월, 성장기 3, 4월·9월, 성숙기 5월·10, 11월, 교미기 6월·12월, 휴지기 7월·1월로 판정되었으며, 암컷의 주된 출산시기는 4~6월, 9, 10월이었다.

난생종인 염주알다슬기의 번식주기는 암컷에서 분열증식기 3월·9월, 성장기 4, 5월·10, 11월, 성숙기 6월·12월, 산란기 7월·1월, 회복기 8월·2월로, 수컷에서는 분열증식기 3월·9월, 성장기 4, 5월·10월, 성숙기 6월·11월, 방정기 7월·12, 1월, 회복기 8월·2월로 구분되었다.

2. 출산유도

난태생종인 다슬기와 꽃체다슬기의 여러 가지 출산유도 자극에 따른 출산개시 시간, 출산 유생수 및 유생 출산율을 조사하였다. 여러 가지 자극에 대해 다슬기보다 꽃체다슬기가 민감하게 반응하였으며, H₂O₂ 및 NH₄OH 첨가 자극

에 대하여는 두 종 모두 반응하지 않았다. 다슬기와 꽃체다슬기는 수온자극, serotonin, acetylcholine에 대하여 모두 반응하였으나, 공기 노출 자극에 대하여는 꽃체다슬기만이 반응하였다. 다슬기는 acetylcholine을 10^{-9} M 첨가했을 때 62마리로 가장 많은 유생을 출산하였으며, 유생 출산율도 높게 나타났다. 꽃체다슬기는 수온을 9°C 상승시켰을 때 98마리로 가장 많은 유생을 출산하였으며, acetylcholine 10^{-12} M 첨가했을 때 78마리 출산하였다.

결과적으로, 다슬기와 꽃체다슬기의 인공 종묘생산에는 acetylcholine의 효과가 좋은 것으로 나타났다.

감사의 글

부경대학교 양식학과에 입학하여 이 논문을 쓰기까지 사소한 일에도 관심을 아끼지 않으시고 학문에 대한 열의를 심어주셨으며, 학자로서의 길을 열어주신 장영진 교수님께 깊은 감사의 말씀을 올립니다. 그리고 부족한 논문의 심사를 맡아주신 허성범 교수님과 방인철 교수님께 진심으로 감사드리며, 아울러 손철현 교수님, 조재운 교수님, 김동수 교수님, 김창훈 교수님, 배승철 교수님께도 깊이 감사드립니다.

실험실에 들어와서 처음으로 다슬기와 인연을 맺게해 준 김재준 선배님과 연구실 생활 동안 가장 큰 힘이 되어준 민병화 선배님께 감사드리며, 실험하는 동안 늘 따뜻한 웃음으로 맞아주시고, 다슬기 채집을 도와주신 강원도 평창군 푸른농원 김영주 사장님 그리고 순천향대학교 이윤아 양에게 진심으로 감사드립니다. 출장으로 강릉가면 늘 푸근한 잠자리를 제공해 주시고, 걱정해 주신 이정용 박사님, 장운정 박사님께도 깊이 감사드리며, 학부때부터 부족한 저를 다듬어 주신 임한규 박사님과 강덕영 박사님께도 감사의 마음을 전합니다. 마음이 푸근한 허준욱 선배님, 정이 많은 민지 언니, 세심한 부분까지 챙겨준 윤희 언니, 친구처럼 아껴준 문승현 선배님, 새롭게 시작하는 필규 선배와 범광씨에게도 감사드리며, 연구실 밖에서도 걱정해 주신 김성희 기술사님, 김덕환 선배님, 성형재 선배님, 백연우 선배님, 영신이 언니, 요한이 오빠에게도 진심으로 감사드립니다. 부족한 이 언니의 실험을 성심껏 도와준 사랑하는 후배 전해영 양에게도 고마운 마음을 전하며, 전자현미경 사진을 위해 도와주신 백병원 전자현미경실의 조극레 선생님과 김영숙 선생님께 감사드립니다.

힘든 일, 기쁜 일 있을 때 항상 옆자리를 지켜주고 힘이 되어준 교승이와 인생의 선배로, 때론 친구로 걱정하며 격려해 준 언니, 든든한 후원자가 되어준 형부와 오빠 그리고 귀여운 조카 기오와 기표에게 감사의 마음을 전합니다. 철부지 막내 딸을 늘 사랑과 믿음으로 응원해 주신 아버지, 당신 몸보다 딸 걱정에 잠 못 이루시며 추운데도 장사하시느라 고생하시는 어머니, 당신들께서 베푸신 사랑에 부족하나마 이 논문으로 감사의 마음을 전합니다.

참고문헌

- Chang, Y.J., H.K. Lim and Y.J. Park. 1997. Reproductive cycle of the cultured scallop, *Patinopecten yessoensis* in eastern waters of Korea. J. Aquaculture, 10(2), 133-141. (in Korean)
- Chang, Y.J., K. Mori and T. Nomura. 1985. Studies on the scallop, *Patinopecten yessoensis*, in sowing cultures in Abashiri waters -Reproductive periodicity. Tohoku J. Agr. Res., 35, 91-104.
- Chang, Y.J. and T.Y. Lee. 1982. Gametogenesis and reproductive cycle of the cockle, *Fulvia mutica* (Reeve). Bull. Korean Fish. Soc., 15, 241-253.
- Choi, S.S. 1975. Comparative studies on the early embryonic development and growth of *Meretrix lusoria* and *Cyclina sinensis*. Bull. Korean Fish. Soc., 8, 185-195. (in Korean)
- Chung, E.Y. 1980. Reproductive cycle and breeding season of the freshwater clam, *Anodonta (Sinanodonta) woodiana* (Lea). Bull. Korean Fish. Soc., 13, 135-144. (in Korean)
- Chung, E.Y., D.K. Ryou and J.H. Lee. 1994. Gonadal development, age and growth of the shortnecked clam, *Ruditapes philippinarum* (Pelecypoda; Veneridae), on the coast of Kimje, Korea. Korean J. Malacol., 10, 38-54.
- Chung, E.Y., H.B. Kim and T.Y. Lee. 1986. Annual reproductive cycle of the jackknife clams, *Solen strictus* and *Solen gordonis*. Bull. Korean Fish. Soc., 19, 563-574. (in Korean)
- Crawford, C.M. 1986. Spawning induction and larval and juvenile rearing of the giant clam, *Tridacna gigas*. Aquaculture, 58, 281-295.
- Davis, G.M. 1969. A taxonomic study of some species of *Semisulcospira* in Japan (Mesogastropoda; Pleuroceridae). Malacologia, 7, 211-294.
- Franzen, A. 1956. On spermiogenesis. Morphology of the spermatozoon, and biology of fertilization among invertebrates. Zool. Bidr. Upps., 31, 355-482.
- Franzen, A. 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. Gamete Res., 7, 199-214.
- Galtsoff, P.S. 1938. Physiology of reproduction of *Ostrea virginica*. I. Spawning reactions of the female and male. Biol. Bull., 74, 461-486.
- Gibbons, M. and M. Castagona. 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. Aquaculture, 40, 189-191.
- Giese, A.C. and H. Kanatani. 1987. Maturation and spawning. pp. 251-329.

- In; A.C. Giese, J.S. Pearse and V.B. Pearse (eds). Reproduction of marine invertebrates. Vol. 9. Blackwell Scientific Publications, Palo Alto, California.
- Habe, S. and H. Itagaki. 1978. Ecological study on the freshwater snail *Semisulcospira libertina* (Gould, 1959). Jap. J. Malac. (Venus), 37, 77-82.
- 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.
- Hylander, B.L. and R.G. Summers. 1977. An ultrastructural analysis of gametes and early fertilization in two bivalve molluscs, *Chama macerophylla* and *Spisula solidissima*, with special reference to gamete binding. Cell Tiss. Res., 182, 469-489.
- Im, S.K., I.S. Joung, P.R. Chung and K.T. Lee. 1986. Residual chlorinated hydrocarbon pesticides in *Semisulcospira* spp. (Gastropoda: Pleuroceridae) collected at the endemic and non-endemic areas of paragonimiasis in Korea. Korean J. Malacol. 2(1), 13-25. (In Korean)
- Iwata, K.S. 1971a. Spawning of *Mytilus edulis* (5). A method to obtain mature eggs from mantle piece. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 17, 15-18.
- Iwata, K.S. 1971b. Spawning of *Mytilus edulis* (7). Acid-inhibition of spawning by KCl. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 17, 91-93.
- Kang, K.H., K.K. Baik, Y.J. Chang and S.K. Yoo. 1996. Spawning induction according to stimulating treatment and spat rearing of scallop, *Patinopecten yessonesis*. Korean J. Malacol., 12, 99-104. (in Korean)
- Kang, T.W. 1986. A histological studies on breeding season of *Semisulcospira gottschei*(V. Martens). Sci. Edu. Res. Chuncheon Nat. Uni. Edu. 13, 43-47.
- Kikuchi, S. and N. Uki. 1974. Technical study on artificial spawning of abalone, genus *Haliotis* II. Effect of irradiated sea water with ultraviolet rays on inducing to spawn. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab., 33, 79-86. (in Japanese)
- Kil, B.S. 1977. Ecological studies on the freshwater gastropods in Korea. Distribution of *Semisulcospira forticosta* in the Taebaek range. Korea. J. Limnol., 10, 29-35. (in Korean)
- Kim, D.H., H.K. Lim, K.S. Min, Y.J. Chang and T.I. Kim. 1999. Reproductive cycle of surf clam (*Tresus keenae*) in southern coast of Korea. J. Korean Fish. Soc., 32, 659-663. (in Korean)
- Kim, J.H. and M.S. Yoo. 2000. Spermatogenesis and sperm morphology in marsh clams, *Corbicular leana* (Prime). J. Korean Fish. Soc., 33, 171-175.
- Kim, S.S., D.C. Kim, P.R. Chung and Y.J. Chung. 1987. A cytological study

- on two species of genus *Semisulcospira* (Gastropoda: Pleuroceridae) in Korea. Korean J. Malacol., 3(1), 24-34. (in Korean)
- Kim, Y.H., T.K. Lee and Y.S. Cha. 1985. Studies on the nutritive component of black snail, *Semisulcospira libertina*. Collection of Thesis, Chonbuk Nat. Uni., 16, 101-105. (in Korean)
- Koike, K., S. Kuniyoshi, K. Furuse, N. Umezawa, A. Masuda and S. Nishiwaki. 1992. Seasonal changes in gametogenesis and embryo composition in the brood pouch of *Semisulcospira libertina*. Venus, 51, 279-294. (in Japanese)
- Kwon, O.G. 1990. Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korea. Mollusca (I), pp. 131-140. (in Korean)
- Lee, C.S., S. Rho and Y.J. Park. 1997. Studies on the artificial seedling production of geoduck clam, *Panope japonica* I. Spawning induction and hatching. J. Aquaculture. 10, 113-121.
- Lee, J.H. 1980. Gametogenesis and reproductive cycle of the topshell, *Turbo cornutus* Solander. Bull. Korean Fish. Soc., 13, 125-134. (in Korean)
- Longo, J.C. and B.J. Dornfield. 1967. The fine structure of spermatid differentiation in the mussel, *Mytilus edulis*. J. Ultrastructure Res., 20, 462-480.
- Loosanoff, V.L. and H.C. Davis. 1963. Rearing of bivalve molluscs. Adv. Mar. Biol., 1, 1-136.
- Min, K.S. 1999. Studies on the commercial scale production of artificial seedling of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Doctor Thesis, Pukyong Nat. Uni., 140 pp. (in Korean)
- 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. 1986. Pharmacological observations on the mechanism of spawning in the scallop, *Patinopecten yessoensis*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52(9), 1589-1594.
- Nagai, S., H. Yamamoto, K. Ishii, M. Otsuka and M. Kobayashi. 1979. Rearing and population growth of freshwater snail, *Semisulcospira libertina* in the laboratory. Venus, 38, 25-34.
- Nakano, D. 1990. A method of embryo culture and an outline of development of the ovoviviparous freshwater snail, *Semisulcospira libertina* (Prosobranchia: Pleuroceridae). Venus, 49, 107-119.
- Nakano, D. and K. Izawa. 1996. Reproductive biology of *Semisulcospira libertina* (Prosobranchia: Pleuroceridae) in Iga Basin, Mie Prefecture. Venus, 55, 235-241.

- Nakano, D. and S. Nishiwaki. 1989. Anatomical and histological studies on the reproductive system of *Semisulcospira libertina* (Prosobranchia: Pleuroceridae). *Venus*, 48, 263-273.
- 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.
- Sagara, J. 1958. Artificial discharge of reproductive elements of certain bivalve caused by injection with NH₄OH. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 23, 505-510. (in Japanese)
- Takami, A. 1995. Growth and number of newborns in *Semisulcospira kurodai* (Prosobranchia: Pleuroceridae) reared in the laboratory. *Venus*, 54, 123-132 (in Japanese)
- Tanaka, Y. and M. Murakoshi. 1985. Spawning induction of the hermaphroditic scallop, *Pecten albicans*, by injection with serotonin. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 7, 9-12.
- Uki, N. and S. Kikuchi. 1974. On the effect of irradiated sea water with ultraviolet rays on inducing spawning of the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, 34, 87-92. (in Japanese)