



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

**A THESIS
FOR THE DEGREE OF DOCTOR PHILOSOPHY**

**Annual variation of reproductive effort, biochemical composition
and *Perkinsus olseni* infection in Manila clam, *Ruditapes
philippinarum*, off the west coast of Korea**

HYUN-SUNG YANG

**Department of Marine Life Science
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY**

August 2011

**Annual variation of reproductive effort, biochemical composition
and *Perkinsus olseni* infection in Manila clam, *Ruditapes
philippinarum*, off the west coast of Korea**

HYUN-SUNG YANG

(Advised by Professor Kwang-Sik Choi)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of

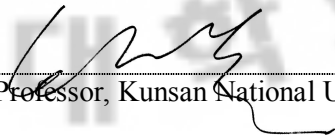
DOCTOR OF PHILOSOPHY

August 2011

This thesis has been examined and approved by



Thesis director, Dr. Susan Elizabeth Ford, Professor Emeritus, Rutgers University



Dr. Kyung-Il Park, Assistant Professor, Kunsan National University

Dr. Kyeong-Jun Lee, Associate Professor, Marine Life Science

Dr. Gi-Young Kim, Assistant Professor, Marine Life Science

Dr. Kwang-Sik Choi, Professor, Marine Life Science

2011.08

Date

DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

CONTENTS

Summary.....	1
List of Figures.....	5
List of Tables.....	8
Part I. Seasonal changes in reproduction, <i>Perkinsus olseni</i> infection and biochemical composition of the Manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> in Anmyeon-do Island off the west coast of Korea.....	10
Abstract.....	11
1. Introduction.....	13
2. Materials and Methods.....	15
2.1. Sampling efforts.....	15
2.2. Histological observation.....	17
2.3. <i>Perkinsus olseni</i> assay.....	20
2.4. Biochemical composition of tissue.....	20
2.5. Statistical analysis.....	21
3. Results.....	22
3.1. Water temperature.....	22
3.2. Biometric measurements.....	24
3.3. Reproductive cycle.....	29
3.3.1. Bangpo.....	29
3.3.2. Shinya.....	29

3.3.3. Janggok	30
3.3.4. Gonam	30
3.4. <i>Perkinsus olseni</i> infection intensity	36
3.5. Biochemical composition	41
3.5.1. Total carbohydrate concentration	41
3.5.2. Total protein concentration	41
4. Discussion	45
4.1. Condition Index (CI)	45
4.2. Reproductive cycle	46
4.3. <i>Perkinsus olseni</i> infection	46
4.4. Biochemical composition	50

Part 2. Annual variation of reproductive effort, biochemical composition and *Perkinsus olseni* infection in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, off the west coast of Korea...53

Abstract.....	54
1. Introduction.....	55
2. Materials and methods.....	57
2.1. Sampling efforts.....	57
2.2. Histological observation.....	60
2.3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	60
2.4. <i>Perkinsus olseni</i> assay.....	62
2.5. Biochemical composition of tissue.....	62
2.6. Statistical analysis.....	63

3. Results.....	64
3.1. Environmental parameters.....	64
3.1.1. Water temperature.....	64
3.1.2. Salinity.....	66
3.1.3. Density.....	68
3.2. Biometric measurements.....	70
3.2.1. Shell length (SL, mm)	70
3.2.2. Tissue wet weight (TWWT, g)	72
3.2.3. Condition Index (CI)	74
3.3. Reproductive cycle.....	77
3.3.1. Sunjae.....	77
3.3.2. Sungam.....	77
3.3.3. Padori.....	78
3.3.4. Hwangdo.....	80
3.4. Gonadosomatic index (GSI)	86
3.5. <i>Perkinsus olseni</i> infection intensity.....	89
3.6. Biochemical composition in clam tissue.....	99
3.6.1. Total protein.....	99
3.6.2. Total carbohydrate.....	102
4. Discussion.....	106
4.1. Condition Index (CI)	106
4.2. Reproductive cycle & Reproductive effort.....	108
4.3. <i>Perkinsus infection</i> intensity.....	111
4.4. Seasonal changes in carbohydrate and protein.....	114

Part 3. Broodstock selection for the artificial seed production of Manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i>	116
Abstract.....	117
1. Introduction.....	118
2. Materials and methods.....	120
2.1. Samples.....	120
2.2. Histological observation.....	124
2.3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	125
3. Results.....	127
3.1. Water temperature.....	127
3.2. Biometric measurements.....	129
3.3. Gonadal development phase.....	132
3.4. Gonadosomatic index (GSI) and fecundity.....	134
4. Discussion.....	138
References	144

Summary

Part 1

Seasonal changes in reproduction, *Perkinsus olseni* infection and biochemical composition of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Anmyeon-do Island off the west coast of Korea

Abstract

We investigated the gametogenesis, *Perkinsus olseni* infection and biochemical composition of Manila clam *Ruditapes philippinarum* sampled from 4 sites (Bangpo, Gonam, Shinya and Janggok) of Anmyeon Island on the west coast of Korea from April 2005 to September 2006. Gametogenesis of female clams in Shinya, Ganggok and Gonam was firstly observed in January 2006, while in Bangpo was observed in December 2005. Ripe eggs were observed in May of 2005 and 2006 at all sites clams. The spawning of clam in Shinya and Gonam was processed from June to October, while that of Bangpo and Janggok was initiated one month later from July to October. The monthly average of condition index (CI, tissue wet weight/shell dry weight) in a regional clam population was ranged from 0.350 to 0.845, which was declined after showing the maximum value of CI in before spawning. Although CI value of all sites was similar, CI of Shinya population ranged from 0.350 to 0.557 which was relatively lower than that of Gonam, Bangpo and Janggok. The infection prevalence and intensity of *P. olseni* in clams at Bangpo showed the lowest with 16.8% and 20,373 *Perkinsus* cell/g tissue wet weight during this study. In contrast, clams from Gonam, Janggok and Shinya were highly infected with *P. olseni* showing the prevalence 93%, 96.9% and 81.8% and intensity of parasite in three sites ranged from 260,342 to 2,219,304 *Perkinsus* cell/g

tissue wet weight. Seasonal infection intensity of *P. olseni* were no difference between Bangpo and Shinya populations, it was increased in fall (September-November) and winter (December-February) for Janggok and Gonam populations ($p < 0.05$) after spawning. The exchange of total carbohydrate content among 4 clam populations coincided with CI pattern, whereas protein levels were distinctly different to carbohydrate content. The mean of total carbohydrate content and protein level in a regional clam population varied from 134.8-222.4 mg/g tissue dry weight and 378.8-425.5 mg/g tissue dry weight, respectively.

Part 2

Annual variation of reproductive effort, biochemical composition and *Perkinsus olseni* infection in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, off the west coast of Korea

Abstract

Seasonal changes in reproductive cycle, reproductive effort, *Perkinsus* infection intensity, condition index (CI) and biochemical composition of the clams, *Ruditapes philippinaru*, were investigated over 3 years in Sunjae and Sungam and 4 years in Padori and Hwangdo. Based on the *Perkinsus* infection level, the clam beds grouped into three categories: (1) heavily infection area (HIA: Hwangdo); (2) moderately infection area (MIA: Sunjae and Sungam); and (3) lightly infection area (LIA: Padori). Reproductive cycle of MIA showed regular annual trend, while in HIA and LIA were irregular annual trend. The mean prevalence and infection intensity of *Perkinsus* ranged from 62-100% and 9,388 ($\pm 4,869$)-2,063,087 ($\pm 917,113$) *Perkinsus* cell/g tissue wet weight (TWWT). Among three clam

populations, clams from Padori showed the lowest infection level, the prevalence and intensity were 62% and 9,388 ($\pm 4,869$) *Perkinsus* cell/g TWWT, respectively. Hwangdo clams was 100% infected with *Perkinsus* during this study, and mean infection intensity of *Perkinsus* was 2,063,087 ($\pm 917,113$) *Perkinsus* cell/g TWWT. Clams at Sunjae and Sungam areas showed a high *Perkinsus* infection prevalence with 96% and 99%, whereas infection intensity of *Perkinsus* was moderate level were 351,262 ($\pm 207,028$) and 317,026 ($\pm 186,543$) *Perkinsus* cell/g TWWT, respectively. CI and total carbohydrate level are closely associated with annual reproductive cycle of clam. CI and carbohydrate level were higher during spring, when clams were in the developing stage. In spawning season, CI and carbohydrate level was decreased. We found that reproductive effort was negatively correlated with the *Perkinsus* infection intensity except clams collected from Padori: more heavily infected years produced fewer eggs during the spawning season.

Part 3

Broodstock selection for the artificial seed production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum*

Abstract

Reproductive effort (RE) were measured in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, collected from 26 sampling sites along the east, west, south and Jeju coasts in Korea 2009 during summer spawning season. To understand spatial pattern of clam RE, an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) was applied to quantify the egg production.

The gonadosomatic index (GSI) was represented that, a ratio of egg dry weight to tissue dry weight and it varied from 1.76 (± 3.30) to 18.91 (± 7.98) in all sites. The fecundity of clams estimated from ELISA was ranged from 358,382 to 11,373,973. GSI and fecundity of clams at Duiruini and Wando-subtidal area was much higher than that of other populations. Histological observation also showed mostly full developed in female clams both Duiruini and Wando area. The correlation between fecundity and individual size was significantly positive in the fecundity as increasing egg size of clam. This is the first report on the spatial distribution of clam GSI, and it will be provide a useful information of the broodstock selection for the artificial clam seed production.

LIST OF FIGURES

Fig. 1-1. Location of the sampling sites.....16

Fig. 1-2. Histological pictures of female Manila clam gonad (A: Early developing stage, B: Late developing stage, C: Ripe stage, D: Partially spawning stage, E: Spent/Resorbing stage and F: Resting stage).....19

Fig. 1-3. Seawater temperature of the sampling sites recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.....23

Fig. 1-4. Condition index (CI) of Manila clam collected from each sampling sites.....28

Fig. 1-5-1. Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Bangpo).....32

Fig. 1-5-2. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Shinya).....33

Fig. 1-5-3. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Janggok).....34

Fig. 1-5-4. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Gonam).....35

Fig. 1-6. Infection intensity of *Perkinsus olseni* assessed using RFTM/2M NaOH method. Result (B) converted from (A) using the equation according to the Park (1999) ($Y=2.0417X + 186,572$: Y is the total number of *Perkinsus* in the clam and X is the number of *Perkinsus* cells counted in the gill tissue).....38

Fig. 1-7. Seasonal variation of the *Perkinsus* infection intensity of clam in each sampling sites (Sp: spring, Su: summer, Au: autumn and Wi: winter,) ($p<0.05$).....39

Fig. 1-8. Seasonal changes of total carbohydrate composition in the clam tissue43

Fig. 1-9. Seasonal changes of total protein composition in the clam tissue.....44

Fig. 2-1. Location of the sampling sites.....58

Fig. 2-2. Flow chart for the experiment.....	59
Fig. 2-3. Seawater temperature of the sampling sites recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.....	65
Fig. 2-4. Salinity of sampling sites during sampling period.....	67
Fig. 2-5. Density of clam in each sampling sites during sampling period.....	69
Fig. 2-6. Condition index (CI-I as TWWT/SDWT) of clam in each sampling sites during sampling period.....	75
Fig. 2-7. Condition index (CI-II as TDWT/SDWT*100) of clam in each sampling sites during sampling period.....	76
Fig. 2-8-1. Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Sunjae.....	82
Fig. 2-8-2. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Sungam.....	83
Fig. 2-8-3. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Padori.....	84
Fig. 2-8-4. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Hwangdo.....	85
Fig. 2-9. Gonadosomatic index of clam in each sampling sites during sampling period.....	88
Fig. 2-10. <i>Perkinsus</i> infection intensity of clam in each sampling sites during sampling period.....	96
Fig. 2-11. Seasonal variation of the <i>Perkinsus</i> infection intensity of clam in each sampling sites during sampling period.....	97
Fig. 2-12. <i>Perkinsus</i> infection intensity from histological observation of clam in each sampling sites during sampling period.....	98

Fig. 2-13. Total protein contents of clam tissue in each sampling sites during sampling period	101
Fig. 2-14. Total carbohydrate contents of clam tissue in each sampling sites during sampling period	104
Fig. 2-15. Histological sections of Manila clam infected by <i>Perkinsus</i> (A: <i>Perkinsus</i> trophozoite characterized by the spherical uninucleated cells with large eccentric vacuole, B: The nodule formation due to high number of <i>Perkinsus</i> , C: <i>Perkinsus</i> infiltrated in mantle, noted that the thickness of mantle was increase, D: <i>Perkinsus</i> in foot muscle tissue and E: <i>Perkinsus</i> in female gonad follicle)	105
Fig. 3-1. Sampling locations	121
Fig. 3-2. Flowchart for the experiment	123
Fig. 3-3. Condition index of clam in Korean waters collected in June of 2009	131
Fig. 3-4. Gonadal development phase of clam in Korean waters collected in June of 2009	133
Fig. 3-5. Gonadosomatic index of clam in Korean waters collected in June of 2009	135
Fig. 3-6. Gonadosomatic index of clam in each development phases collected in June of 2009	136
Fig. 3-7. Fecundity of clam in Korean waters collected in June of 2009	137
Fig. 3-8. Correlation between clam dry tissue weight and fecundity estimated from ELISA	142

LIST OF TABLES

Table 1-1. Classification of reproductive stage of the female Manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> (Drummond et al, 2006).....	18
Table 1-2. Shell length (SL) of Manila clam collected from each sampling sites.....	26
Table 1-3. Tissue wet weight (TWWT) of Manila clam collected from each sampling sites..	27
Table 1-4. Infection prevalence of <i>Perkinsus olseni</i> and trematode (RFTM: infection prevalence of <i>P. olseni</i> from RFTM, HISTO: infection prevalence of <i>P. olseni</i> from histological observation).....	40
Table 1-5. Summary of gametogenic and spawning periods in Manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> , in Korean waters.....	52
Table 2-1. Shell length (SL) of Manila clam collected from each sampling sites.....	71
Table 2-2. Tissue wet weight (TWWT) of Manila clam collected from each sampling sites..	73
Table 2-3. Infection prevalence of <i>Perkinsus olseni</i> from RFTM/2M NaOH method of each sampling sites.....	94
Table 2-4. Infection prevalence of <i>Perkinsus olseni</i> from histological observation of each sampling sites.....	95
Table. 3-1. Sampling date and number of sample collected from each sampling location...	122
Table. 3-2. Distribution of surface mean water temperature at the sampling sites for the past 5 years recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.....	128
Table. 3-3. Biometry of female <i>Ruditapes philippinarum</i> surveyed in Korean waters (N: sample number, SL: shell length in mm, TWWT: tissue wet weight in gram, SDWT: shell dry weight in gram, CI: condition index as TWWT/SDWT).....	130
Table. 3-4. Concentration of chlorophyll-a in the water column reported from various	



Part 1

Seasonal changes in reproduction, *Perkinsus olseni* infection and biochemical composition of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Anmyeon-do Island off the west coast of Korea

Abstract

안면도에 서식하는 바지락을 대상으로 생식소발달, *Perkinsus olseni* infection 및 생화학 조성분 변화를 2005년 4월부터 2006년 9월까지 관찰하였다. 이 지역 암컷 바지락의 배우자 형성은 방포 지역의 경우 2005년 12월에 처음 관찰되었고, 나머지 세 지역 (신야, 장곡, 고남)은 2006년 1월에 나타났다. 완숙한 바지락 알은 2005년과 2006년 네 지역 모두 5월 처음 관찰이 되었다. 산란은 신야와 고남 지역의 바지락이 6월부터 10월까지 관찰된 반면, 방포와 장곡 지역의 바지락은 이보다 한달 늦은 7-10월 동안 관찰되었다. 지역별 월 평균 비만도 (Condition Index, CI= Tissue wet weight/shell dry weight)는 0.350-0.845의 범위였으며, 산란 직전에 최대값을 보인 이후 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 경향은 네 지역 모두 동일한 양상이었고, 신야 바지락의 비만도 (0.35-0.56)가 다른 세 지역에 비해 상대적으로 낮은 것을 알 수 있었다. *P. olseni* 감염율은 방포 바지락이 연구기간 평균 16.8%로 가장 낮은 것으로 확인되었고, 신야, 장곡 및 고남 지역의 감염율은 각각 81.8%, 95.9%와 93.0%로 나타났다. *P. olseni* 감염도는 지역별 연구기간 전체 평균 20,373-2,219,304 Converted *Perkinsus* cell/g TWWT (이하 PK cell)로 방포와 신야 바지락의 감염도가 각각 20,373 PK cell과 260,342 PK cell로 장곡 (2,219,304 PK cell)과 고남 (1,563,555 PK cell) 바지락의 감염도에 비해 낮게 나타났다. 계절별 *P. olseni* 감염도는 감염도가 낮은 지역인 방포와 신야에서는 차이가 없는 것으로 나타났지만, 장곡과 고남 지역은 산란 이후인 가을 (September-November)과 겨울 (December-February) 감염도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다 ($p < 0.05$). 탄수화물 함량 변화는 CI와 일치한 반면, 체내 단백질 함량과는 대조적인 변화 양상을 보

이고 있었다. 탄수화물 함량은 지역별 평균 134.8-222.4 mg/g TDWT 범위였고, 단백질은 지역별 평균 함량이 378.8-425.5 mg/g TDWT였다.



1. Introduction

바지락 (*Ruditapes philippinarum*)은 국내 수산업에 있어 굴과 함께 가장 중요한 수산 자원의 하나이며, 서해안과 남해안 일대 모래와 펄로 이뤄진 조간대에 널리 양식되고 있다. 이들 양식장에서는 자연적으로 치패가 생성되는 곳도 있으나, 일부 양식장의 경우 상업용으로 생산되는 1.0-1.5 cm의 치패를 구입하여 살포한 다음 2-3년 뒤 수확하기도 한다. FAO 발표 자료에 따르면, 우리나라 연간 바지락 생산량은 1990년대 초반 약 5-6만 톤이 생산되었으나, 2000년대 생산량은 1-2만 톤 내외로 감소하였다. 바지락 생산량 감소의 원인으로, 서식지 환경변화와 기생충 감염으로 인한 대량 폐사를 들 수 있지만 아직까지 정확한 원인에 대해서는 밝혀지지 않고 있다 (Park et al. 1999). 이처럼 계속되는 바지락 생산량 감소로 인해 바지락 자원관리의 중요성이 부각되고 있는 실정이다.

자원관리 차원에 있어 바지락 개체군의 생식소 발달과 산란시기 규명 등의 번식학적 연구는 매우 중요한 자료이다. 그러나 이런 중요성을 알고 있음에도 서식지에 따른 바지락의 번식학적 연구는 미진한 실정이다. 이매패류의 번식특성 연구 중, 생식소 조직을 이용한 조직학적 방법은 생식소의 발달단계를 수치화 하여 생식소의 변화과정을 관찰하고 정량화하는 평가 기법으로 가장 널리 사용되고 있다 (Barber 1996; Kennedy and Krantz 1982; Lango-Reynoso et al. 2000; Loosanoff 1942; Shafee 1989). 조직학적 관찰은 조직 내 질병 및 기생충에 의한 병리학적 관찰이 가능해 숙주의 번식패턴에 있어 중요한 자료로 사용되기도 한다 (Diggles et al. 2003).

원생성 기생충인 *Perkinsus* sp.는 굴, 바지락, 전복 등의 상업적으로 중요한

해산연체 동물의 대량폐사 원인 생물로 알려져 있다. 대량폐사가 나타난 대서양 굴 *Crassostrea gigas*에서는 심각한 *P. marinus* 감염이 관찰되었고, 성장 저하 및 생식소 성장 지연 등과 같은 현상이 나타났다 (Choi et al. 1993, 1994; Dittman 1993; Dittman et al. 2001; Mackin and Ray 1954). 우리나라에서 발견된 *Perkinsus olseni* 역시 남해안 및 서해안에 서식하는 바지락의 대량폐사를 일으키는 원인생물로 지목되어 왔다 (Park et al. 1999; Park and Choi 2001). 곰소만에 서식하는 바지락의 *Perkinsus* 감염도를 측정한 결과, *P. olseni* 감염이 심한 개체에서는 낮은 비만도와 번식량 저하 등이 관찰되었다 (Park et al. 2006).

이매패류의 에너지 축적, 체조직 성장 및 배우자형성에 이용되는 에너지는 서식지의 먹이환경 및 성성숙 과정과 밀접한 관련이 있다 (Sastry 1979; Camacho et al. 2003). 배우자형성에 따른 에너지는 cell 증식과 분열에 따른 배우자 형성, 산란기 시 배우자 방출 그리고 회복기 및 휴지기에 사용된다 (Giese and peares 1974; Thompson et al. 1996). 이와 관련된 다양한 이매패류의 번식주기에 따른 연중 체조성 성분 변화에 대한 연구들이 수행되어 졌다 (Camacho et al. 2003; Kang et al. 2007; Marin et al. 2003; Yang et al. 2011).

연구가 수행된 안면도 일대는 바지락 치패 생산지로 알려져 있다. 이번 연구는 바지락이 양식되고 있는 지역과 양식되고 있지 않는 지역의 번식주기, *Perkinsus* 감염 및 체조성 성분 분석 등을 실시하여 비교하고 안면도 일대에 서식하는 바지락 자원관리 차원의 기초 자료로 사용하고자 한다.

2. Materials and Methods

2.1. Sampling efforts

이번 연구에 사용된 바지락은 2005년 4월부터 2006년 9월까지 충청남도 안면읍 고남, 장곡, 신야 그리고 방포 4 지역에서 매월 1회 60개체씩 채집하였다 (Fig. 1-1). 채집된 바지락은 곧바로 실험실로 옮겨 각장 (Shell length, SL), 습중량 (Tissue wet weight, TWWT) 및 패각 건조량 (Shell dry weight, SDWT)을 측정하였다. 총 60개체의 시료 중, 30개체는 조직학적 관찰을 위해 패각을 제거한 뒤 Davidson's solution에 고정하였고, 나머지 30개체는 아가미를 이용한 *Perkinsus olseni* 감염도 측정에 사용하였다. 바지락의 비만도 (Condition Index, CI)는 습중량 (TWWT)과 건조된 패각 (SDWT) 무게비로 나타내었다 ($CI = TWWT/SDWT$).

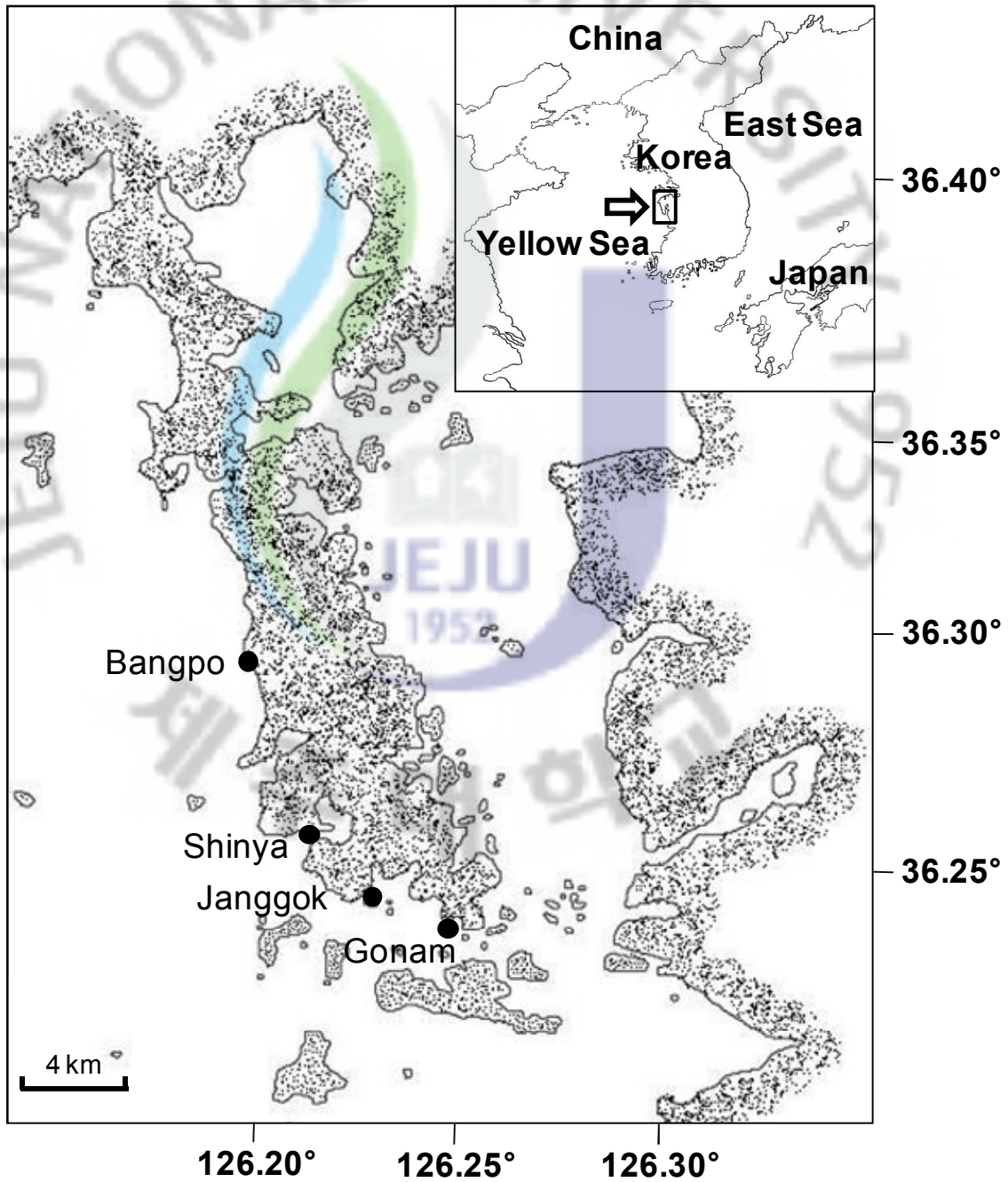


Fig. 1-1. Location of the sampling sites.

2.2. Histological observation

배우자형성과정을 관찰하기 위해 패각으로부터 분리된 바지락 조직을 Davidson's solution에 48시간 고정하였다. 고정이 끝난 시료는 3mm 두께로 절취하고 Powell et al. (1993)의 방법에 따라 에탄올을 이용하여 탈수한 후, 파라핀으로 포매 하였다. 포매된 조직 시료는 6 μ m 두께로 절편하여 Harris' Hematoxylin과 Eosin Y (Howard and Smith, 1983)로 비교염색 후 생식소 발달 과정을 관찰 하였다. 바지락의 생식소 발달단계는 Drummond et al. (2006)에 따라, 휴지기 (Resting), 초기 발달기 (Early developing), 후기발달기 (Late developing), 완숙기 (Ripe), 산란기 (Partially spawning) 및 소모기·흡수기 (Spent/Reorbing) 등 총 6단계로 구분하였다 (Table 1-1, Fig. 1-2). 또한, 생식소 발달 관찰 외 조직 슬라이드에서 관찰되는 *P. olseni* 와 trematode 같은 조직 내에서 발견되는 기생충의 감염율을 조사하였다.

Table 1-1. Classification of reproductive stage of the female Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Drummond et al, 2006).

Reproductive stage	Scale	Description
Resting	0	Gonad follicle compose of connective tissue. The follicle is empty, oogonia cannot be observed.
Early developing	1	Gonad proliferation initiates; increasing number of oocytes at follicular wall, no free oocyte in the follicles.
Late developing	2	Free oocytes in the lumen but most oocytes attach on the follicular walls.
Ripe	3	Gonad filling large surface area, oogenesis follicle full with polygonal configuration oocytes.
Partially spawning	4	Numbers of free oocytes in lumen are decrease, empty space in follicle can be observed.
Spent/Resorbing	5	Follicles appear broken, scatter and relatively empty, only residual oocytes numerous numbers of phagocytes.

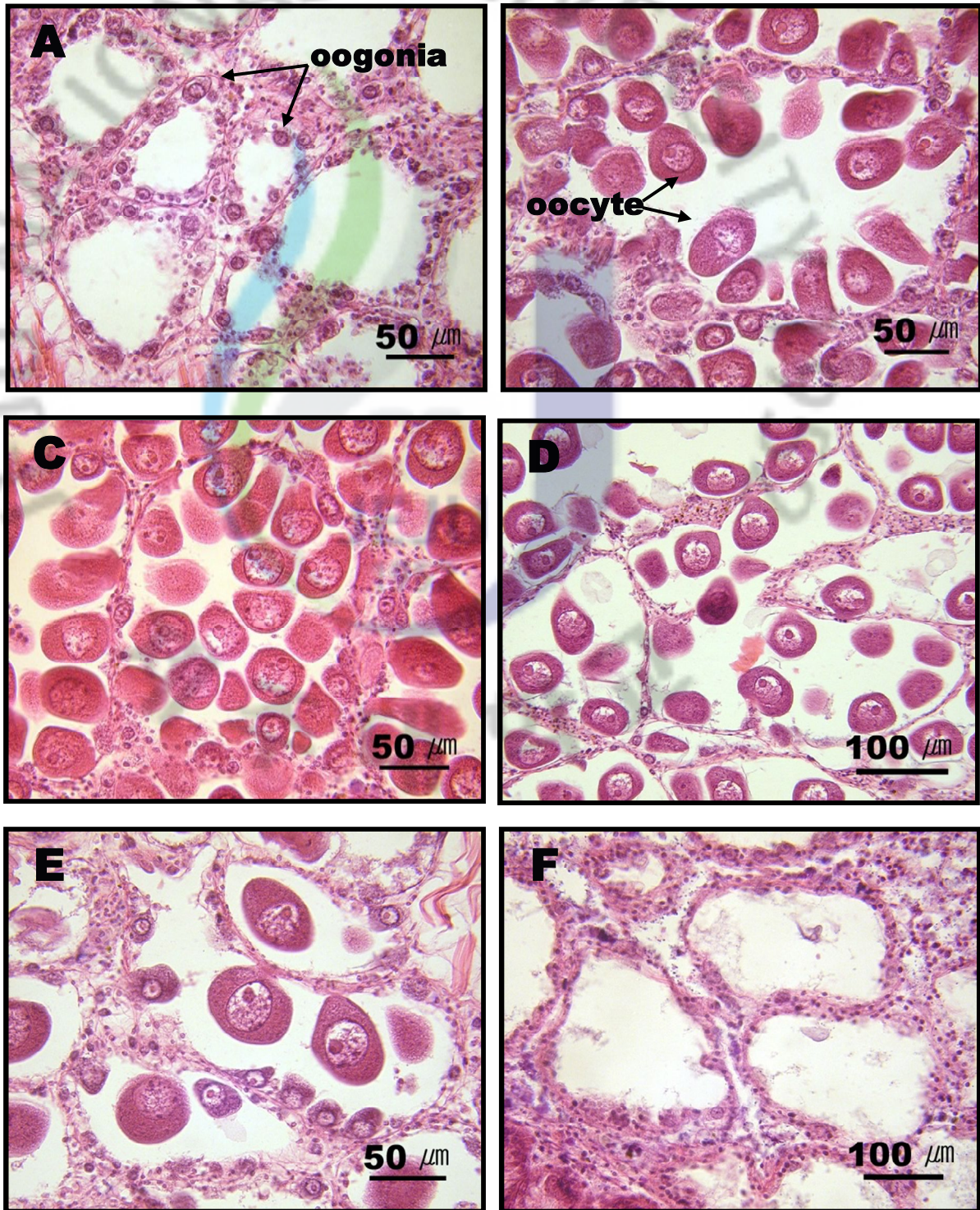


Fig. 1-2. Histological pictures of female Manila clam gonad (A: Early developing stage, B: Late developing stage, C: Ripe stage, D: Partially spawning stage, E: Spent/Resorbing stage and F: Resting stage).

2.3. *Perkinsus olseni* assay

바지락의 *P. olseni* 감염 정도를 알아보기 위해, 바지락 아가미를 이용하여 감염도를 측정하였다. 바지락의 양쪽 아가미를 절취하여 무게를 측정한 후, 미리 준비해 놓은 멸균된 5ml fluid thioglycollate medium (FTM) 배지에 항생제와 같이 넣고 실온의 암실에서 1주일간 배양하였다. 배양이 끝난 뒤 정량적인 *P. olseni* 감염도 측정을 위해 2M NaOH를 이용하여 2~3회 바지락 포자충 이외의 조직을 제거하고 *P. olseni* 만을 순수 분리하였다. 분리된 *P. olseni*는 혈구계수판을 이용하여 각 개체 당 4회 반복 계수하였고, *P. olseni* 감염도는 *Perkinsus* cell/g gill weight로 나타내었다. 바지락 조직 전체에 대한 *P. olseni* 감염도를 나타내기 위해 Park (1999)에 따른 공식을 이용하여 각 개체에 대한 감염도를 다음과 같이 환산하였다 (1).

$Y = 2.0417x + 186,572$ (Y: total number of *Perkinsus* cell in clam individual, x: number of *Perkinsus* cell in gill tissue) (1)

계절별 *P. olseni* 감염도 변화를 알아보기 위해 봄 (Sp: March-May), 여름 (Su: June-August), 가을 (Au: August-November) 및 겨울 (Wi: December-February)의 4 계절을 구분하고, 계절별 유의차를 비교하였다.

2.4. Biochemical composition of tissue

바지락의 총 단백질과 탄수화물 함량을 측정하였다. 총 단백질 함량은 BCA protein assay kit (Pierce, 23227)를 이용하였다. 균질화 된 샘플 20mg에 0.1M NaOH를 첨가하고 37°C에서 2시간 반응시킨 후, spectrophotometer를 사용해 562 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Bovine serum albumin을 50-2,000 µg/ml로 희석하여 표준용액으로 사용하였으며, 여기서 나타난 단백질 농도와 흡광도와의 상관식을 이용하여 시료의 단백질 함량을 계산하여 추정하였다 (Kang et al., 2007). 총 탄수

화물 함량 분석은 Taylor (1995)의 Phenol & Sulfuric acid 방법을 이용하였다. 건조된 바지락 시료 20mg에 1ml의 PBS를 첨가하고 초음파분쇄기를 이용하여 균질화하였다. 탄수화물 정량을 위한 표준용액은 Dextrose anhydrous를 50-500 $\mu\text{g/ml}$ 희석하여 사용하였다. 표준용액과 균질화 한 시료의 상등액에 Phenol과 Sulfuric acid를 차례로 넣고 섞어준 뒤, spectrophotometer를 사용해 490nm 파장에서 흡광도를 측정하고 단백질과 마찬가지로 시료 내 총탄수화물 함량을 계산해 추정하였다. 총 단백질과 탄수화물 함량은 최종적으로 다음과 같이 1g에 포함된 함량으로 환산하여 나타내었다 (Total protein or carbohydrate mg/g dry weight).

2.5. Statistical analysis

통계 분석은 SAS 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 월 평균 값과 표준오차를 구한 뒤, ANOVA와 Duncan's multiple range test로 유의차 $p < 0.05$ 수준에서 비교하였다.

3. Results

3.1. Water temperature

이번 연구에 사용된 수온 자료는 국립해양조사원 (Korea Hydrographic and Oceanographic Administration, <http://www.khoa.go.kr>) 연안정지관측지점에서 채집지역과 가장 근접한 보령지역의 수온 자료를 사용하였다. 보령지역의 월 평균 수온 범위는 2005년과 2006년 각각 4.5-26.5°C와 5.6-26.7°C를 보였다. 최저 수온은 2005년과 2006년 모두 2월에 가장 낮았으며 2005년이 2006년 보다 평균 1°C 정도 낮게 관찰되었고, 최고 수온은 8월에 가장 높게 나타났다 (Fig. 1-3).

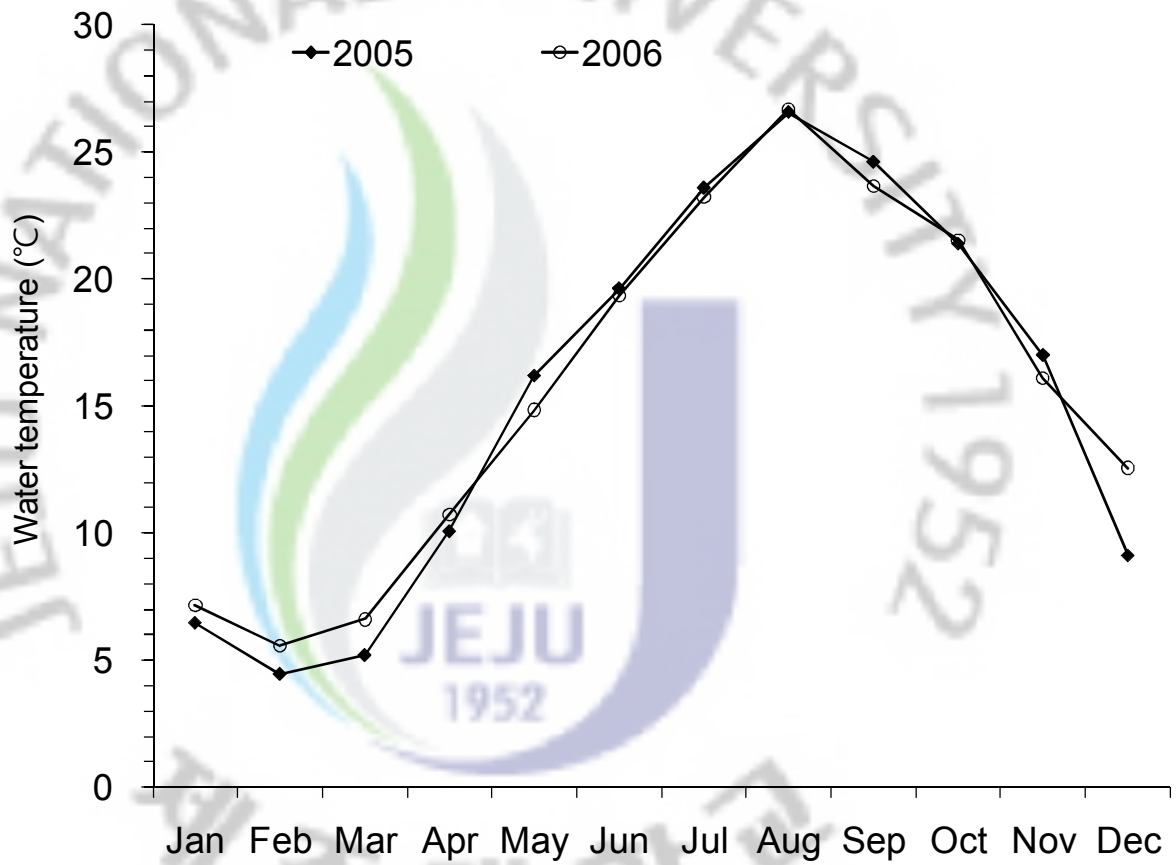


Fig. 1-3. Seawater temperature of the sampling sites recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.

3.2. Biometric measurements

이번 실험에 사용한 지역별 바지락의 평균 각장 (SL)과 조직 습중량 (TWWT)을 각각 Table 1-2와 Table 1-3에 나타냈다. 크기에 따른 오차를 최소화 하기 위해 일정한 크기의 개체를 선택해 실험에 사용하였다. 지역별 바지락의 월 평균 SL는 방포 29.4 (± 1.9)-39.9 (± 2.4) mm, 신야 34.3 (± 2.0)-38.5 (± 1.9), mm 장곡 33.6 (± 3.2)-41.3 (± 5.8) mm, 고남 32.1 (± 5.3)-40.1 (± 2.3) mm의 범위였다. 지역별 바지락의 월 평균 TWWT 범위는 방포 1.190 (± 0.314)-4.190 (± 0.843) g, 신야 1.725 (± 0.342)-2.789 (± 0.731) g, 장곡 1.557 (± 0.448) g, 고남 1.377 (± 0.647)-3.854 (± 0.981) g 이었다. 지역별 TWWT 비교 결과, 신야 지역의 TWWT가 2.789 g으로 다른 세 지역 최대값 (3.659-4.190 g)보다 낮게 관찰되었고, 모든 지역에서 12월에 가장 낮은 TWWT가 조사되었다.

각 지역별 CI 변화를 Fig. 1-4에 나타냈다. 방포 바지락의 평균 CI 범위는 0.440 (± 0.060)-0.792 (± 0.110)였으며, 2005년 12월 가장 낮은 CI가 관찰되었다. 2005년 CI는 한차례의 peak를 보이며 7월 (0.715 \pm 0.120) 가장 높게 나타났으며, 2006년 CI는 5월 (0.792 \pm 0.110) 가장 높게 관찰되었다가 이후 감소하였고, 8월 (0.632 \pm 0.082) 다시 증가 후 감소하는 경향을 보였다. 신야 바지락의 CI는 0.350 (± 0.058)-0.557 (± 0.114)의 범위로 다른 세 지역의 CI에 비해 낮게 나타났다. 이 지역의 CI peak는 6월과 8월 각각 2차례로 2005년과 2006년 유사한 패턴을 보였다. 장곡 바지락의 CI는 0.382 (± 0.055)-0.845 (± 0.070)의 범위였으며, 2006년 6월 CI가 0.845로서 이번 연구기간 중 가장 높게 나타났다. 이 지역의 CI는 2005년 6월과 8월 각각 0.631과 0.660으로 2차례의 peak를 보이고 이후 감소하였으나, 2006년은 6월 한 차례의 peak 이후 감소하는 것으로 나타났다. 고남 바지락의 평균 CI는

0.425 (± 0.068)-0.788 (± 0.138)의 범위였으며, 2005년에는 5월 한차례 peak를 보인 반면 2006년에는 6월과 8월 두 차례의 peak를 보였다. CI는 바지락 습중량 변화 패턴과 유사한 경향을 보였으며, 2005년 보다는 2006년 다소 높게 관찰되었다.

Table 1-2. Shell length (SL) of Manila clam collected from each sampling sites.

Period	N	SL			
		Bangpo	Shinya	Janggok	Gonam
2005/Apr	60	34.8 (±3.3)	37.8 (±4.0)	41.3 (±5.8)	37.6 (±4.2)
May	60	35.2 (±3.1)	35.9 (±2.4)	38.8 (±2.6)	37.8 (±3.6)
Jun	60	33.3 (±2.2)	35.4 (±2.4)	37.8 (±2.5)	33.7 (±2.7)
Jul	60	34.2 (±2.9)	36.1 (±2.3)	35.8 (±3.1)	34.0 (±2.4)
Aug	60	33.6 (±2.8)	36.1 (±3.4)	33.6 (±3.2)	35.5 (±2.8)
Sep	60	29.4 (±1.9)	35.6 (±1.8)	35.4 (±3.0)	33.5 (±2.6)
Oct	60	33.5 (±2.1)	35.4 (±2.7)	34.9 (±2.3)	34.6 (±2.0)
Nov	60	36.2 (±3.1)	37.4 (±2.5)	35.7 (±3.5)	35.1 (±4.7)
Dec	60	30.4 (±2.5)	35.3 (±2.8)	33.9 (±3.3)	32.1 (±5.3)
2006/Jan	60	32.3 (±3.5)	36.6 (±2.3)	35.2 (±2.6)	33.2 (±2.9)
Feb	60	34.3 (±2.5)	35.6 (±1.8)	36.3 (±3.0)	34.4 (±3.1)
Mar	60	32.2 (±2.2)	34.3 (±2.0)	38.0 (±4.3)	37.2 (±2.4)
Apr	60	32.3 (±1.7)	38.5 (±1.9)	34.7 (±2.8)	37.2 (±2.6)
May	60	37.6 (±2.0)	35.0 (±2.4)	35.6 (±3.2)	40.1 (±2.3)
Jun	60	37.2 (±2.4)	35.7 (±2.3)	34.0 (±1.5)	36.6 (±2.4)
Jul	60	37.5 (±1.5)	36.8 (±2.1)	35.9 (±1.6)	36.4 (±2.5)
Aug	60	35.2 (±2.1)	35.5 (±2.7)	36.5 (±1.6)	36.6 (±2.4)
Sep	60	39.9 (±2.4)	35.7 (±1.7)	35.7 (±2.2)	37.0 (±1.7)

Table 1-3. Tissue wet weight (TWWT) of Manila clam collected from each sampling sites

Period	N	TWWT			
		Bangpo	Shinya	Janggok	Gonam
2005/Apr	60	2.263 (± 0.740)	2.311 (± 1.131)	3.659 (± 1.876)	3.073 (± 1.141)
May	60	2.315 (± 0.802)	2.197 (± 0.584)	2.684 (± 0.872)	3.555 (± 1.059)
Jun	60	2.579 (± 0.669)	2.253 (± 0.624)	2.995 (± 0.642)	2.320 (± 0.798)
Jul	60	2.166 (± 0.578)	2.377 (± 0.508)	2.658 (± 0.538)	2.210 (± 0.521)
Aug	60	2.056 (± 0.530)	2.439 (± 0.664)	2.121 (± 0.609)	2.534 (± 0.623)
Sep	60	1.316 (± 0.279)	1.908 (± 0.433)	2.220 (± 0.590)	1.608 (± 0.503)
Oct	60	1.689 (± 0.388)	1.794 (± 0.374)	1.772 (± 0.376)	1.738 (± 0.353)
Nov	60	2.068 (± 0.550)	2.158 (± 0.543)	1.849 (± 0.542)	1.762 (± 0.812)
Dec	60	1.190 (± 0.314)	1.876 (± 0.403)	1.557 (± 0.448)	1.377 (± 0.647)
2006/Jan	60	1.607 (± 0.462)	2.229 (± 0.566)	1.663 (± 0.390)	1.576 (± 0.390)
Feb	60	2.125 (± 0.464)	2.276 (± 0.395)	2.194 (± 0.586)	1.812 (± 0.533)
Mar	60	1.593 (± 0.455)	1.725 (± 0.342)	2.992 (± 1.119)	2.654 (± 0.581)
Apr	60	1.937 (± 0.505)	2.571 (± 0.528)	2.641 (± 0.611)	2.735 (± 0.768)
May	60	4.190 (± 0.843)	2.400 (± 0.649)	2.851 (± 0.789)	3.854 (± 0.981)
Jun	60	3.676 (± 0.902)	2.789 (± 0.731)	2.839 (± 0.539)	3.694 (± 0.990)
Jul	60	3.043 (± 0.505)	2.772 (± 0.549)	2.983 (± 0.679)	2.762 (± 0.775)
Aug	60	2.733 (± 0.543)	2.769 (± 0.650)	2.861 (± 0.473)	3.201 (± 0.714)
Sep	60	3.279 (± 0.700)	2.528 (± 0.491)	2.396 (± 0.486)	2.783 (± 0.526)

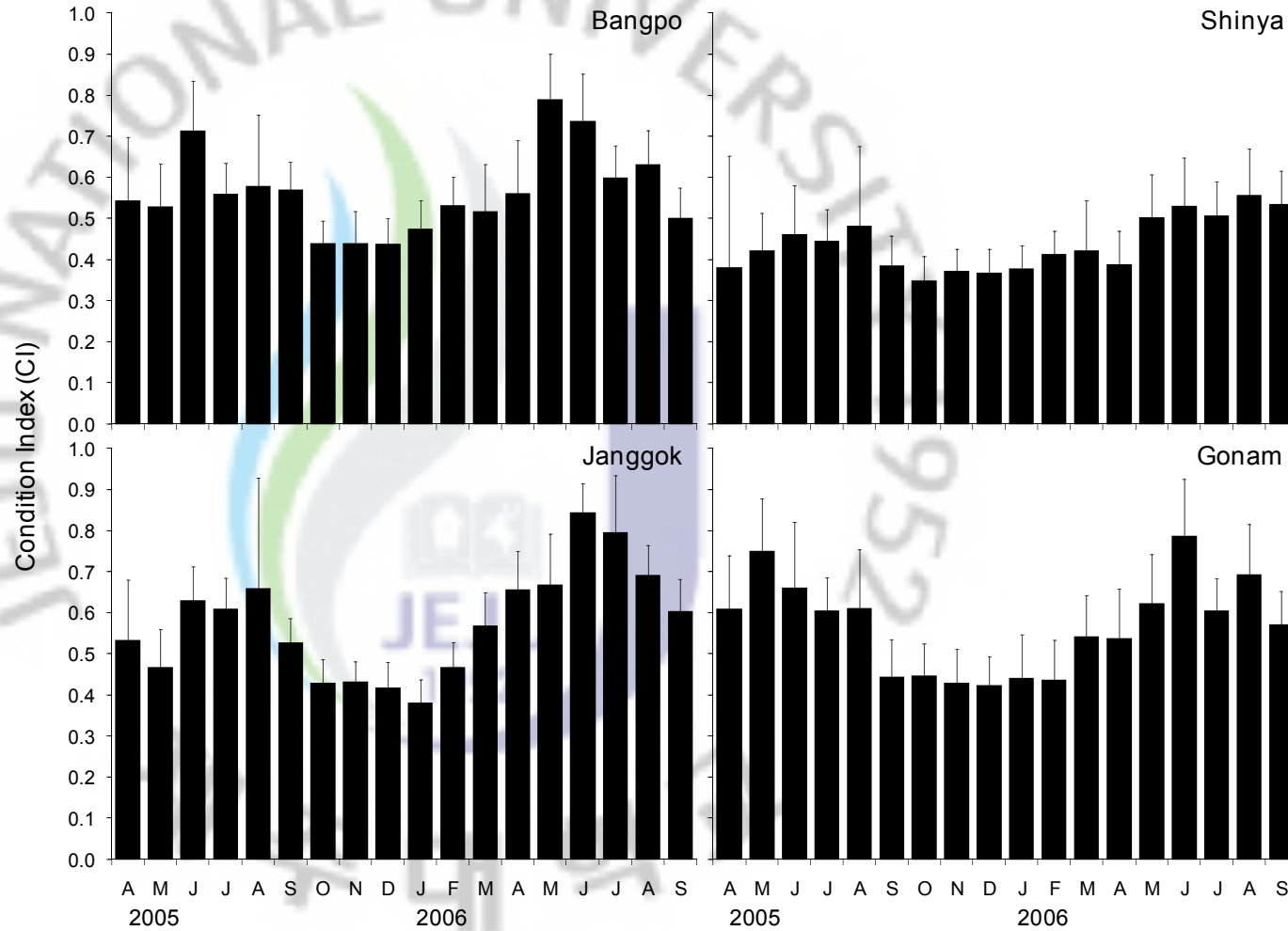


Fig. 1-4. Condition index (CI) of Manila clam collected from each sampling sites.

3.3. Reproductive cycle

3.3.1. Bangpo

방포 바지락의 월별 암컷 바지락 생식소 발달 변화를 Fig. 1-5-1에 나타내었다. 휴지기 상태의 바지락은 2005년 10월 처음 관찰 되었으며, 2005년과 2006년 각각 5월과 4월까지 지속적으로 관찰 되었다. 이 지역 암컷 바지락의 첫 배우자 형성은 2005년 12월 처음 관찰 되었고 (15%), 초기 발달기 상태의 생식소는 2005년 7월과 2006년 5월까지 나타났다. 성숙한 바지락은 2005년과 2006년 모두 5월에 처음 관찰되기 시작하였으며, 9월까지 지속적으로 나타났다. 발달 과정 중 완숙한 생식소가 차지하는 월별 비율은 2005년과 2006년 각각 12.5-30.8%와 14.3-100%로 관찰되었다. 산란은 2005년 7월부터 관찰되기 시작하였고 10월까지 지속되었다. 산란 peak의 경우, 8월 (64.7%)과 9월 (75.0%) 사이에 집중적으로 나타났다. 2006년의 산란 패턴은 7월부터 9월까지 관찰되었으며, 7월 (53.8%)과 9월 (71.4%)에 집중적으로 일어난 것을 확인할 수 있었다. 이 지역의 성숙과 산란은 2005년과 2006년 모두 유사한 패턴을 보이고 있었다.

3.3.2. Shinya

신야 바지락의 월별 암컷 바지락 생식소 발달 변화를 Fig. 1-5-2에 나타내었다. 휴지기 상태는 2005년 10월 처음 관찰 되었으며, 2005년의 경우 6월까지 지속되었고, 2006년은 3월까지 나타났다. 이 지역의 배우자 형성 시작은 2006년 1월 약 8.3%의 초기 발달기 상태 생식소가 관찰 되었으며, 2005년 6월과 2006년 5월까지 나타났다. 완숙한 상태의 생식소를 가진 바지락은 2005년과 2006년 모두 5월에 처음 관찰되기 시작하였으며, 9월까지 지속적으로 나타났다. 산란 직전의 완숙

한 생식소가 차지하는 월별 비율은 2005년과 2006년 각각 6.7-41.7%와 13.3-57.1%로 관찰되었다. 산란은 2005년 5월 (6.7%) 처음 관찰되기 시작하여 10월까지 지속되었으며, 이 기간 중 산란 peak는 9월 (90%)로 확인되었다. 2006년 산란은 6월 14.3%를 보인 이후, 7월 약 66.7%로 급격히 증가한 다음 8월과 9월 지속적인 산란을 확인할 수 있었다. 이 지역 바지락 성 성숙 과정은 2005년과 2006년 유사한 패턴을 보이고 있었고, 산란은 2005년이 2006년 보다 한달 가량 일찍 시작되었다.

3.3.3. Janggok

Fig. 1-5-3은 장곡 바지락의 월별 생식소 발달 변화를 나타낸 그림이다. 생식소가 관찰되지 않는 휴지기 상태는 2005년 10월 처음 관찰 되었으며, 2005년과 2006년 각각 5월과 4월까지 지속되었다. 처음으로 생식소가 나타난 시기는 2006년 1월이었으며 약 11.1%의 초기 발달기 상태 생식소가 관찰 되었다. 성적으로 완숙한 상태의 바지락 생식소는 2005년과 2006년 모두 5월에 처음 관찰되기 시작 하였으며, 9월까지 지속적으로 나타났다. 성적으로 완숙해 산란 직전 상태의 생식소가 차지하는 월별 비율은 2005년과 2006년 각각 6.3-56.3%와 44.4-100%이었다. 산란은 2005년 7월 12.5%가 처음 관찰된 이후 꾸준히 증가하는 양상을 보이며 9월에는 66.7%로 급격히 증가 하였고 10월 (12.5%)까지 지속되었다. 이 기간 중 산란 peak는 9월 (66.7%)로 확인되었다. 2006년 산란은 2005년과 마찬가지로 7월 (25.0%)에 시작하여 9월 (44.4%)까지 지속되었다. 장곡 바지락의 배우자형성 과정은 2005년과 2006년 유사한 패턴을 보였다.

3.3.4. Gonam

고남 바지락의 휴지기는 연구 시작 시점인 2005년 4월부터 6월, 2005년 10

월부터 2006년 4월까지 관찰 되었다. 배우자형성은 모든 개체들이 휴지기 상태를 보인 2005년 12월 이후 2006년 1월 처음으로 초기 발달기 상태의 생식소 (4.3%) 가 나타나 시작되었다. 완숙한 바지락의 생식소는 2005년과 2006년 5월에 관찰되기 시작하였고, 10월까지 나타나고 있었다. 이 지역의 산란은 성숙한 생식소가 나타난 다음달인 6월부터 시작되어 10월까지 지속적으로 나타났다. 산란 빈도는 2005년 5.6-31.3%의 범위 였으며 9월 (30.8%)과 10월 (31.3%) 높게 나타났고, 2006년의 월별 산란 빈도는 6.3-58.3%로 7월과 8월에 각각 54.5%와 58.3%로 집중되어 있었다. 이 지역의 생식소 발달 과정은 2005년과 2006년 유사한 변화를 보이고 있었다 (Fig. 1-5-4).

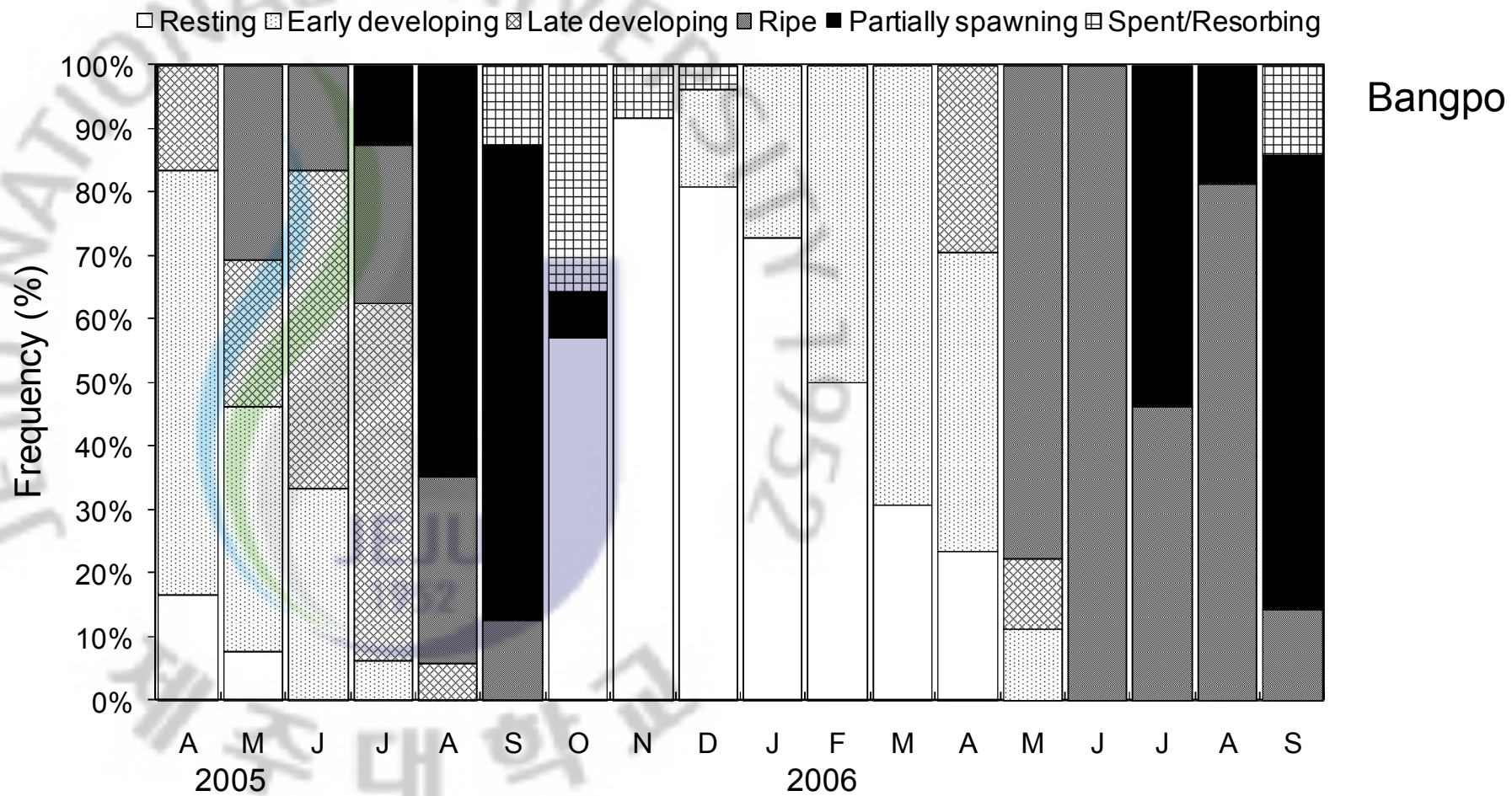
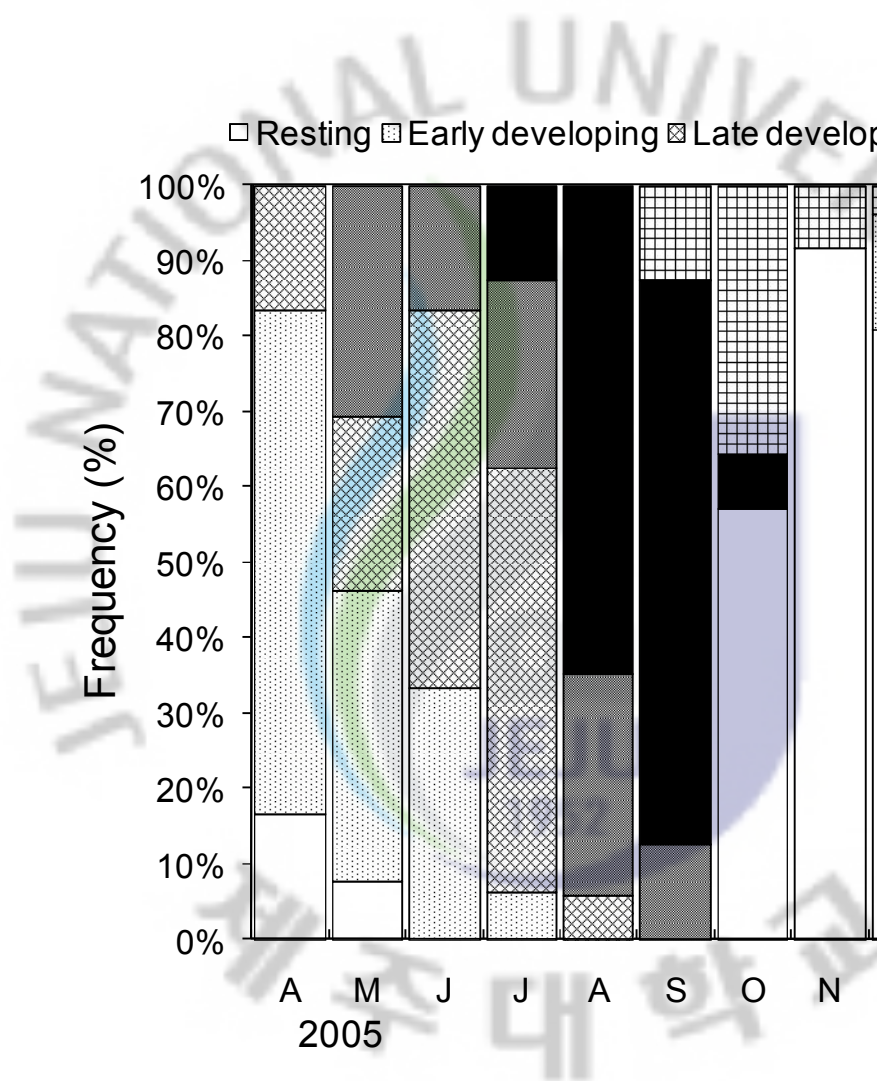


Fig. 1-5-1. Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Bangpo).

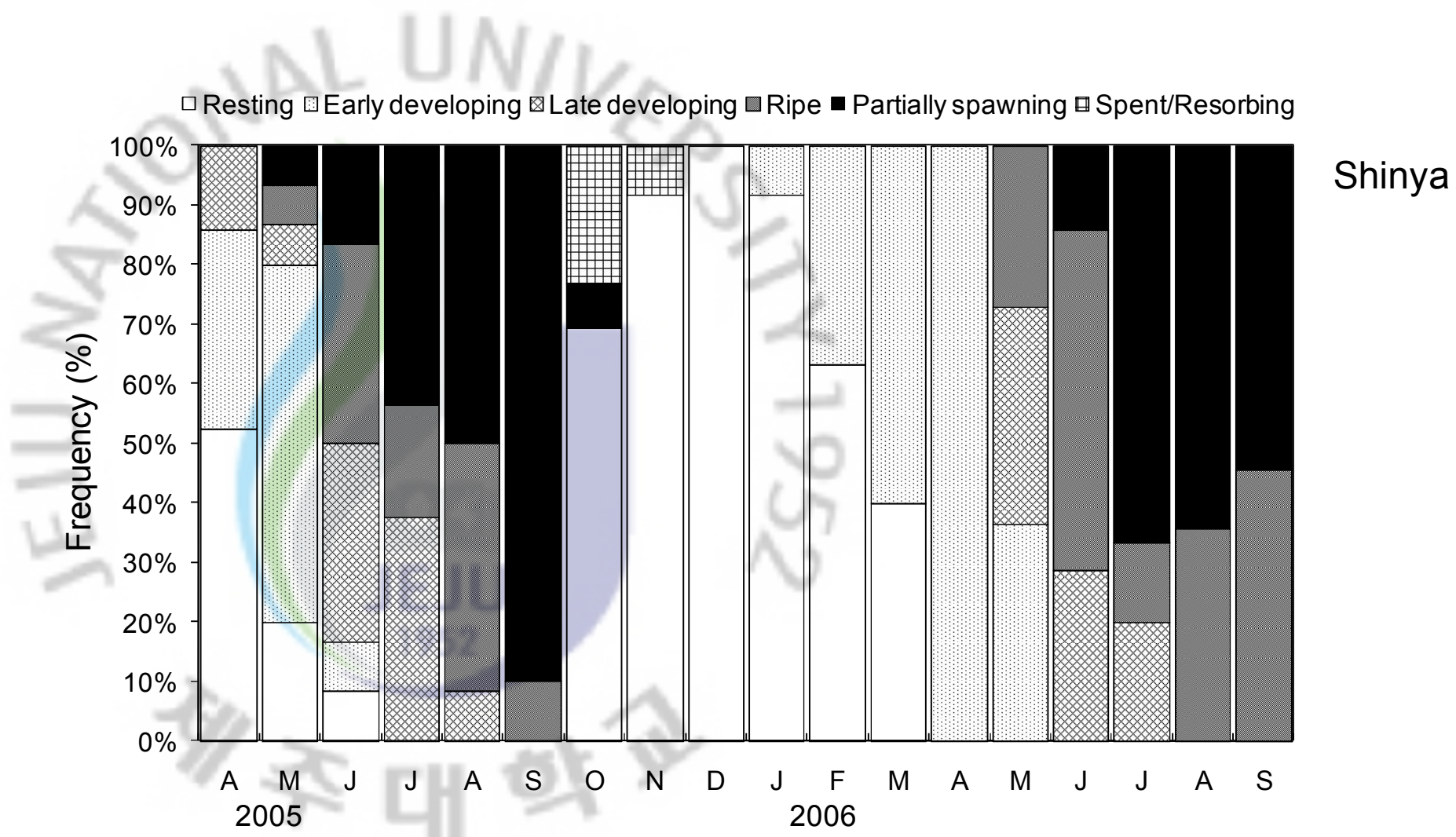


Fig. 1-5-2. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Shinya).

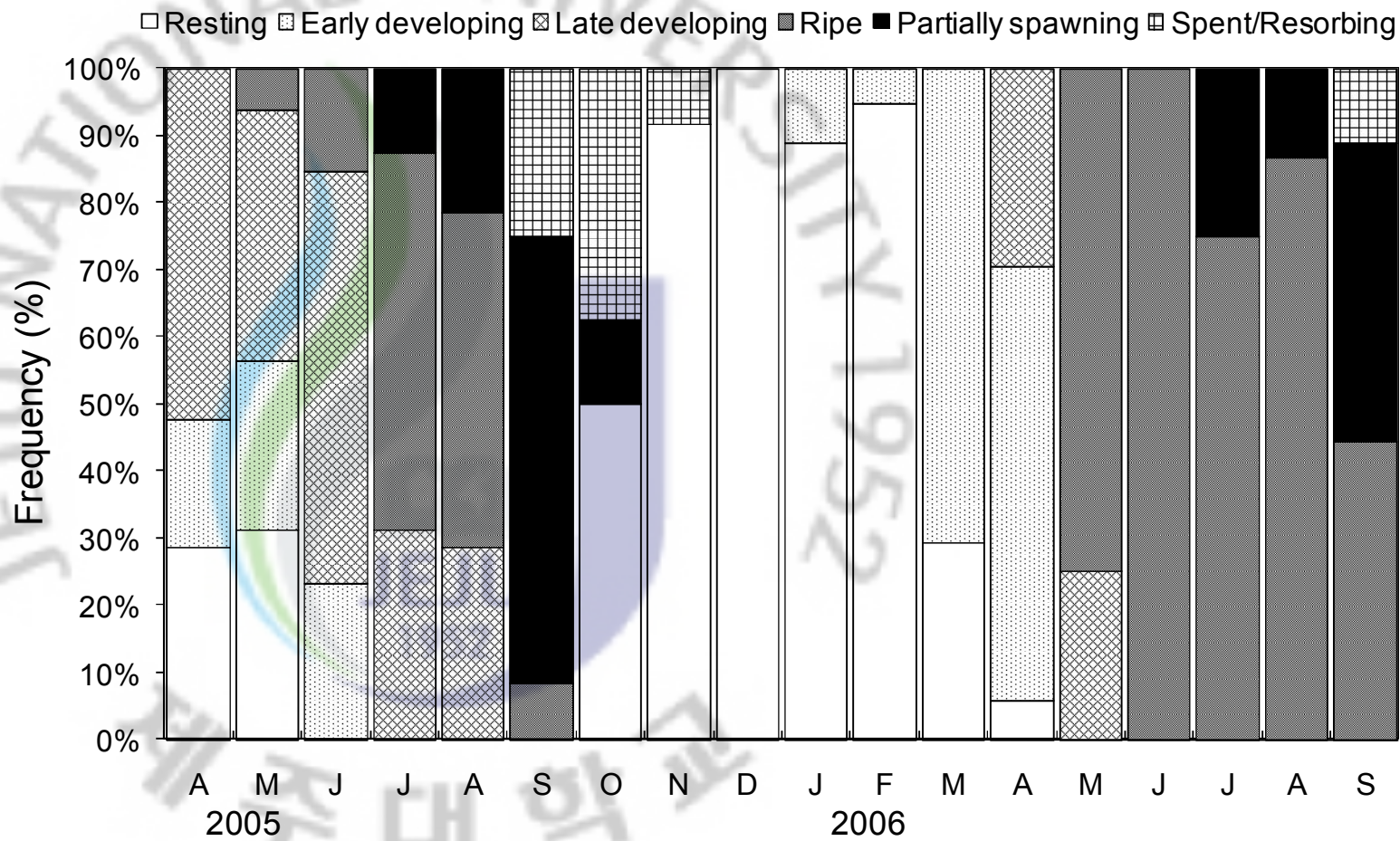
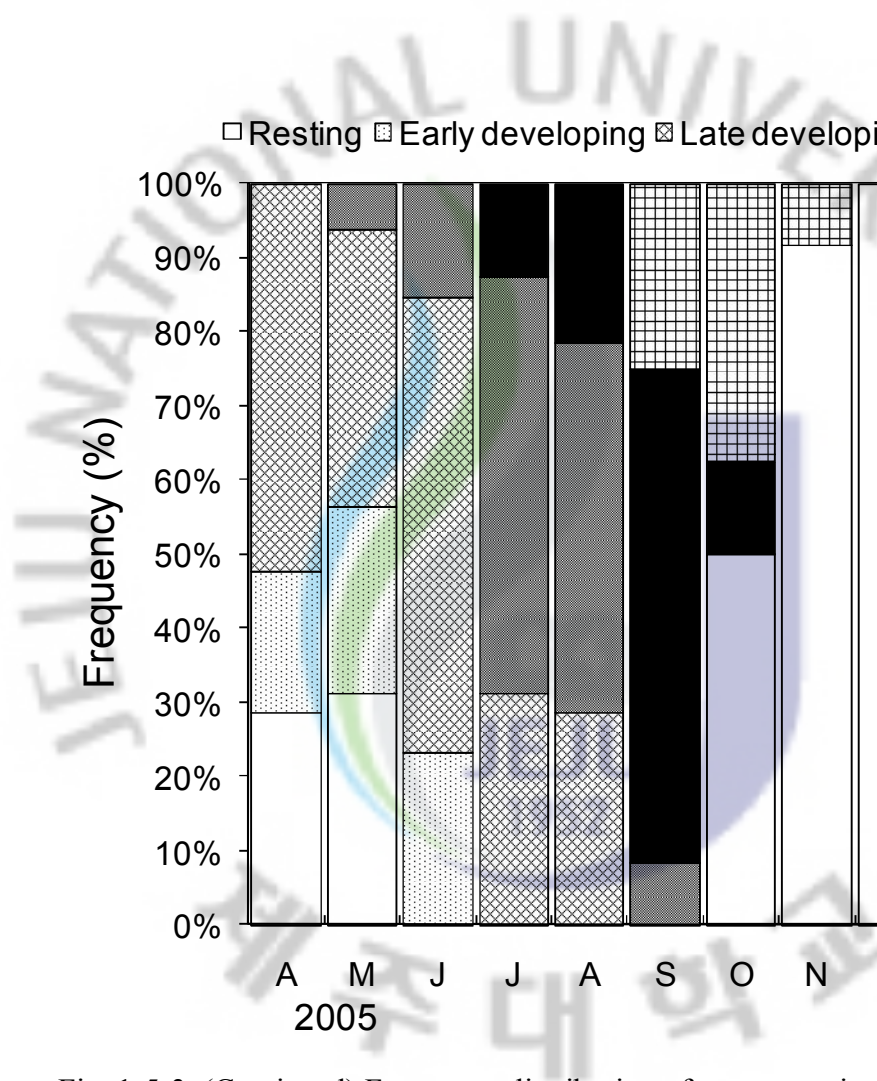


Fig. 1-5-3. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Janggok).

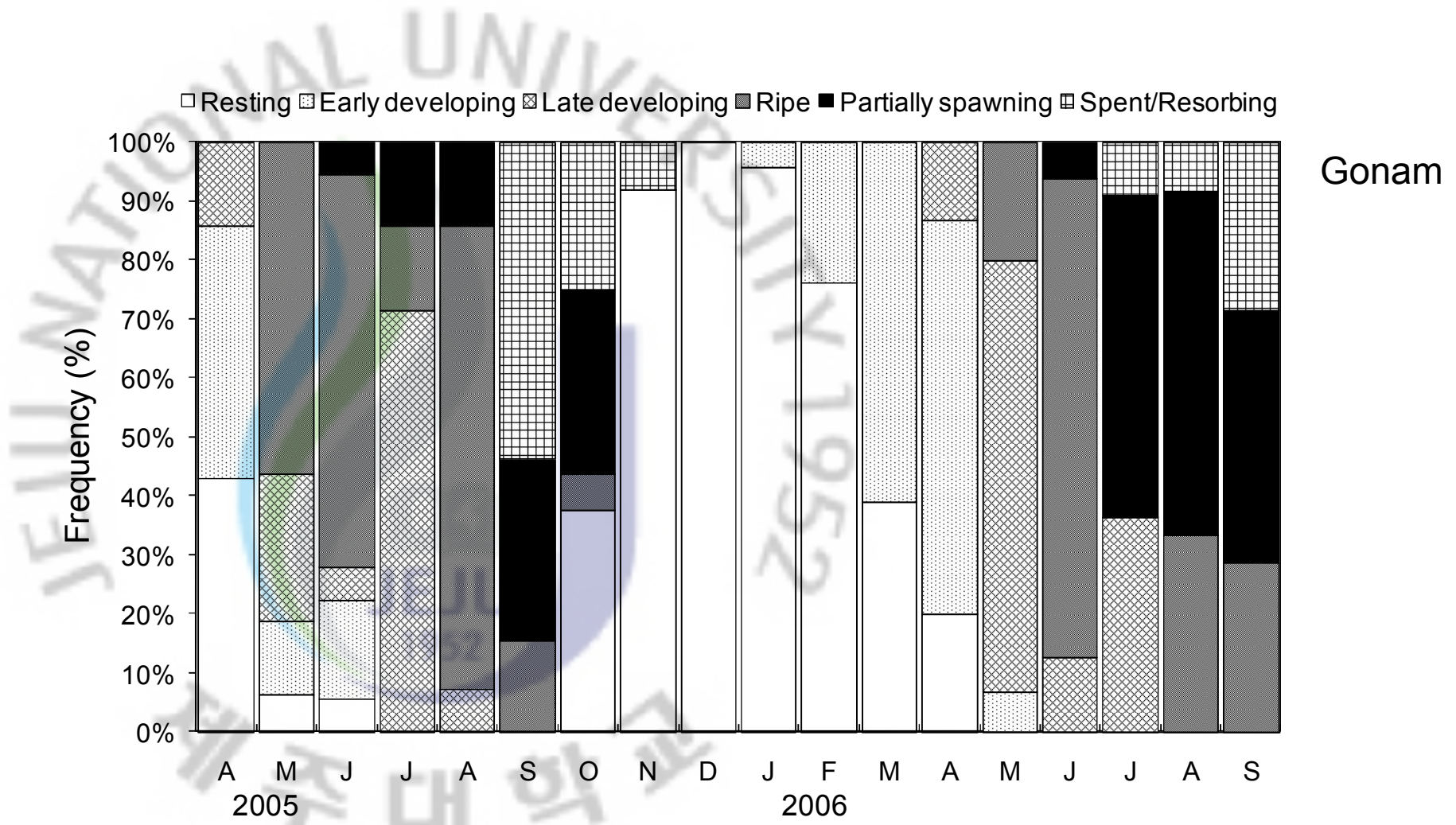


Fig. 1-5-4. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages in the ovaries (Gonam).

3.4. *Perkinsus olsenii* infection intensity

RFTM/2M NaOH 방법을 이용해 지역 및 월별 아가미에서 관찰된 *P. olsenii* 감염도 결과를 Fig. 1-6에 나타냈다. 이번 연구기간 동안의 지역별 *P. olsenii* 감염율은 방포 바지락이 0-56.7%로 네 지역 중 가장 낮았으며, 신야, 장곡, 고남 바지락의 감염율은 각각 50-93.3%, 76.7-100% 및 80-100% 였다. 조직에서 조사된 *P. olsenii* 감염율은 대부분 RFTM/2M NaOH 방법 보다 낮게 관찰되었다. 방포 바지락의 경우 *P. olsenii* 감염율은 전체 연구 기간 동안 10% 이하였고 신야, 장곡, 고남 바지락의 *P. olsenii* 감염율은 각각 17.9-90%, 20-100% 및 13.3-100%로 나타났다. 전체 연구 기간 동안의 평균 지역별 감염도는 7,588 ($\pm 6,170$)-1,983,891 ($\pm 1,079,985$) *Perkinsus* cell/g gill weight 였으며, 방포 바지락의 감염도 (7,588 $\pm 6,170$)가 가장 낮게 관찰 되었고, 장곡 바지락의 *P. olsenii* 감염도(1,983,891 $\pm 1,079,985$ cell/g gill weight)가 가장 높게 나타났다. 가장 감염도가 낮았던 방포 바지락의 이번 연구 기간 동안 *P. olsenii* 감염도는 533 ($\pm 2,920$)-19,851 ($\pm 68,299$) *Perkinsus* cell/g gill weight 범위였으며, 다음으로 감염도가 낮았던 신야 바지락 *P. olsenii* 감염도 범위는 83,013 (103,002)-437,711 ($\pm 485,522$) *Perkinsus* cell/g gill weight였다. 상대적으로 감염도가 높은 지역인 장곡과 고남 바지락의 *P. olsenii* 감염도는 각각 539,312 ($\pm 736,766$)-4,198,965 ($\pm 2,492,229$) *Perkinsus* cell/g gill weight와 293,717 ($\pm 532,420$)-3,377,152 ($\pm 2,072,338$) *Perkinsus* cell/g gill weight 범위로 조사되었다 (Fig. 1-6 A).

바지락 아가미에서 검출된 *Perkinsus* 감염도 결과를 Park (1999)의 방법에 따라 바지락 각 개체 당 *Perkinsus* 감염도로 환산하였다 ($Y=2.0417X + 186,572$). 환산된 *Perkinsus* 감염도 결과 역시, 아가미에서 나타난 감염도 결과와 유사한 패턴이었으나 습중량 변화에 따른 월별 차이를 보이고 있었다. 지역별 전체 평균 감

염도는 20,373 ($\pm 14,363$)-2,219,304 ($\pm 1,687,440$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT 범위였으며, 방포와 신야 바지락의 *P. olseni* 감염도가 장곡과 고남 바지락의 *P. olseni* 감염도 보다 상대적으로 낮게 나타났다. 감염도가 낮은 지역인 방포와 신야 바지락의 *P. olseni* 감염도는 각각 3,766 ($\pm 20,628$)-49,460 ($\pm 79,351$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT 와 147,659 ($\pm 115,221$)-647,066 ($\pm 700,240$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT였다. 상대적으로 감염도가 높은 지역인 장곡과 고남 바지락의 *P. olseni* 감염도는 각각 2,219,304 ($\pm 1,687,440$)-1,563,555 ($\pm 944,348$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT의 범위로 나타났다.

계절별 *P. olseni* 감염도 변화를 알아보기 위해 봄 (Sp: March-May), 여름 (Su: June-August), 가을 (Au: September-November) 및 겨울 (Wi: December-February)로 나눠 계절별 평균 *P. olseni* 감염도를 비교하였다 (Fig. 1-7, $p < 0.05$). *P. olseni* 감염도가 낮은 지역인 방포와 신야 바지락의 계절별 감염도 비교 결과, 방포 바지락의 경우 2006년 가을 감염도가 봄과 여름에 비해 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었으나, 장곡 바지락에서는 계절별 감염도 차이가 나타나지 않았다. 반면, *P. olseni* 감염도가 높은 장곡과 고남 바지락에서는 2005년과 2006년 모두 가을철 감염도가 다른 계절에 비해 유의적으로 높게 나타나고 있었다.

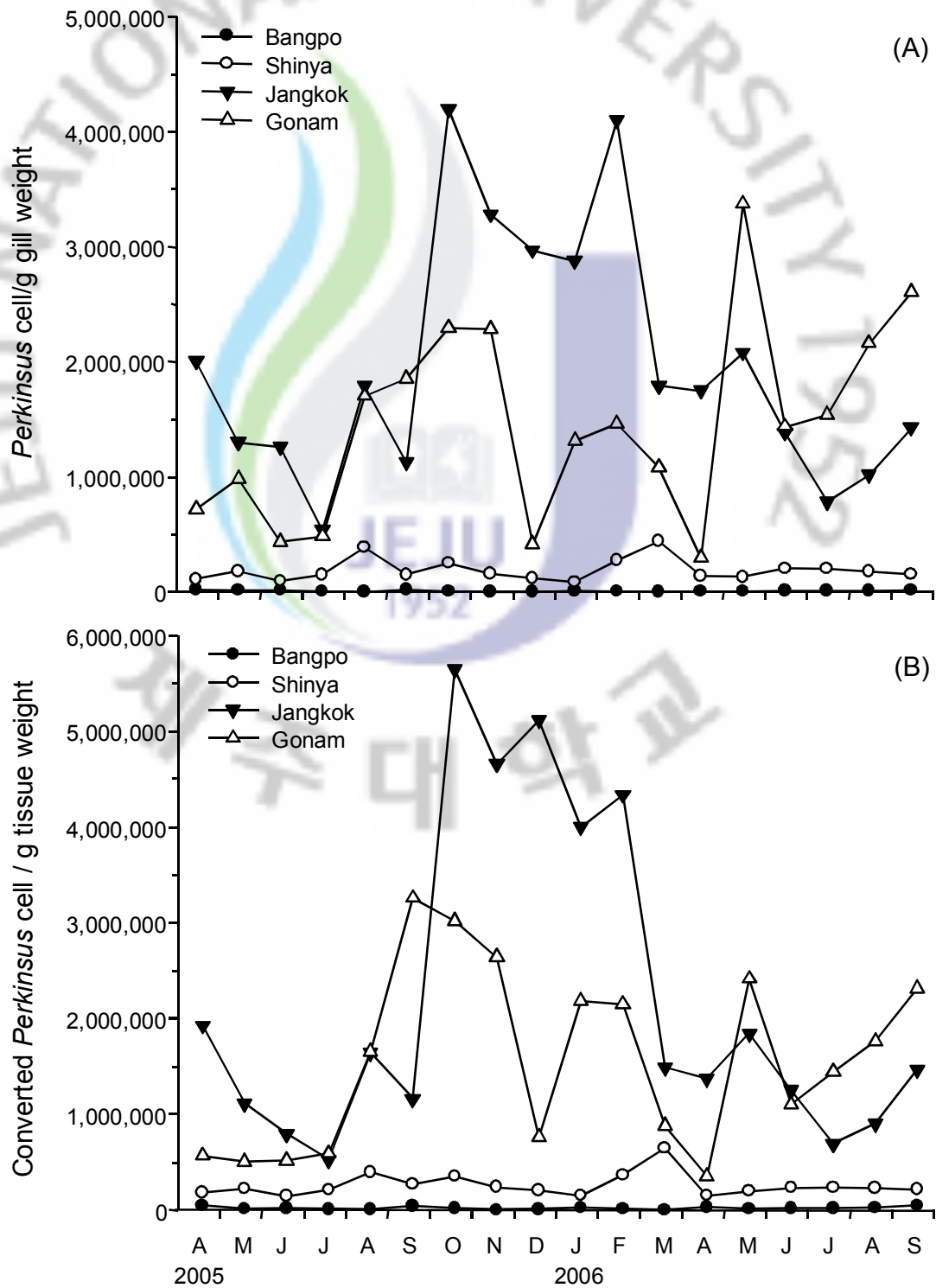


Fig. 1-6. Infection intensity of *Perkinsus olseni* assessed using RFTM/2M NaOH method. Result (B) converted from (A) using the equation according to the Park (1999) ($Y=2.0417X + 186,572$: Y is the total number of *Perkinsus* in the clam and X is the number of *Perkinsus* cells counted in the gill tissue).

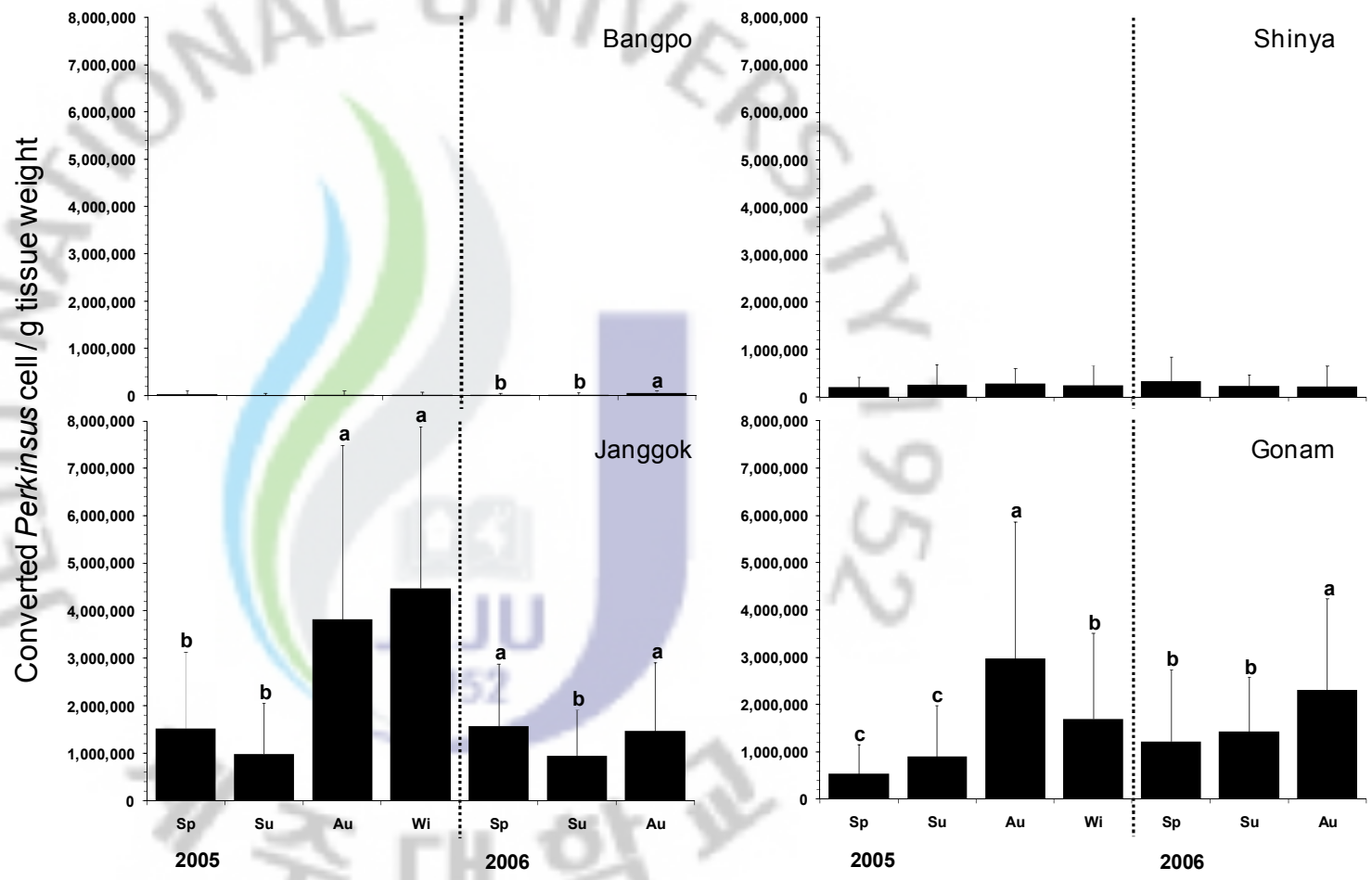


Fig. 1-7. Seasonal variation of the *Perkinsus* infection intensity of clam in each sampling sites (Sp: spring, Su: summer, Au: autumn and Wi: winter) ($P < 0.05$).

Table 1-4. Infection prevalence of *Perkinsus olseni* and trematode (RFTM: infection prevalence of *P. olseni* from RFTM, HISTO: infection prevalence of *P. olseni* from histological observation).

Period	Bangpo			Shinya			Jangkok			Gonam		
	RFTM	HISTO	Trematode	RFTM	HISTO	Trematode	RFTM	HISTO	Trematode	RFTM	HISTO	Trematode
2005/Apr	33.0	0.0	11.5	83.0	17.9	3.6	93.0	66.7	3.3	80.0	58.6	10.3
May	10.0	0.0	10.0	90.0	23.3	10.0	100.0	70.0	10.0	97.0	13.3	3.3
Jun	20.0	0.0	10.3	80.0	40.0	10.0	77.0	20.0	6.7	83.0	29.6	3.7
Jul	6.7	0.0	13.3	86.7	20.0	6.7	76.7	33.3	3.3	96.7	23.3	6.7
Aug	6.7	3.3	6.7	90.0	40.0	10.0	100.0	40.0	10.0	93.3	73.3	6.7
Sep	13.3	10.0	26.7	80.0	50.0	16.7	96.7	46.7	6.7	100.0	63.3	6.7
Oct	13.3	0.0	3.3	86.7	46.7	23.3	100.0	90.0	6.7	100.0	36.7	6.7
Nov	3.3	3.3	10.0	86.7	40.0	10.0	100.0	73.3	10.0	100.0	66.7	0.0
Dec	3.3	0.0	13.3	80.0	43.3	20.0	96.7	63.3	3.3	80.0	53.3	16.7
2006/Jan	6.7	3.3	23.3	73.3	50.0	13.3	100.0	86.7	16.7	90.0	40.0	6.7
Feb	16.7	3.3	10.0	86.7	76.7	0.0	96.7	100.0	13.3	93.3	53.3	3.3
Mar	0.0	0.0	13.8	70.0	90.0	10.0	100.0	56.7	13.3	86.7	50.0	13.3
Apr	20.0	0.0	3.3	50.0	40.7	11.1	100.0	37.9	6.7	76.7	40.0	0.0
May	23.3	3.3	6.7	80.0	40.0	10.0	96.7	93.3	10.0	100.0	100.0	13.3
Jun	30.0	3.3	16.7	86.7	66.7	6.7	93.3	51.7	6.7	96.7	100.0	0.0
Jul	20.0	6.7	6.7	93.3	56.7	6.7	100.0	20.7	10.0	100.0	90.0	3.3
Aug	20.0	3.3	6.7	93.3	63.3	3.3	100.0	56.7	3.3	100.0	88.9	10.0
Sep	56.7	3.3	33.3	76.7	20.0	10.0	100.0	70.0	3.3	100.0	96.7	10.0

3.5. Biochemical composition

3.5.1. Total carbohydrate concentration

이번 연구에서 나타난 지역별 바지락의 총 탄수화물 함량 변화를 Fig. 1-8에 나타냈다. 월별 총 탄수화물 함량은 CI 변화 양상과 유사한 패턴을 보이고 있었으나, 단백질 변화 양상과는 대조적인 것을 관찰할 수 있었다. 탄수화물 함량이 가장 높은 지역은 단백질 함량 변화가 가장 적었던 방포 바지락으로 이 지역의 월별 평균 탄수화물 함량은 110.1 (2005/Dec)-348.2 (2006/Mar) mg/g TDWT의 범위였다. 반면, 단백질 함량이 가장 높았던 지역인 신야 바지락의 탄수화물 함량은 76.4 (2005/Dec)-245.4 (2006/Aug) mg/g TDWT의 범위로 다른 지역에 비해 낮은 것을 확인할 수 있었다. 장곡과 고남 바지락의 월 평균 탄수화물 함량은 각각 45.5 (2005/Dec)-252.2 (2005/Jun) mg/g TDWT와 109.1 (2005/Dec)-307.1 (2005/May) mg/g TDWT의 범위였다. 네 지역 모두 휴지기 상태인 2005년 12월에 가장 낮은 값을 보이고 있었으며, 이후 증가하기 시작해 산란 이후에 감소하는 양상을 보이고 있었다.

3.5.2. Total protein concentration

총 단백질 함량을 Fig. 1-9에 나타내었다. 지역별 조직 내 총 단백질 함량은 방포 바지락의 경우 321.1 (2006/May)-419.1 (2005/May) mg/g tissue dry weight (TDWT) 범위로 다른 지역에 비해 비교적 낮게 나타났다. 신야 바지락의 단백질 함량은 376.5 (2006/Sep)-468.6 (2005/Apr) mg/g TDWT로 연구기간 동안 비교적 큰 차이를 보이지 않았다. 장곡 바지락의 단백질 함량 변화는 345.1 (2006/Sep)-510.9 (2005/Nov) mg/g TDWT로 다른 지역에 비해 변화 폭이 가장 크게 나타났다. 이 지

역의 단백질 함량은 2005년 6월부터 2005년 11월까지 꾸준히 증가하였고, 11월 최대값을 나타낸 이후 연구 종료 시점인 2006년 9월까지 감소하는 것으로 나타났다. 고남 바지락의 단백질 함량은 343.4 (2006/Aug)-439.4 (2005/Dec) mg/g TDWT 범위였다. 이 지역의 단백질 함량은 장곡 바지락과 유사한 형태의 변화를 보이고 있었는데, 연구 시점부터 증가하기 시작한 단백질 함량은 휴지기 상태인 2005년 11월과 12월 최대값을 보인 이후, 연구 종료 시까지 천천히 감소하는 것을 알 수 있었다.

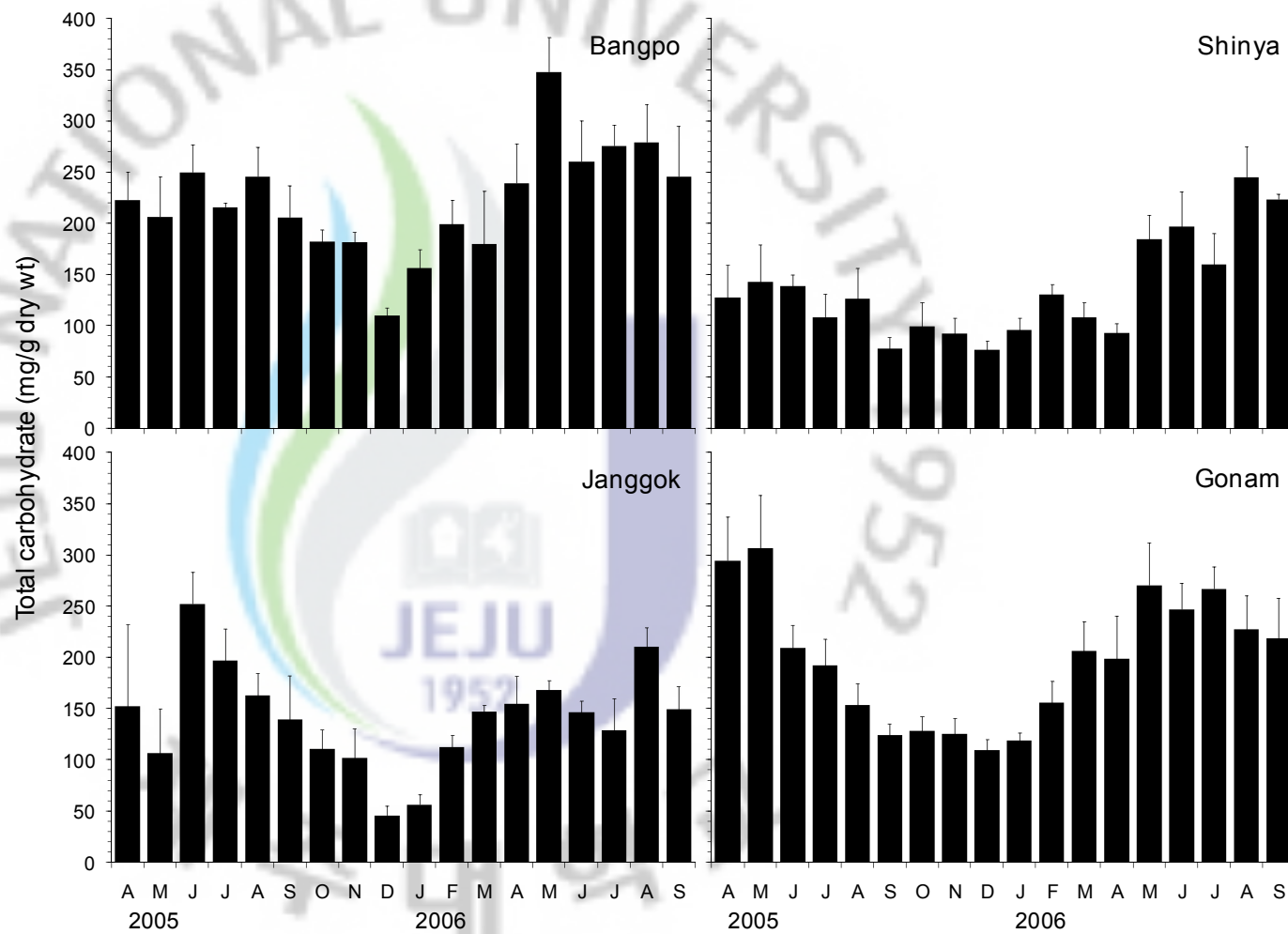


Fig. 1-8. Seasonal changes of total carbohydrate composition in the clam tissue.

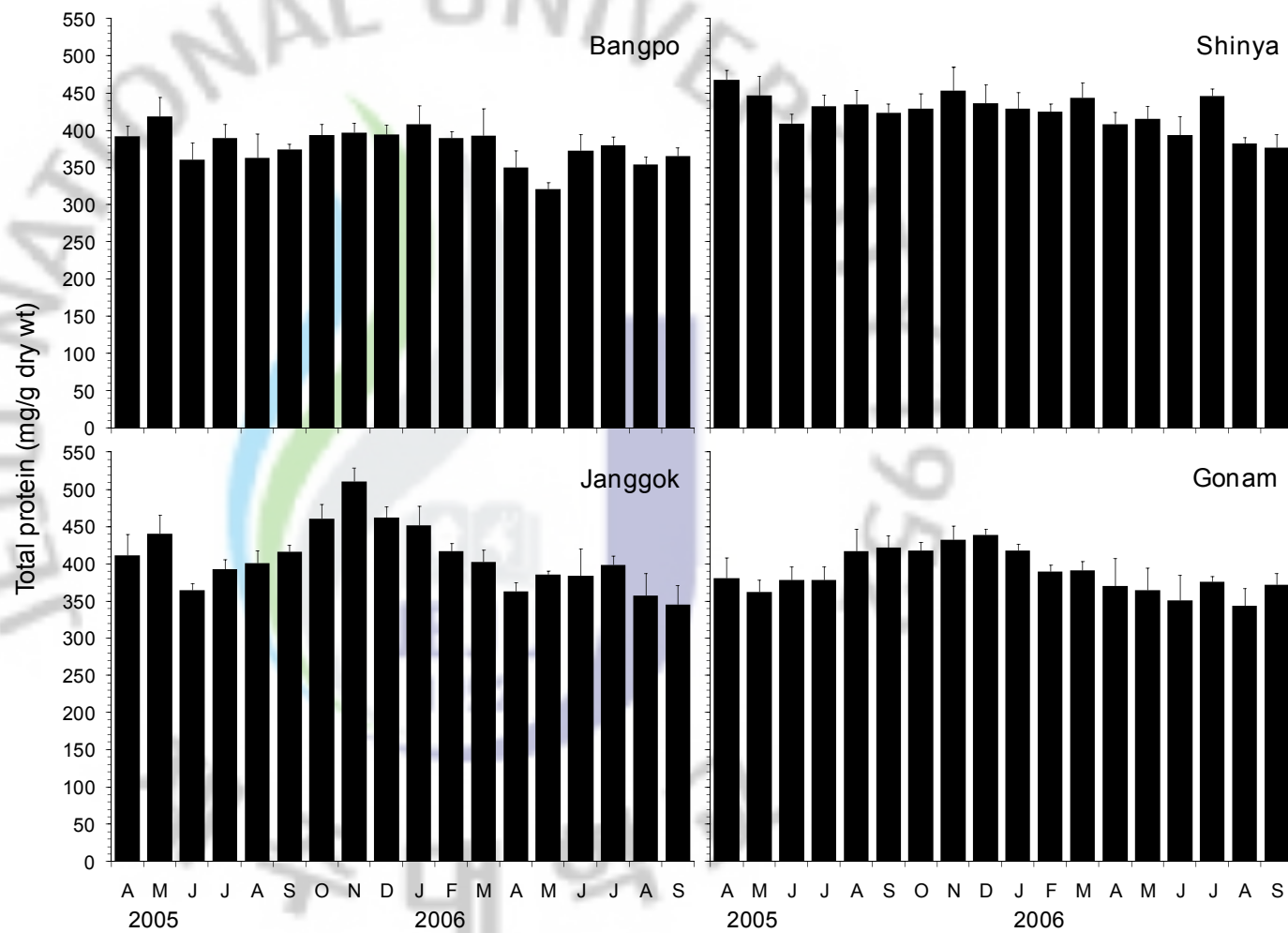


Fig. 1-9. Seasonal changes of total protein composition in the clam tissue.

4. Discussion

4.1. Condition Index (CI)

Condition Index (CI)는 해양 이매패류의 영양상태 또는 일반적인 건강도를 나타내는 지표로 사용되고 있다 (Rainer and Mann 1992; Crosby and Gale 1990). CI의 연중 변화 양상은 일반적으로 에너지 저장기간과 배우자형성기간 동안에는 증가하고, 주산란시기에는 감소하는 것으로 알려져 있어 번식주기 산정이나 자연 개체군의 계절에 따른 생리상태 변화를 밝히는데 이용되었다 (Gosling 2003; Lawrence & Scott 1982; Widdows 1985). 이번 연구에서 사용된 CI는 조직 습중량과 패각 건중량의 비로 산정하였다 ($CI = TWWT/SDWT$). 각 지역별 CI 변화를 Fig. 1-4에 나타냈고, 지역별 CI의 범위와 peak를 나타내는 시기가 다른 것을 확인할 수 있었다. 이번 연구기간 동안 관찰된 CI는 신야 지역이 $0.350 (\pm 0.058) - 0.557 (\pm 0.114)$ 범위로 다른 지역에 비해 낮게 나타나고 있었으며, 방포, 장곡 그리고 고남의 CI 범위는 각각 $0.440 (\pm 0.060) - 0.792 (\pm 0.10)$, $0.382 (\pm 0.055) - 0.845 (\pm 0.070)$ 및 $0.425 (\pm 0.068) - 0.788 (\pm 0.138)$ 였다. CI의 증가는 해수중의 먹이 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있고, 대부분의 이매패류가 먹이 활동을 통해 체내 에너지로 저장하는 것으로 나타났다 (see Gosling 2003). 신야 바지락의 가장 높은 CI는 0.557로 다른 지역의 최대 CI (0.788-0.845)에 비해 0.231에서 0.288 낮게 나타났는데 (Fig. 1-4), 이는 같은 종이라도 서식지의 먹이 조건에 따라 CI의 변화 양상이 다름을 의미한다. 비록, 이번 연구가 실시된 안면도 지역의 채집지역 간 거리는 14km 밖에 차이가 나지 않지만, 이와 같은 결과는 안면도에 위치한 지역별 먹이 조건이 다른 것이라 사료된다.

바지락과 같은 이매패류의 CI는 생식소 발달이 완숙기로 진행하면서 증가하고 산란 직전의 상태일 때 최고로 높아진다. 이와 같은 CI의 최대값은 육질 및 생식소 성장이 최대로 이루어졌음을 의미하는 것이다. 이번 연구지역의 CI 변화 양상은 조직학적 관찰결과와 비교해 볼 때 생식소 발달 변화와 매우 일치하는 경향을 보이고 있으며, 휴지기 상태인 10월부터 12월 사이에 가장 낮게 관찰되었고, 이후 생식소 발달과 함께 증가하는 것으로 관찰되었다.

4.2. Reproductive cycle

이미 많은 연구자들이 수온과 먹이는 이매패류의 연중 번식 주기에 있어 배우자형성을 조절하는 환경 인자라고 이야기한바 있고, 이중 수온은 산란시기를 결정하는 중요한 요소로 알려져 있다 (Galtsoff 1964; Hofmann et al. 1992; Kennedy et al. 1996). 열대지방에 서식하는 패류는 연중 산란의 양상을 보이는 반면 (Kang et al. 2005; Pouvreau et al. 2000 a, b), 온대 기후에 속하는 우리나라에 서식하는 바지락은 4월-10월 사이 1-2 차례 산란하는 것으로 나타났다 (Chung et al. 1994, 2001; Park and Choi 2004; Shin 1996; Won 1994). 곰소만 지역에 서식하는 바지락은 7월-10월 사이에 수온이 20°C 정도에서 산란이 이루어짐이 보고된 바 있고, Park and Choi (2004) 등이 ELISA를 통한 번식량 측정 결과에서는 총 3차례의 산란이 이루어짐을 발표하였다 (Table 1-5). 이번 연구에서도 이와 같은 현상이 관찰되었는데, 2005년 5월 신야 바지락을 제외한 대부분 지역의 바지락 산란은 수온이 19.3°C 이상인 시기에 산란이 이루어지고 있음을 알 수 있었다.

4.3. *Perkinsus olseni* infection

*Perkinsus*를 정량하기 위한 RFTM/2M NaOH 방법은 빠르고, 민감하기 때문

에 *Perkinsus* 감염 조사에 널리 사용되고 있다 (see Fisher and Olive 1996). 이 방법을 이용한 *Perkinsus* 감염도는 각 개체 또는 아가미에서 검출된 *Perkinsus* cell을 무게로 정량화 하는 방법으로 나타낸다 (*Perkinsus* cell/g tissue wet weight or g gill weight). 이번 연구에서는 아가미를 이용한 *Perkinsus* 감염도를 측정하였고, Park (1999)에 의한 상관식을 이용하여 각 개체당 *Perkinsus* 감염도로 환산하였다 (Fig. 1-6). 이번 연구에서 검출된 *Perkinsus* 감염도와 감염율은 지역별로 큰 차이를 보이고 있었다. 지역별 연구기간 전체 평균 *Perkinsus* 감염율은 16.8-95.9% 범위로 방포 지역의 감염율이 가장 낮게 나타났고, 신야, 장곡 및 고남 지역의 감염율은 각각 81.8%, 95.9% 그리고 93.0%를 보였다. *Perkinsus* 감염도는 연구기간 전체 평균 20,373 ($\pm 14,363$)-2,219,304 ($\pm 1,687,440$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT의 범위였다. *Perkinsus* 감염도가 낮았던 방포 바지락의 감염도가 20,373 ($\pm 14,363$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT로 가장 낮게 나타났고, 80% 정도가 감염되었던 신야 바지락의 감염도는 260,342 ($\pm 119,995$) Converted *Perkinsus* cell/g TWWT로 약 95% 정도의 감염율을 보인 장곡 (2,219,304 \pm 1,687,440 Converted *Perkinsus* cell/g TWWT)과 고남 (1,563,555 \pm 944,348 Converted *Perkinsus* cell/g TWWT) 바지락에 비해 비교적 낮게 나타났다.

RFTM/2M NaOH를 이용한 바지락의 *Perkinsus* 감염도 조사는 Park and Choi (2001)가 전국 22개 지역의 바지락을 채집해 조사한 결과, 0-873,000 ($\pm 839,000$) *Perkinsus* cell/g TWWT의 범위였다. 이 조사에서는 주로 남해안에 위치한 강진, 여수, 목포, 거제와 전남 서해안에 위치한 고평에서 높은 *Perkinsus* 감염도를 나타냈다. Yang et al. (2010)은 우리나라로 수입해 들어오는 북한산 바지락의 *Perkinsus*

감염도를 측정된 결과, 월 평균 18,644-26,933 *Perkinsus* cell/g TWWT의 검사 결과가 나왔다. Choi et al. (2002)은 일본 Isahaya Bay의 *Perkinsus* 감염 정도를 조사하였는데, 감염율과 감염도는 각각 57%와 225,701 *Perkinsus* cell/g TWWT였다. 또한, Park et al. (2006)은 곰소 지역에 서식하는 바지락의 1999년 3월부터 2000년 2월까지 장기적인 *Perkinsus* 감염도를 조사하였는데, 이 지역의 감염율은 1999년 12월 (70%)을 제외하고 모두 100%의 감염율을 보이고 있었다. 감염도 범위는 141,434 ($\pm 116,601$)-2,037,448 ($\pm 1,395,847$) *Perkinsus* cell/g TWWT이었다. 이와 같은 결과로 볼 때, 이번 연구 지역인 방포와 신야의 *Perkinsus* 감염도는 비교적 낮은 것으로 보이며 장곡과 고남 바지락의 *Perkinsus* 감염도는 곰소만에 서식하는 바지락에 비해 *Perkinsus* 감염도가 높은 것으로 사료된다. Liang et al. (2002)은 황해 북쪽에 위치한 Dalian 지역 바지락의 *Perkinsus* 감염정도를 조사한 결과, 감염율과 감염도는 각각 20-100%와 13,178-3,471,665 *Perkinsus* cell/g TWWT로 서로 가까운 지역에서도 *Perkinsus* 감염도 차이가 났다. 이번 연구에서도 채집 지역간 거리는 14km로 비교적 가까운 거리이다. *Perkinsus* 감염도가 높은 지역인 장곡과 고남은 비교적 작은 만에 같이 위치하고 있으며, 방포와 신야 지역은 서로 떨어져 있다. Chu (1996)의 연구결과에 따르면, oyster의 *P. marinus* 감염은 infective cell이 많은 지역일수록 쉽게 감염되고 감염 속도도 빠르다고 이야기한 바 있다. 또한, Lee (2010)는 *Perkinsus* 감염도가 낮은 지역의 바지락을 *Perkinsus* 감염도가 높은 지역으로 이식한 결과, 이식 후 49일 째 100% 감염율을 보였으며 100일 후에는 *Perkinsus* 감염도가 심한 지역의 감염도와 같아짐을 보고 하였다. Jung (2005)은 안면도 지역에 서식하는 바지락의 밀도를 조사하였는데, 장곡과 고남 지역의 바지락 밀도는 각

각 871/m²와 1,433/m²로 방포 (722/m²)와 신야 (208/m²)에 비해 높은 것으로 나타났다. Soniat (1996)의 보고에 따르면, *Perkinsus* 전이는 거리와 관계가 있다고 이야기 하고 있으며 reef to reef 보다는 individual to individual의 감염이 빠르다고 전하고 있다. 다시 말해, 밀도가 높은 지역의 감염이 밀도가 낮은 지역의 감염 보다 빠르다고 이야기 하고 있다. 장곡과 고남 지역의 밀도는 방포와 신야 지역의 바지락 서식 밀도에 비해 높은 것으로 알려져 있다. 언제부터 *Perkinsus* 감염이 높아 졌는지는 알 수 없지만, 이 지역의 높은 감염율을 고려해 보면 언제든지 주변 지역으로 감염이 진행될 수 있을 것이라 사료된다.

계절에 따른 *Perkinsus* 감염도를 비교해 보기 위해, 봄, 여름, 가을 그리고 겨울로 나눠 *Perkinsus* 감염도를 비교하였다. 방포 지역의 계절별 *Perkinsus* 감염도는 2005년은 서로 차이가 없었으나, 2006년은 가을철 감염도가 봄과 여름보다 유의적으로 높게 나타났다. 신야 지역의 바지락에서는 계절에 따른 *Perkinsus* 감염도 차이가 2005년과 2006년 모두 나타나지 않았다. 반면, *Perkinsus* 감염이 심한 지역인 장곡과 고남은 가을철 감염도가 여름철 감염도에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.05$). Park et al. (2006)이 조사한 연중 *Perkinsus* 감염도 변화를 살펴 보면, 초봄과 늦가을 감염도가 1,009,522 ($\pm 507,798$)과 2,037,448 ($\pm 1,395,847$) cell/g TWWT로 각각 조사 전 달에 비해 *Perkinsus* 감염도가 급격히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이번 연구에서도 가을철 평균 *Perkinsus* 감염율은 여름에 비해 급격히 증가하는 것으로 관찰되었다. 이는 산란시기와도 관계가 있을 것이라 사료되지만, 과연 *Perkinsus* cell이 산란시기에 맞춰 빠져 나가는 것이지, 폐사에 의해 건강한 개체 만 살아남은 것인지 아니면 산란기 이전의 왕성한 먹이 활동으로 인해 체내

면역력이 증가하여 *Perkinsus*에 대한 phagocytosis가 일어난 것인지에 대해 좀더 자세한 연구가 실행되어야 할 것으로 보인다.

4.4. Biochemical composition

해양 이매패류의 번식주기와 이들이 연간 체내 에너지를 저장하고 사용하는 과정은 종종 밀접한 관계를 보여왔다 (Sastry 1979; Urrutia et al. 1999). 많은 연구들에서 알려져 왔듯이, 해양 이매패류들은 난 단백질과 같은 생식소와 관련된 물질로 변환하기 위해 높은 양의 탄수화물을 체내에 축적하는 것으로 나타났다 (Robert et al. 1993; Berthelin et al. 2000; Ojea et al. 2004; Dridi et al. 2007). 이번 연구에서도, 총 탄수화물 함량은 생식소 발달이 이루어지는 시기인 산란 전 기간이 산란이 시작되고 관찰되는 시기 보다 높은 것으로 나타났다 (Fig. 1-8). 각 지역별로 산란이 일어나기 전 2005년 5-6월 이후 탄수화물 함량이 급격히 감소하기 시작하였다. 지역에 따라 감소하는 비율은 다르게 나타났지만 12월까지 감소한 다음 모든 지역에서 2006년 1월부터 다시 증가하기 시작하였다. 이와 같은 현상은 다른 지역에 서식하는 바지락에서도 관찰 되었다. Robert et al. (1993)은 Arcachon Bay에 서식하는 바지락의 생식소 발달 과정을 1989년 3월부터 1991년 3월까지 관찰하였는데, 산란기인 1989년 8월부터 감소하기 시작하였고, 1990년 5-6월 산란 직전 최고로 증가한 뒤 다시 감소하였다. Venice Lagoon과 Jinju Bay에 서식하는 바지락에서 관찰된 탄수화물 함량 역시, 산란 직전 가장 높게 관찰되고 산란이 일어나는 시기에 맞춰 감소하는 패턴을 보이고 있었다 (Kang et al. 2007; Marin et al. 2003). 이매패류 체내의 탄수화물 함량은 해수 중 이들의 먹이원인 phytoplankton이 증식할 때, 증가하는 것으로 알려져 있다 (Marin et al. 2003). 이번 연구 기간 중 관찰된 지

역별 탄수화물 함량은 신야 지역이 다른 지역에 비해 낮게 나타났으며, 방포와 고남 지역이 비교적 높게 조사되었다 (Fig. 1-8). 이처럼 지역 및 연도별로 차이는 것은 각 지역에 서식하는 바지락의 먹이원 및 먹이량이 다르기 때문이라 생각된다.

지역별 바지락의 단백질 함량은 탄수화물 결과와 정 반대 결과를 보이고 있었으며, 이중 탄수화물 함량이 가장 낮은 지역인 신야 바지락의 단백질 함량이 다른 지역에 비해 높게 조사되었다. 단백질은 이매패류의 성숙한 알의 주 성분으로서, 성숙란 무게의 40-50%를 차지한다고 알려져 있다 (Lee and Heffernan 1991; Choi et al. 1993; Kang et al. 2003; Park et al. 2003; Park & Choi 2004). 반면, 이번 연구결과는 대부분 지역에서 휴지기 상태인 10-12월 사이의 바지락 체내 단백질 함량이 높게 나타났다 (Fig. 1-9). 이와 같은 결과는 이 지역에 서식하는 새조개 체조직을 이용한 단백질 측정에서도 관찰되었다. Yang et al. (2011)은 천수만에 서식하는 새조개의 생화학 조성을 측정하였다. 탄수화물과 단백질 함량은 서로 대칭적으로 변화하는 양상을 보이고 있었고, 새조개의 단백질 함량은 휴지기 상태인 10-12월 사이에도 높게 나타나고 있었다.

Table 1-5. Summary of gametogenic and spawning periods in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, in Korean waters.

Sampling site & date	Spawning period	Spawning peak	Author
Sunjae, Apr 2003-Jun 2004	Jun-Aug	Jul-Aug	Uddin et al. (2010)
Begmiri, Jan-Dec 2007	May-Sep	Aug-Sep	Uddin (2008)
Gomso, Jan-Dec 1999	Jun-Oct	Jul-Aug	Chung et al. (2001)
Gomso, Jan-Dec 2000	May-Oct	Jul-Aug	Chung et al. (2005)
Gomso, Jan-Dec 2001	May-Oct	Jul-Aug	Chung et al. (2002)
Simpo, Jan 2000-Dec 2001	May-Oct	Jul-Aug	Choi et al. (2005)
Kimje, Feb 1993-Jun 1994	Jun-Oct	Jul-Aug	Chung et al. (1994)
Gomso, Jan 2004-Dec 2005	Jun-Oct	Jun-Aug	Son and Kim (2006)
Gomso, Mar 1999-Feb 2000	Jun-Aug	mid May-late Jun, late Jul-mid Aug, late Aug	Park et al. (2006)
Jinju Bay, May 2000-Oct 2001	May-Oct	Jul-Aug	Kang et al. (2007)
Shi-Heung-Ri, Jeju, May 2001-Apr 2002	Jun-Aug	Early Aug	Kang et al. (2004)
Seongsan, Jeju, Jun-Nov 2006	Jul-Sep	Aug-Sep	Uddin (2008)
Bangpo, Apr 2005-Sep 2006	Jul-Oct 2005, Jul-Sep 2006	Sep-Oct 2005, Aug-Sep 2006	present study
Shinya, Apr 2005-Sep 2006	May-Oct 2005, Jun-Sep 2006	Aug-Sep 2005, Jun-Jul, Aug-Sep 2006	present study
Janggok, Apr 2005-Sep 2006	Jul-Oct 2005, Jul-Sep 2006	Aug-Oct 2005, Jul-Sep 2006	present study
Gonam, Apr 2005-Sep 2006	Jun-Oct 2005, Jun-Sep 2006	May-Jul, Aug-Sep 2005, Jun-Jul, Aug-Sep 2006	present study

Part 2

Annual variation of reproductive effort, biochemical composition and *Perkinsus olseni* infection in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, off the west coast of Korea

Abstract

바지락의 연중 번식주기, 번식량, *Perkinsus olseni* 감염도, 비만도 및 생화학 조성분 변화를 선재와 선감은 36개월 동안, 파도리와 황도는 48개월 동안 조사하였다. *P. olseni* 감염 결과에 따라 양식장을 세 그룹 (heavy infection area (HIA, 황도), moderated infection area (MIA, 선재, 선감) 및 light infection area (LIA, 파도리))으로 구분하여 번식주기, 번식량, 비만도 및 생화학 조성분 변화를 비교하였다. 각 지역별 번식주기 관찰 결과, MIA에서는 매년 일정한 패턴의 변화를 보이는 반면 HIA와 LIA는 매년 불규칙한 변화를 보이고 있었다. 연구기간 동안 지역에 따른 *P. olseni* 평균 감염율은 62-100%으로 나타났다. 이중, 파도리 바지락이 평균 62%로 감염율이 가장 낮게 조사되었고, 나머지 지역은 96-100%로 매우 높았다. 연구기간 동안 지역에 따른 평균 *P. olseni* 감염도는 9,388 ($\pm 4,869$)-2,063,087 ($\pm 917,113$) *Perkinsus* cell/g tissue wet weight (TWWT)의 범위 였으며, 파도리 바지락의 감염도가 가장 낮았고 황도 바지락의 감염도가 가장 높게 조사되었다. 선재와 선감 바지락의 감염도는 각각 351,262 ($\pm 207,028$)과 317,026 ($\pm 186,543$) *Perkinsus* cell/g TWWT이었다. 비만도 및 총 탄수화물 함량은 번식주기 변화와 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났으며, 생식소 발달 시기에 증가하고 산란이 일어나는 시기에는 감소하는 경향을 보였다. 지역에 따른 연도별 번식량은 파도리를 제외한 세 지역에서 연도별 *P. olseni* 감염도에 따라 번식량이 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

1. Introduction

이매패류의 번식주기와 번식량 조사는 이들의 생활사를 이해하고 자원확보 차원에서 중요한 연구의 하나이다. 이매패류 번식량 측정과 관련된 정량적인 조사는 기술적 어려움으로 인해 매우 부족한 실정이다 (Choi et al. 1993; Park and Choi 2004; Thompson et al. 1996). 가리비를 제외한 대부분의 이매패류들은 생식소가 visceral mass와 한부분으로 되어 있어 정확한 생식소 정량이 어렵다 (Choi and Park 1993; Lucas 1982; Park and Choi 2004; Thompson et al. 1996). 해양 이매패류의 번식량 또는 포란수를 측정하는 방법은 산란 전후의 무게를 측정해 비교하는 방법 (Deslous-Paoli and Heral 1988; Pouvreau et al. 2000a), 화학약품이나 자극을 통해 산란을 유발 시켜 생식소를 계수하거나 무게를 측정하는 방법 (Chung et al. 2001; Massapina et al. 1999; Toba and Miyama 1991) 등이 있다. 또한, 발달 단계에 따른 알을 계수하거나 (Hadfield and Anderson 1988; Robinson and Breese 1982), 각 개체의 성숙란을 계수하는 방법 (Brousseau 1978), 성숙란이 차 있는 follicle의 비율 (Dinamani 1987; Eversole et al. 1980; Langgo-Reynoso et al. 2000; Perdue and Erickson 1984) 및 성숙란의 크기와 분포 비율 (Grant and Tyler 1983; Heffernan et al. 1989; Kanti et al. 1993; Keck et al. 1975) 등의 조직학적 방법을 이용한 번식량 측정 방법이 있다. 그러나, 이러한 방법 들은 산란이 한번에 완전히 이루어지지 않고 여러 번에 걸쳐 이루어지며, 생식소 조직 단면적이 각 개체의 전체를 대신하기 힘들기 때문에 종종 번식량이 잘 못 측정된다 (Choi et al. 1993; Lucas 1982; Thompson et al. 1996). 반면, 항원-항체 반응을 이용한 면역학적 방법은 빠르고, 저렴하며 또한 높은 민감도 때문에 이매패류의 알 단백질을 정량하는데 성공적으로 사용되었다 (Choi et al. 1993; Kang et al. 2003; Park and Choi 2004; Park et al. 2003; Park et al. 2005).

Park and Choi (2004)는 곰소만에 서식하는 바지락의 알 단백질에 대한 항체를 처음으로 개발하여 그 지역에 서식하는 바지락의 번식량을 성공적으로 정량하였다.

원생동물류의 기생충인 *Perkinsus*는 굴, 바지락 및 전복 등의 대량폐사를 일으키는 원인 생물로 알려져 있다. *Perkinsus* 감염이 심한 개체의 경우, 성장 저하, 낮은 비만도 및 번식능력 저하를 야기하는 것으로 보고되어 있다 (Choi et al. 1993, 1994; Dittman 1993; Dittman et al. 2001; Mackin and Ray 1954). American oyster, *Crassostrea virginica*의 경우, *Perkinsus marinus*에 심하게 감염된 개체들에서는 대량 폐사를 일으켰으며, 또한 성장 저하와 생식소 성숙이 늦어지는 것을 관찰할 수 있었다 (Choi et al. 1993; Dittman 1993; Dittman et al. 2001; Mackin and Ray 1954). 이와 같은 현상은 *P. marinus*에 심하게 감염된 개체의 경우 *P. marinus*에 지속적으로 에너지를 빼앗겨 번식에 제공되는 에너지가 부족하기 때문이라 설명될 수 있다 (Choi et al. 1989, 1994).

이번 연구는 *Perkinsus olseni*에 감염된 바지락 양식장을 연중 감염이 심한 지역 (충남 황도), 감염이 보통인 지역 (경기 선재, 선감) 그리고 감염이 낮은 지역 (연중 충남 파도리)으로 구분하고, *P. olseni* 감염도에 따른 연중 번식 특성, 비만도 및 생화학 조성분 등을 비교하기 위해 실시하였다.

2. Materials and methods

2.1. Sampling efforts

이번 실험에 사용된 바지락은 경기지역 2곳과 충남지역 2곳을 선정하여 경기지역은 2007년 1월부터 2009년 12월까지 총 36개월, 그리고 충남지역은 2007년 1월부터 2010년 12월까지 총 48개월에 걸쳐 매달 채집하였다 (Fig. 2-1). 조사지역의 수온 자료는 국립해양조사원 자료를 인용하였고, 염분 및 서식밀도 등의 환경자료는 국립수산과학원 서해수산연구소 자료를 사용하였다.

경기지역은 경기만에 있는 선재와 선감, 충남지역은 근소만 입구 쪽에 자리한 파도리와 천수만 안쪽의 황도 지역으로 네 지역 모두 어촌계를 통한 바지락 양식이 이뤄지고 있는 지역이었다. 이번 실험 모식도를 Fig. 2-2에 나타냈다. 매달 같은 시기에 채집된 바지락은 곧바로 실험실로 옮겨 외관상 이상 유무를 확인한 후 지역별로 70개체씩 선정하였다. 총 70개체 중, 40개체는 조직관찰, 번식량 측정, 생화학 조성분 분석 및 아가미를 이용한 *P. olsenii* 정량을 위해 사용되었고, 나머지 30개체는 전체 조직에 포함된 *P. olsenii* 정량 실험에 이용되었다. 버니어 캘리퍼스와 전자저울을 이용하여 각장 (Shell Length, SL, mm), 습중량 (Tissue Wet Weight, TWWT, g) 및 패각 건중량 (Shell Dry Weight, SDWT, g)을 측정하였고, 비만도 (Condition Index, CI)는 습중량과 패각 건중량의 비로 나타냈다 ($CI = TWWT / SDWT$). 조직학적 방법을 통한 바지락의 암수 구분을 위해 생식소가 포함되도록 몸체 가운데 부분을 1.5~2mm 가량 적출하여 Davidson's solution에 48시간 고정하였다. 잔여 조직은 번식량 및 생화학 조성분 측정을 위해 동결건조 한 후, 막자와 막자사발을 이용하여 파우더화 하였고 실험 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다.

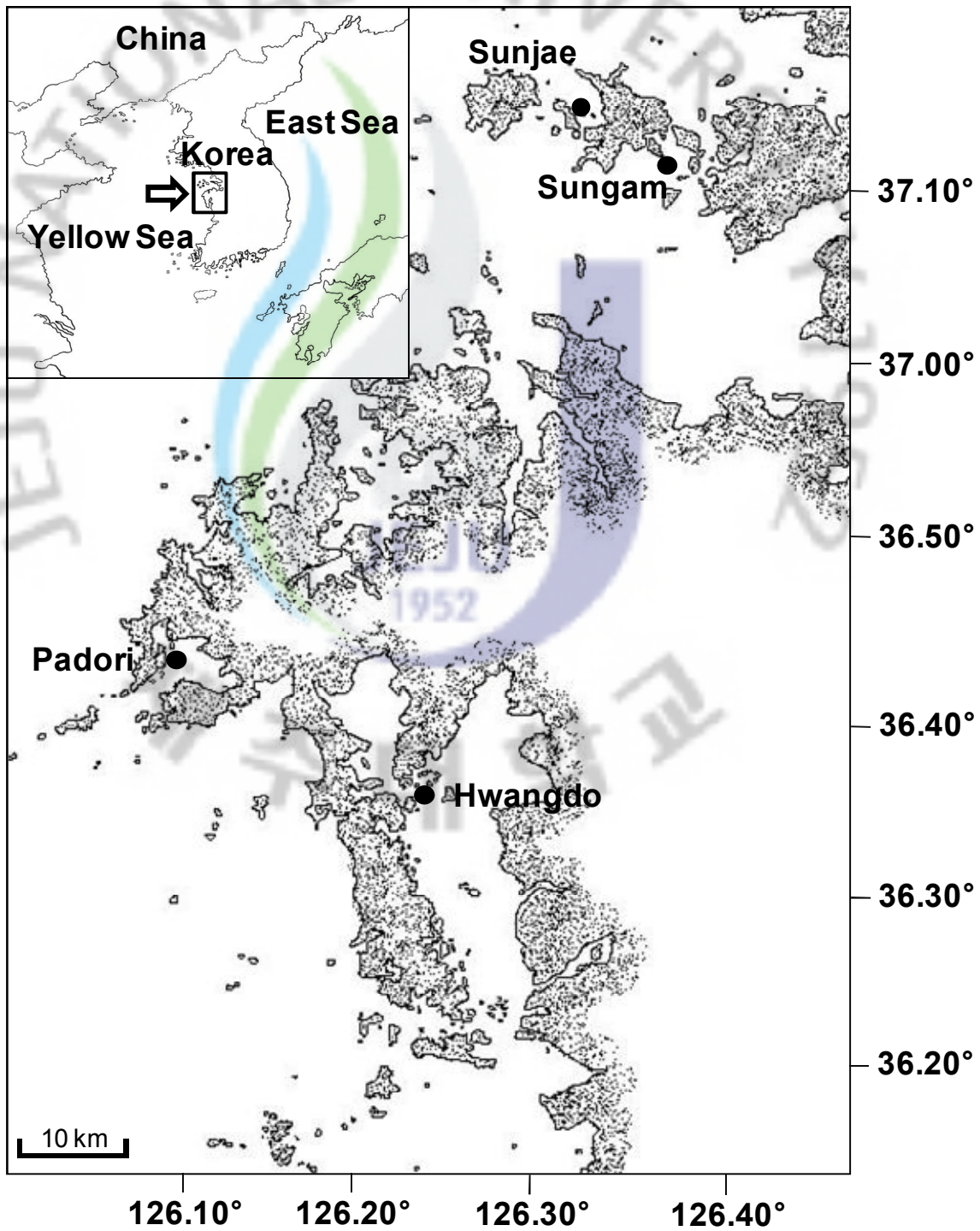


Fig. 2-1. Location of the sampling sites.

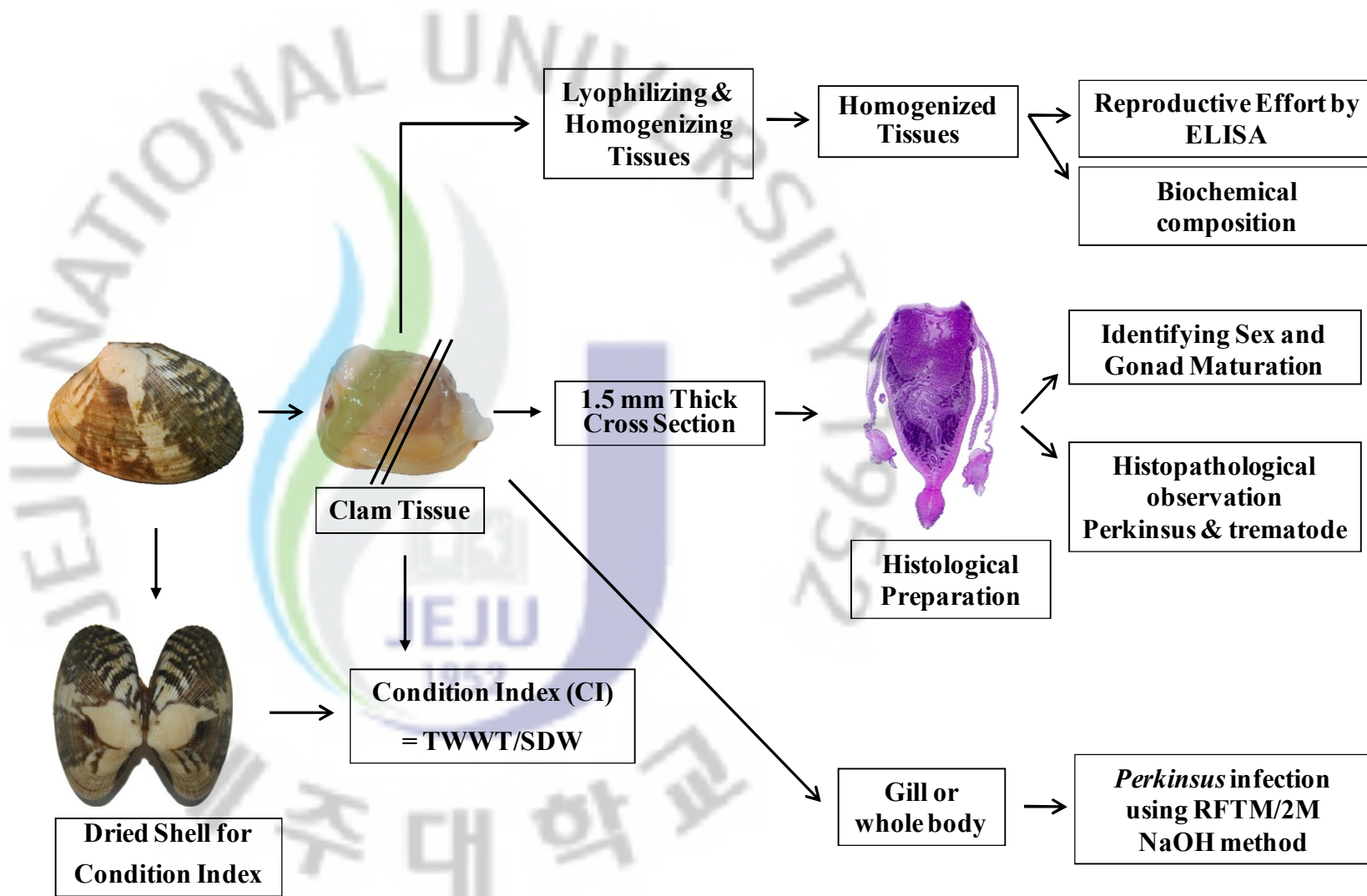


Fig. 2-2. Flow chart for the experiment.

2.2. Histological observation

배우자형성과정을 관찰하기 위해 패각으로부터 분리된 바지락 조직을 Davidson's solution에 48시간 고정하였고, 고정이 끝난 시료는 Powell et al. (1993)의 방법에 따라 에탄올을 이용하여 탈수한 후, 파라핀으로 포매 하였다. 포매된 조직 시료는 6 μm 두께로 절편하여 Harris' Hematoxylin과 Eosin Y (Howard and Smith, 1983)로 비교염색 후 생식소 발달 과정을 관찰 하였다. 바지락의 생식소 발달단계는 Drummond et al. (2006)에 따라, 휴지기 (Resting), 초기발달기 (Early developing), 후기발달기 (Late developing), 완숙기 (Ripe), 산란기 (Partially spawning) 및 소모기·흡수기 (Spent/Resorbing) 등 총 6단계로 구분하였다. 생식소 발달 관찰 외 조직 슬라이드에서 관찰되는 *P. olseni* 감염도는 Ngo and Choi (2004)의 구분에 따라 측정하였고, trematode와 같은 조직 내에서 발견되는 기생충의 감염율을 조사하였다. *P. olseni* 감염도는 (0) no infection; (1) the infection limited in the gills; (2) limited in mantle, gill filaments and digestive tubules; (3) limited in mantle, gill filaments, digestive tubules and gonads; (4) the infection can be found in all types of tissues 등의 총 5단계로 구분하여 관찰하였다.

2.3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

조직학적 관찰을 통해 구분된 암컷 바지락의 번식량을 측정하기 위해 Park and Choi (2004)의 방법에 따라 indirect-ELISA를 사용하였다. 분석을 위해 동결 건조 된 바지락 20 mg을 1 ml의 PBS가 담긴 튜브에 넣고 초음파파쇄기를 이용하여 균질화 하였다. 원심분리 후, 균질액을 500~2,000배로 희석하고 각각의 샘플을 표준용액과 함께 96 well plate에 100 μl 씩 3반복으로 분주하여 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 하룻밤 반응시켰다. 표준용액은 성숙한 바지락으로부터 순수 분리된 알 20 mg을 1 ml의

PBS가 담긴 튜브에 넣고 균질화 시킨 다음 상등액을 따로 분리하여 단백질 농도 측정 후 사용하였다. 반응이 끝난 plate는 0.05%의 triton X-100가 첨가된 PBS (PBST)로 네 차례 세척한 뒤, 1%의 bovine serum albumin (BSA)이 첨가된 PBST 150 μ l를 blocking buffer로 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 반응이 끝난 후, PBST로 네 차례 세척하고 1%의 BSA가 첨가된 PBST에 1차 항체인 Manila clam egg-primary antibody를 2,000배로 희석해 모든 well에 100 μ l씩 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤, PBST로 다시 네 차례 세척하고 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate를 1%의 BSA가 첨가된 PBST에 2,000배로 희석하여 100 μ l씩 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 한 시간 반응 뒤, PBST로 네 차례 세척하고 발색기질을 100 μ l씩 넣고 20분간 암조건에서 반응시켜 흡광도 측정기를 이용해 405 nm 파장에서 흡광도 (Optical Density, O.D.)를 측정하였다. 발색기질은 p-nitrophenylphosphate (p-NPP)를 0.1 M glycine buffer에 mg/ml로 희석하여 사용하였다.

각 시료의 단백질 농도는 순수 분리된 바지락 알 단백질로부터 측정된 O.D.을 이용하여 작성된 표준곡선으로부터 환산하여 나타내었다. 각각의 바지락 알 정량 (total egg dry weight)은 ELISA로부터 얻어진 단백질 농도에 2.44를 곱해 산출하였다. 생식소지수 (Gonadosomatic index, GSI)는 각 바지락의 산출된 알 무게와 총 건중량의 비로 나타내었다 ($GSI = \text{total egg dry weight} / \text{total tissue dry weight}$). 포란수 (fecundity)는 ELISA를 통해 얻어진 각 바지락의 알 무게를 순수 분리 시 얻어진 알 한 개의 무게인 22 ng으로 나누어 산출하였다 ($Fecundity = \text{total egg dry weight} / 22 \text{ ng}$).

2.4. *Perkinsus olseni* assay

바지락의 *P. olseni* 감염 정도를 알아보기 위해, 바지락 아가미와 전체 조직을 사용하여 감염도를 측정하였다. 바지락 양쪽 아가미와 전체 조직 무게를 측정 한 후, 미리 준비해 놓은 멸균된 fluid thioglycollate medium (FTM) 배지에 항생제와 같이 넣고 실온의 암실에서 1주일간 배양하였다. 배양이 끝난 뒤 정량적인 *P. olseni* 감염도 측정을 위해 2M NaOH를 이용하여 2~3회 바지락 포자충 이외의 조직을 제거하여 *P. olseni* 만을 순수 분리하였다. 분리된 *P. olseni*는 혈구계수판을 이용하여 각 개체 당 4회 반복 계수하였다. 아가미를 이용한 *P. olseni* 감염도는 *Perkinsus* cell/g gill weight로 나타내었고, 전체 조직을 이용한 *P. olseni* 감염도는 *Perkinsus* cell/g TWWT로 나타냈다. 계절별 *P. olseni* 감염도를 비교하기 위해 봄 (Sp, March-May), 여름 (Su, June-August), 가을 (Au, August-November) 및 겨울 (Wi, December-February)의 4계절로 구분하고, 각각의 연도에 따른 계절별 유의차를 비교하였다.

2.5. Biochemical composition of tissue

바지락의 총 단백질과 탄수화물 함량을 측정하였다. 총 단백질 함량은 BCA protein assay kit (Pierce, 23227)를 이용하였다. 균질화 된 샘플 20mg에 0.1M NaOH를 넣고 37°C에서 2시간 반응시킨 후, spectrophotometer를 사용하여 562 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Bovine serum albumin을 50-2,000 µg/ml로 희석하여 표준용액으로 사용하였으며, 여기서 나타난 단백질 농도와 흡광도와의 상관식을 이용하여 시료의 단백질 함량을 나타내었다 (Kang et al., 2007). 총 탄수화물 함량 분석은 Taylor (1995)의 Phenol & Sulfuric acid 방법을 이용하였다. 건조된 바지락 시

료 20mg에 1ml의 PBS를 넣고 초음파분쇄기를 이용하여 균질화하였다. 탄수화물 정량을 위한 표준용액은 Dextrose anhydrous를 50-500 $\mu\text{g/ml}$ 희석하여 사용하였다. 표준용액과 균질화 한 시료의 상등액에 Phenol과 Sulfuric acid를 차례로 넣고 섞어 준 뒤, spectrophotometer를 사용하여 490nm 파장에서 흡광도를 측정하여 단백질과 마찬가지로 시료 내 총탄수화물 함량을 계산하였다. 총 단백질과 탄수화물 함량은 최종적으로 다음과 같이 1g에 포함된 함량으로 환산하여 나타내었다 (Total protein or carbohydrate mg/g tissue dry weight).

2.6. Statistical analysis

통계 분석은 SAS 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 월 평균 값과 표준오차를 구한 뒤, ANOVA와 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의차 $p < 0.05$ 수준에서 비교하였다.

3. Results

3.1. Environmental parameters

3.1.1. Water temperature

이번 연구에 사용된 수온 자료는 국립해양조사원 (Korea Hydrographic and Oceanographic Administration, <http://www.khoa.go.kr>) 연안정지관측지점에서 채집지역과 가장 근접한 지역의 수온 자료를 사용하였다 (Fig. 2-3). 경기 선재와 선감은 안산지역의 수온자료를, 충남 파도리는 안흥지역의 수온자료를 그리고 충남 황도는 보령지역의 수온자료를 각각 사용하였다. 선재와 선감 지역의 2007-2009년 월 평균 수온 범위는 최저 수온은 0.7-0.8°C 였고, 최고 수온은 24.4-26.4°C로 나타났다. 최고 수온은 모두 8월에 관찰 되었지만, 최저 수온은 2007년과 2008년은 2월에 관찰된 반면 2009년은 1월이 가장 낮은 수온을 보였다. 파도리 지역의 2007-2010년 월 평균 수온 범위는 최저 수온은 매해 2월에 관찰이 되었으며 3.5-6.4°C의 범위였다. 최대 수온은 8월에 관측이 되었으며, 22.8-23.8°C로 조사되었다. 이 지역은 2008년 관측된 수온이 2007년 보다 낮은 것을 확인할 수 있었고, 2009년 수온은 2008년 보다 높았으며, 2010년 측정된 수온은 다시 2009년 보다 낮아지는 경향을 보였다. 황도 지역의 2007-2010년 월 평균 수온 범위는 5.6-28.9°C 였으며, 매해 2월 가장 낮은 수온을 보였으며 (5.6-7.5°C), 8월 가장 높게 나타났다 (28.0-28.9°C). 이 지역의 월 평균 수온은 2007년부터 2009년 사이에는 큰 변화가 없었지만, 2010년의 경우에는 1월부터 6월 사이의 월 평균 수온은 2009년 보다 0.3-2.5°C 낮은 것으로 나타났다.

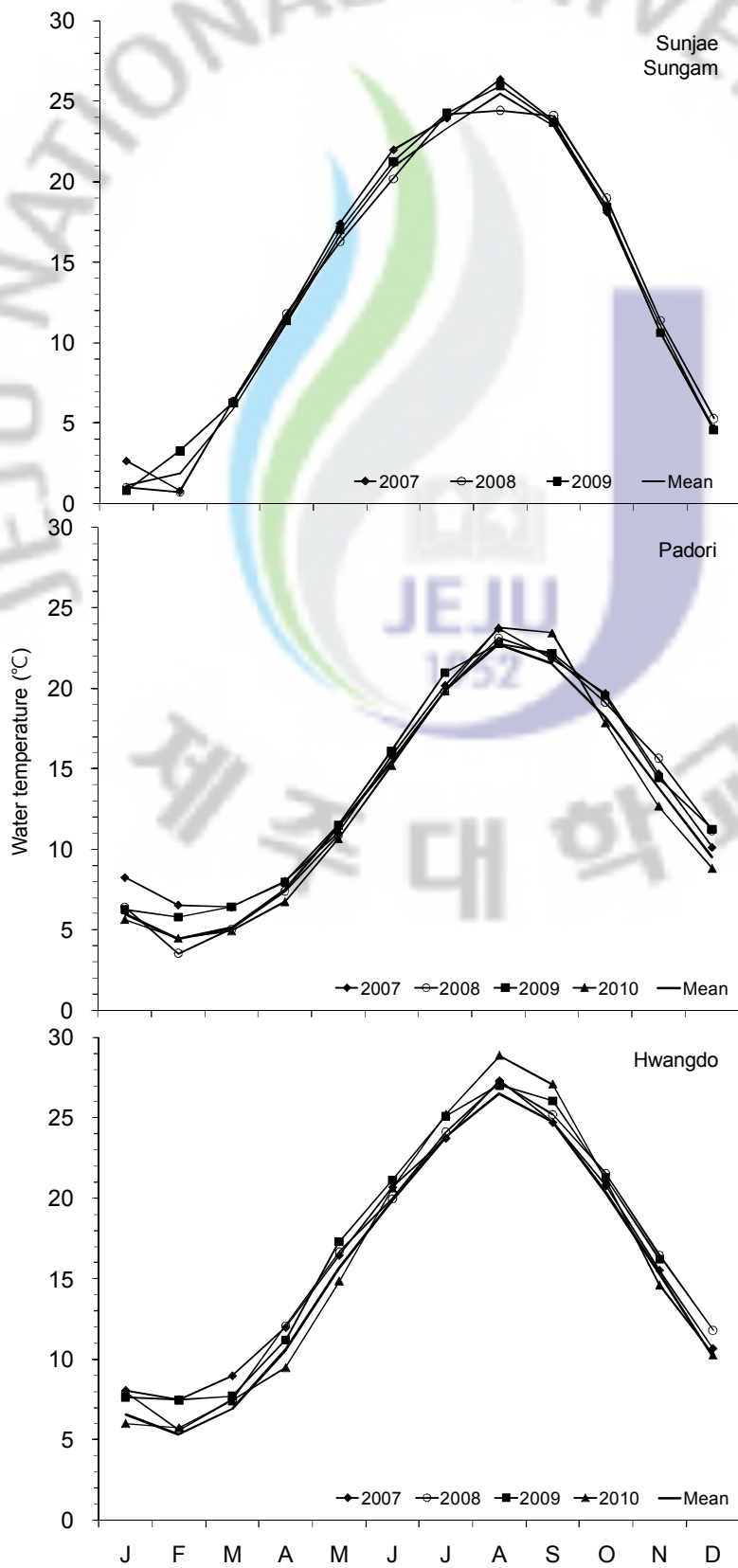


Fig. 2-3. Seawater temperature of the sampling sites recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.

3.1.2. Salinity

지역별 염분 결과를 Fig. 2-4에 나타냈다. 선재 지역의 염분 농도는 25.7-33.3 psu 범위로 나타났고, 선감 지역은 24.7-33.6 psu의 범위였다. 파도리와 황도 지역의 염분 농도는 각각 22.5-33.7 psu와 18.4-33.4 psu 사이로 조사되었다. 각 지역의 최고 염분 농도는 33.3-33.7 psu로 비슷한 반면, 지역별 최저 염분 농도의 범위는 18.4-25.7 psu로 지역간 차이를 보이는 것으로 나타났다. 모든 지역에서 7월과 9월 사이에 가장 낮은 염분 농도를 보이고 있었는데 이는 여름철 집중호우로 인해 일시적으로 낮아진 것으로 생각된다. 선재 지역의 경우, 2009년 2월 25.7 psu로 가장 낮은 염분 농도를 보이고 있었는데, 이는 측정 당시 집중 호우로 인한 것으로 사료된다.

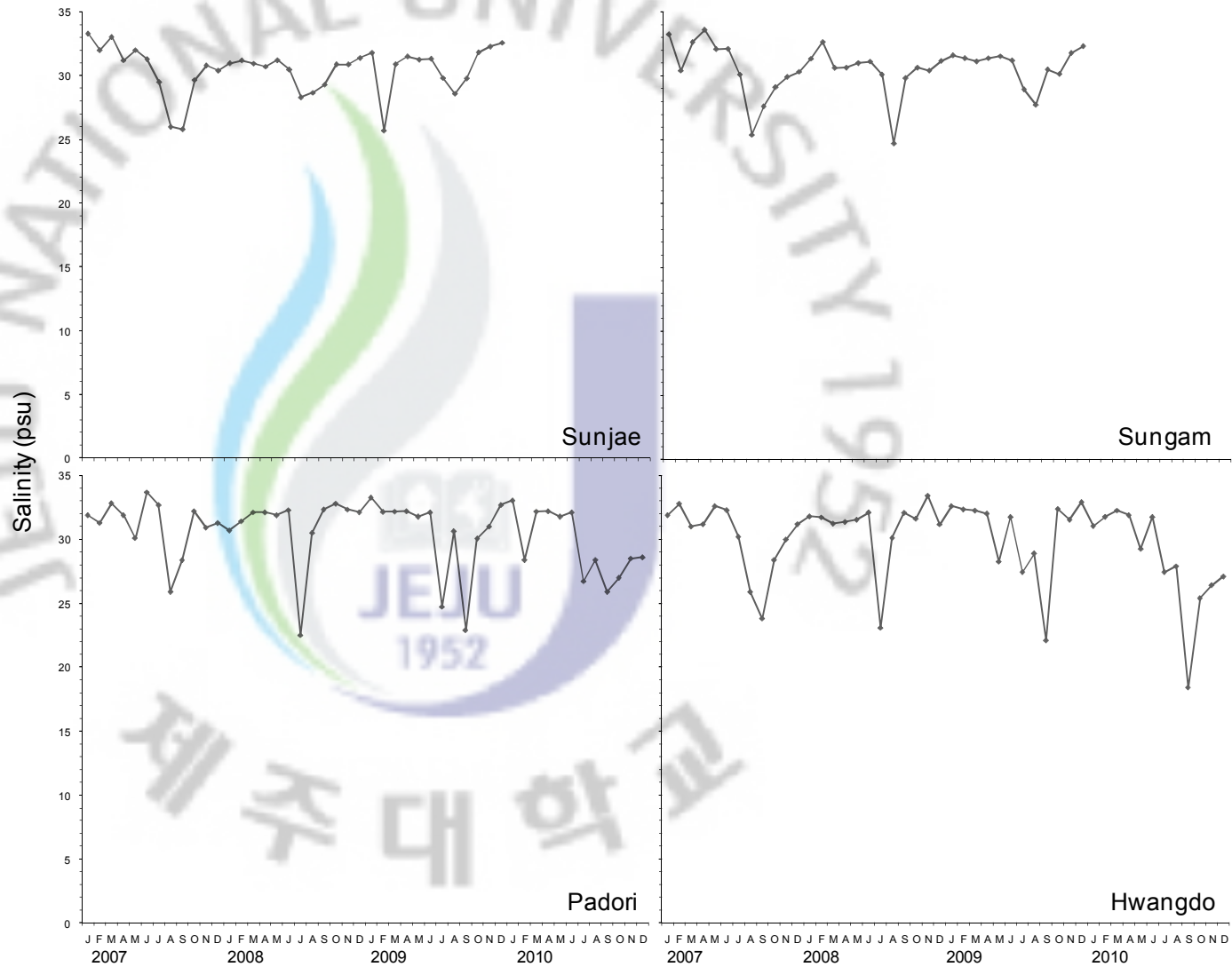


Fig. 2-4. Salinity of sampling sites during the sampling period.

3.1.3. Density

채집 지역에 대한 월별 서식 밀도 (50X50 cm²)를 Fig. 2-5에 나타냈다. 평균 서식밀도는 파도리와 황도 지역에 비해 선재와 선감 지역이 높게 나타났다. 선재 지역의 년 평균 서식밀도는 250-625 개체로 2007년에 조사된 년 평균 서식밀도는 625 개체로 이번 연구기간 동안 가장 높은 밀도를 나타냈다. 월 서식밀도는 55-933개체로 2007년 1월에서 6월 조사에서 가장 높게 관찰되었다. 선감 지역에 서식하는 바지락의 월 서식밀도는 134-696 개체였고, 년 평균 서식밀도는 322-436 개체 범위였다. 파도리 지역에 서식하는 바지락의 년 평균 서식 밀도는 80-228 개체로 나타났고, 2007년과 2008년에 비해 2009년과 2010년 서식밀도가 2배 이상 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 월 서식밀도는 24-436 개체로 조사되었고, 뚜렷한 연중 변화는 관찰되지 않았다. 황도 바지락의 월별 서식밀도는 27-523 개체로 나타났고, 2008년 조사된 서식밀도가 다른 년도에 비해 2~4배 정도 낮게 관찰되었다. 이 지역의 년 평균 서식밀도는 2007년 평균 268 개체로 가장 높게 나타났고, 2009년과 2010년 평균 서식밀도는 각각 139 개체와 130 개체로 조사되었으며, 2008년 평균 서식밀도는 62 개체였다.

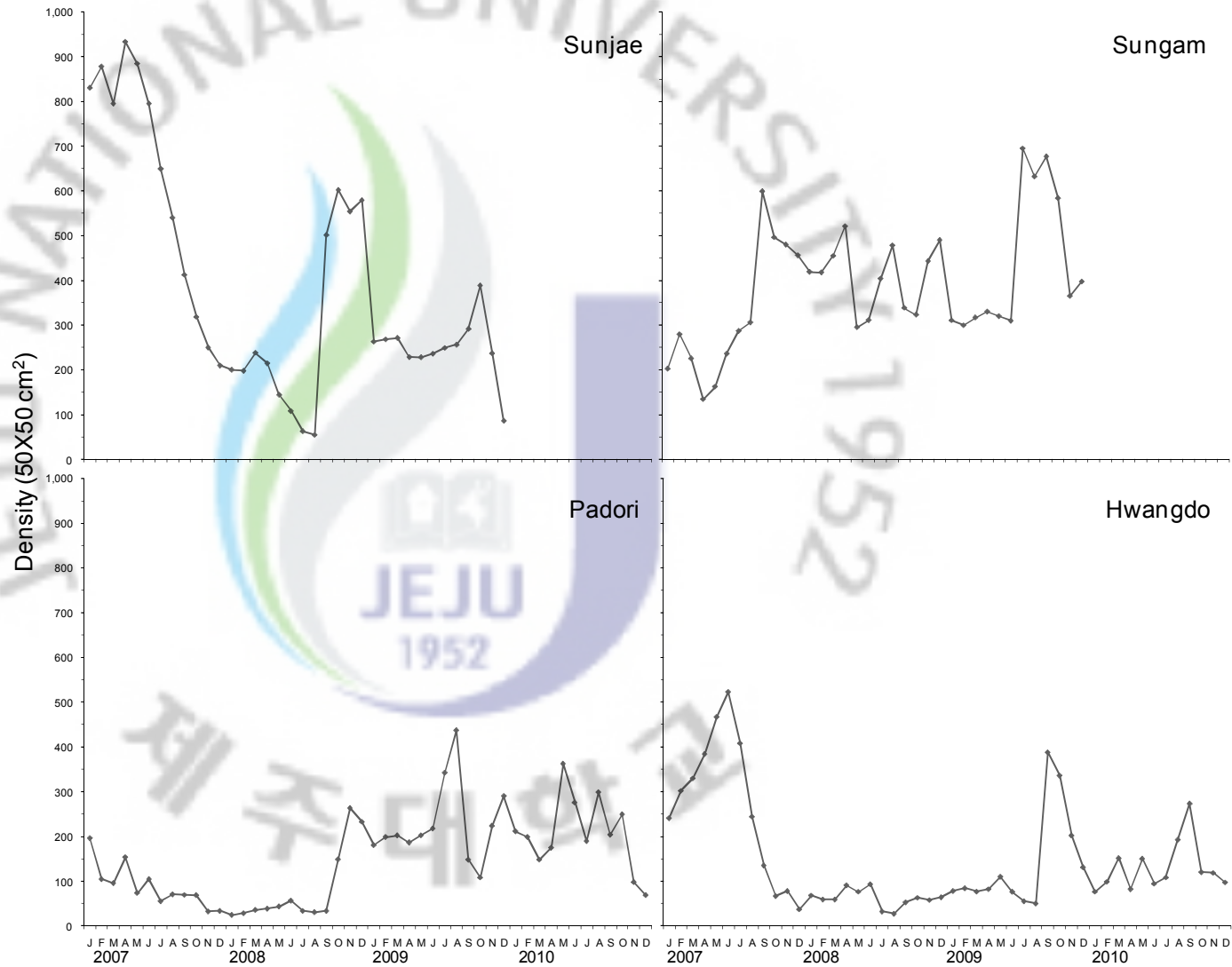


Fig. 2-5. Density of clam in each sampling sites during sampling period.

3.2. Biometric measurements

3.2.1. Shell length (SL, mm)

이번 연구기간 동안 사용된 지역별 바지락의 월별 평균 각장을 Table 2-1에 나타냈다. 선재 바지락의 월 평균 SL 범위는 29.3 (± 2.1)-38.9 (± 3.7)mm로 조사되었다. 2009년 3월에 채집된 바지락의 SL가 29.3 (± 2.1)mm로 가장 작았으나, 대부분 바지락 SL는 비슷한 크기로 채집되었다. 선감 바지락 역시, 2007년 10월 채집된 바지락 SL가 27.9 (± 2.9)mm로 가장 낮은 크기의 개체였으나, 이 달을 제외한 다른 채집 시기의 월 평균 SL는 32.1 (± 2.0)-37.7 (± 2.9)mm로 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 파도리에서 채집된 바지락의 월 평균 SL의 범위는 30.6 (± 2.0)-38.1 (± 1.9)mm로 조사되었고, 황도 바지락의 월 평균 SL는 31.4 (± 2.7)-40.3 (± 2.8)mm의 범위였다.

Table 2-1. Shell length (SL) of Manila clam collected from each sampling sites.

Period	N	SL			
		Sunjae	Sungam	Padori	Hwangdo
2007/Jan	70	36.6 (±2.4)	36.0 (±1.6)	30.9 (±2.0)	33.9 (±2.3)
Feb	70	38.9 (±3.7)	36.2 (±2.1)	31.8 (±1.4)	34.8 (±1.5)
Mar	70	33.8 (±3.3)	36.9 (±2.3)	34.5 (±1.7)	35.5 (±2.2)
Apr	70	35.3 (±3.5)	35.9 (±2.4)	35.6 (±2.0)	35.4 (±3.0)
May	70	36.1 (±3.0)	36.0 (±2.2)	32.9 (±1.8)	37.9 (±2.0)
Jun	70	34.5 (±2.5)	37.7 (±2.9)	34.6 (±1.8)	36.9 (±2.7)
Jul	70	32.8 (±1.6)	33.7 (±3.4)	35.5 (±2.9)	36.1 (±2.0)
Aug	70	33.8 (±1.6)	34.1 (±2.9)	34.7 (±1.8)	36.9 (±2.3)
Sep	70	34.1 (±1.8)	34.0 (±2.0)	35.8 (±2.0)	35.1 (±2.8)
Oct	70	33.8 (±2.1)	27.9 (±2.9)	34.8 (±1.7)	34.5 (±3.2)
Nov	70	33.8 (±1.5)	33.6 (±1.9)	37.7 (±1.6)	34.4 (±2.5)
Dec	70	33.2 (±1.7)	33.5 (±2.5)	36.7 (±2.0)	37.7 (±2.2)
2008/Jan	70	33.8 (±2.1)	32.2 (±1.6)	38.1 (±1.9)	36.7 (±3.0)
Feb	70	33.8 (±2.0)	33.2 (±2.4)	37.8 (±1.8)	38.4 (±2.4)
Mar	70	33.5 (±2.1)	33.0 (±1.9)	35.5 (±1.8)	35.8 (±2.7)
Apr	70	34.0 (±1.7)	32.5 (±1.6)	33.4 (±1.8)	36.6 (±2.3)
May	70	34.9 (±1.6)	33.8 (±2.4)	36.4 (±1.8)	37.2 (±3.2)
Jun	70	35.0 (±2.2)	35.7 (±2.2)	31.0 (±1.9)	37.4 (±3.1)
Jul	70	35.3 (±2.1)	35.6 (±1.7)	35.7 (±1.7)	38.7 (±2.2)
Aug	70	36.3 (±2.6)	35.7 (±2.1)	35.5 (±2.4)	37.9 (±3.4)
Sep	70	34.0 (±2.1)	34.4 (±1.6)	36.5 (±2.1)	40.3 (±2.8)
Oct	70	34.8 (±2.4)	33.9 (±2.1)	35.0 (±2.4)	39.1 (±3.4)
Nov	70	34.7 (±2.5)	32.9 (±2.7)	35.3 (±3.5)	38.8 (±2.1)
Dec	70	32.1 (±2.3)	33.3 (±1.9)	35.0 (±2.7)	37.6 (±3.1)
2009/Jan	70	36.7 (±2.4)	35.1 (±1.9)	35.9 (±2.0)	37.8 (±3.1)
Feb	70	33.3 (±2.6)	34.3 (±1.8)	35.5 (±2.4)	39.5 (±2.4)
Mar	70	29.3 (±2.1)	34.3 (±1.4)	36.3 (±1.8)	37.8 (±2.2)
Apr	70	31.6 (±2.7)	34.5 (±1.7)	36.1 (±1.7)	38.7 (±2.7)
May	70	31.7 (±2.0)	33.4 (±2.3)	33.2 (±2.0)	37.6 (±2.1)
Jun	70	32.1 (±2.2)	32.1 (±2.0)	31.8 (±4.3)	36.6 (±4.0)
Jul	70	32.5 (±1.9)	33.0 (±2.0)	34.3 (±3.1)	37.8 (±2.6)
Aug	70	34.3 (±1.9)	32.7 (±1.8)	32.3 (±3.1)	37.6 (±3.5)
Sep	70	35.3 (±1.5)	33.8 (±2.2)	32.0 (±2.2)	34.4 (±3.4)
Oct	70	32.4 (±1.2)	32.1 (±2.6)	33.2 (±2.4)	35.9 (±3.2)
Nov	70	33.4 (±1.9)	34.0 (±2.1)	32.5 (±2.1)	35.7 (±3.1)
Dec	70	33.5 (±2.4)	32.6 (±2.5)	30.8 (±1.8)	33.1 (±2.3)
2010/Jan	70			31.6 (±1.7)	37.2 (±3.5)
Feb	70			32.1 (±2.9)	33.9 (±3.3)
Mar	70			34.4 (±2.8)	32.1 (±4.0)
Apr	70			30.6 (±2.0)	33.5 (±3.3)
May	70			32.4 (±3.2)	31.4 (±2.7)
Jun	70			31.6 (±1.7)	32.7 (±4.1)
Jul	70			32.3 (±1.4)	36.4 (±2.3)
Aug	70			32.3 (±1.8)	34.0 (±2.6)
Sep	70			34.0 (±1.6)	34.0 (±2.8)
Oct	70			33.2 (±1.5)	33.5 (±2.0)
Nov	70			34.3 (±1.6)	34.5 (±2.4)
Dec	70			35.7 (±2.1)	33.2 (±1.9)

3.2.2. Tissue wet weight (TWWT, g)

이번 연구기간 동안 조사된 월별 TWWT 결과를 Table 2-2에 나타냈다. 월 평균 TWWT는 2007년부터 2009년에는 매년 4월과 6월 사이 최대값을 보인 후 감소하는 유사한 패턴을 보였으나, 2010년 파도리와 황도 바지락의 TWWT는 이전 결과와 다른 양상을 보였다. 선재 바지락의 월 평균 TWWT는 1.224 (± 0.302)-3.042 (± 0.415)g 범위로, 연구기간 동안 4월에서 5월 사이 가장 높게 관찰되었고, 매년 12월 가장 낮은 것으로 조사되었다. 이 지역의 가장 낮은 TWWT 범위는 1.224 (± 0.302)-1.427 (± 0.262)g 이었으며, 가장 높았던 달의 평균 TWWT는 2.157 (± 0.584)-3.042 (± 0.415)g으로 가장 낮았던 달의 평균 TWWT 보다 약 2-2.5배 높은 것으로 나타났다. 선감 바지락의 월 평균 TWWT는 1.128 (± 0.235)-2.830 (± 0.700)g 범위였다. 이 지역의 TWWT는 2007년 6월 2.830 (± 0.700)g으로 이번 연구기간 중 가장 높게 나타났고, 이후 감소하여 10월 1.128 (± 0.235)g으로 최소값을 보인 후 증가하였다. 2008년과 2009년 변화 패턴도 각각 7월과 4월 TWWT가 최대값을 보인 이후 낮아지는 유사한 경향을 보였다. 파도리 바지락의 월 평균 TWWT는 1.099 (± 0.262)-2.926 (± 0.406)g 범위였다. 이 지역 TWWT의 최대값은 1.943 (± 0.249)-2.926 (± 0.406)g의 범위로 2007년부터 2009년 사이의 최대값은 각각 6월, 5월 그리고 4월에 관찰된 반면, 2010년은 12월에 최대값을 나타냈다. 황도 바지락의 월별 TWWT는 1.261 (± 0.292)-4.302 (± 1.088)g 범위로 다른 세 지역에 비해 높게 나타났다. 최대 TWWT 범위는 3.183 (± 0.689)-4.302 (± 1.088)g으로 2010년 월 최대 평균값이 다른 지역에 비해 낮았고, 다른 지역은 4월과 5월에 관찰된 반면에 2010년은 이보다 늦은 7월에 최대값을 나타냈다.

Table 2-2. Tissue wet weight (TWWT) of Manila clam collected from each sampling sites.

Period	N	TWWT			
		Sunjae	Sungam	Padori	Hwangdo
2007/Jan	70	2.001 (± 0.497)	2.022 (± 0.381)	1.099 (± 0.262)	2.271 (± 0.457)
Feb	70	2.320 (± 0.690)	1.935 (± 0.385)	1.273 (± 0.200)	2.720 (± 0.453)
Mar	70	1.768 (± 0.453)	1.963 (± 0.401)	1.555 (± 0.231)	3.041 (± 0.655)
Apr	70	2.620 (± 0.789)	2.202 (± 0.540)	1.862 (± 0.303)	3.113 (± 0.820)
May	70	2.489 (± 0.559)	2.052 (± 0.444)	2.035 (± 0.281)	4.030 (± 0.722)
Jun	70	2.322 (± 0.455)	2.830 (± 0.700)	2.410 (± 0.383)	3.597 (± 1.016)
Jul	70	1.868 (± 0.284)	1.951 (± 0.521)	2.251 (± 0.611)	3.069 (± 0.702)
Aug	70	1.809 (± 0.339)	1.881 (± 0.558)	1.880 (± 0.334)	2.603 (± 0.563)
Sep	70	1.761 (± 0.352)	1.549 (± 0.306)	2.190 (± 0.450)	1.773 (± 0.577)
Oct	70	1.591 (± 0.420)	1.128 (± 0.235)	1.799 (± 0.342)	1.820 (± 0.500)
Nov	70	1.529 (± 0.225)	1.395 (± 0.272)	2.350 (± 0.451)	1.927 (± 0.580)
Dec	70	1.427 (± 0.262)	1.211 (± 0.288)	1.875 (± 0.717)	3.078 (± 0.664)
2008/Jan	70	1.875 (± 0.348)	1.224 (± 0.186)	2.227 (± 0.415)	3.398 (± 0.875)
Feb	70	2.026 (± 0.319)	1.431 (± 0.386)	2.202 (± 0.373)	3.755 (± 0.796)
Mar	70	2.474 (± 0.555)	1.779 (± 0.360)	2.106 (± 0.406)	3.368 (± 0.879)
Apr	70	2.667 (± 0.521)	2.002 (± 0.379)	1.831 (± 0.336)	3.693 (± 0.750)
May	70	3.042 (± 0.415)	2.097 (± 0.492)	2.926 (± 0.406)	3.891 (± 1.194)
Jun	70	2.969 (± 0.569)	2.643 (± 0.476)	1.547 (± 0.298)	3.383 (± 1.023)
Jul	70	2.788 (± 0.513)	2.732 (± 0.492)	2.315 (± 0.417)	3.552 (± 0.758)
Aug	70	2.619 (± 0.580)	2.521 (± 0.595)	1.901 (± 0.456)	2.767 (± 0.818)
Sep	70	1.845 (± 0.420)	1.566 (± 0.276)	2.005 (± 0.460)	3.213 (± 0.826)
Oct	70	1.771 (± 0.418)	1.389 (± 0.339)	1.740 (± 0.391)	2.575 (± 0.814)
Nov	70	1.684 (± 0.476)	1.174 (± 0.320)	1.850 (± 0.649)	2.607 (± 0.502)
Dec	70	1.224 (± 0.302)	1.229 (± 0.257)	1.781 (± 0.463)	2.719 (± 0.680)
2009/Jan	70	1.932 (± 0.478)	1.512 (± 0.281)	1.886 (± 0.392)	3.069 (± 0.935)
Feb	70	1.907 (± 0.491)	1.539 (± 0.283)	1.762 (± 0.420)	3.760 (± 0.946)
Mar	70	1.359 (± 0.309)	1.680 (± 0.308)	1.801 (± 0.329)	3.579 (± 0.869)
Apr	70	2.157 (± 0.584)	2.098 (± 0.492)	1.943 (± 0.249)	4.302 (± 1.088)
May	70	2.132 (± 0.477)	1.782 (± 0.460)	1.778 (± 0.352)	3.657 (± 0.847)
Jun	70	2.027 (± 0.419)	1.622 (± 0.400)	1.760 (± 0.757)	3.578 (± 1.265)
Jul	70	1.805 (± 0.292)	1.881 (± 0.343)	1.834 (± 0.601)	3.024 (± 0.723)
Aug	70	2.133 (± 0.446)	1.663 (± 0.372)	1.653 (± 0.468)	2.616 (± 0.836)
Sep	70	2.088 (± 0.377)	1.480 (± 0.338)	1.550 (± 0.293)	1.883 (± 0.744)
Oct	70	1.293 (± 0.177)	1.191 (± 0.350)	1.549 (± 0.357)	1.873 (± 0.678)
Nov	70	1.392 (± 0.353)	1.366 (± 0.366)	1.365 (± 0.270)	1.989 (± 0.673)
Dec	70	1.337 (± 0.324)	1.185 (± 0.357)	1.189 (± 0.276)	1.778 (± 0.377)
2010/Jan	70			1.223 (±0.237)	2.878 (±0.810)
Feb	70			1.315 (±0.437)	2.375 (±0.767)
Mar	70			1.574 (±0.380)	2.329 (±0.831)
Apr	70			1.201 (±0.265)	2.782 (±0.785)
May	70			1.457 (±0.412)	2.222 (±0.656)
Jun	70			1.561 (±0.320)	2.914 (±1.202)
Jul	70			1.546 (±0.279)	3.183 (±0.689)
Aug	70			1.555 (±0.294)	2.070 (±0.614)
Sep	70			1.715 (±0.288)	1.661 (±0.471)
Oct	70			1.546 (±0.202)	1.261 (±0.292)
Nov	70			1.901 (±0.343)	2.118 (±0.533)
Dec	70			2.251 (±0.441)	2.015 (±0.425)

3.2.3. Condition Index (CI)

각 지역에 따른 월별 CI를 Fig. 2-6에 나타냈다. 지역을 고려하지 않은 연구기간 동안의 월 평균 CI 범위는 0.311 (± 0.093)-0.892 (± 0.168)로 조사되었다. 선재 바지락의 월 평균 CI는 0.311 (± 0.093)-0.734 (± 0.130) 범위였으며, 주로 4월과 5월에 가장 높게 나왔고 (0.652-0.734) 이후 감소하여 12월에 가장 낮은 값을 보였다. 선감 바지락의 월 평균 CI 변화는 0.346 (0.097)-0.680 (± 0.102)으로 조사되었다. 매년 7월 평균 CI가 최대값 (0.548-0.680)을 나타낸 이후 11월과 12월까지 감소하였고, 이후 증가하는 양상으로 보였다. 파도리 바지락의 월 평균 CI는 0.363 (± 0.117)-0.612 (± 0.087)의 변화를 보였다. 최대 CI는 0.530 (± 0.071)-0.612 (± 0.087) 범위였으며 주로 5월과 6월에 관찰되고 있었으나, 다른 지역에 비해 낮은 것으로 나타났다. 전 연구기간 동안 관찰된 황도 바지락의 월별 CI는 0.370 (± 0.045)-0.892 (± 0.168)이고, 연도별 최대 CI는 0.822 (± 0.140)-0.892 (± 0.168) 범위로 다른 지역에 비해 높게 관찰되고 있었다. 월 평균 CI의 연중 변화는 4월과 6월 사이 최대값을 보인 후 감소하여, 10월 최소값을 나타낸 이후 증가하는 매년 똑같은 패턴을 보이고 있었다.

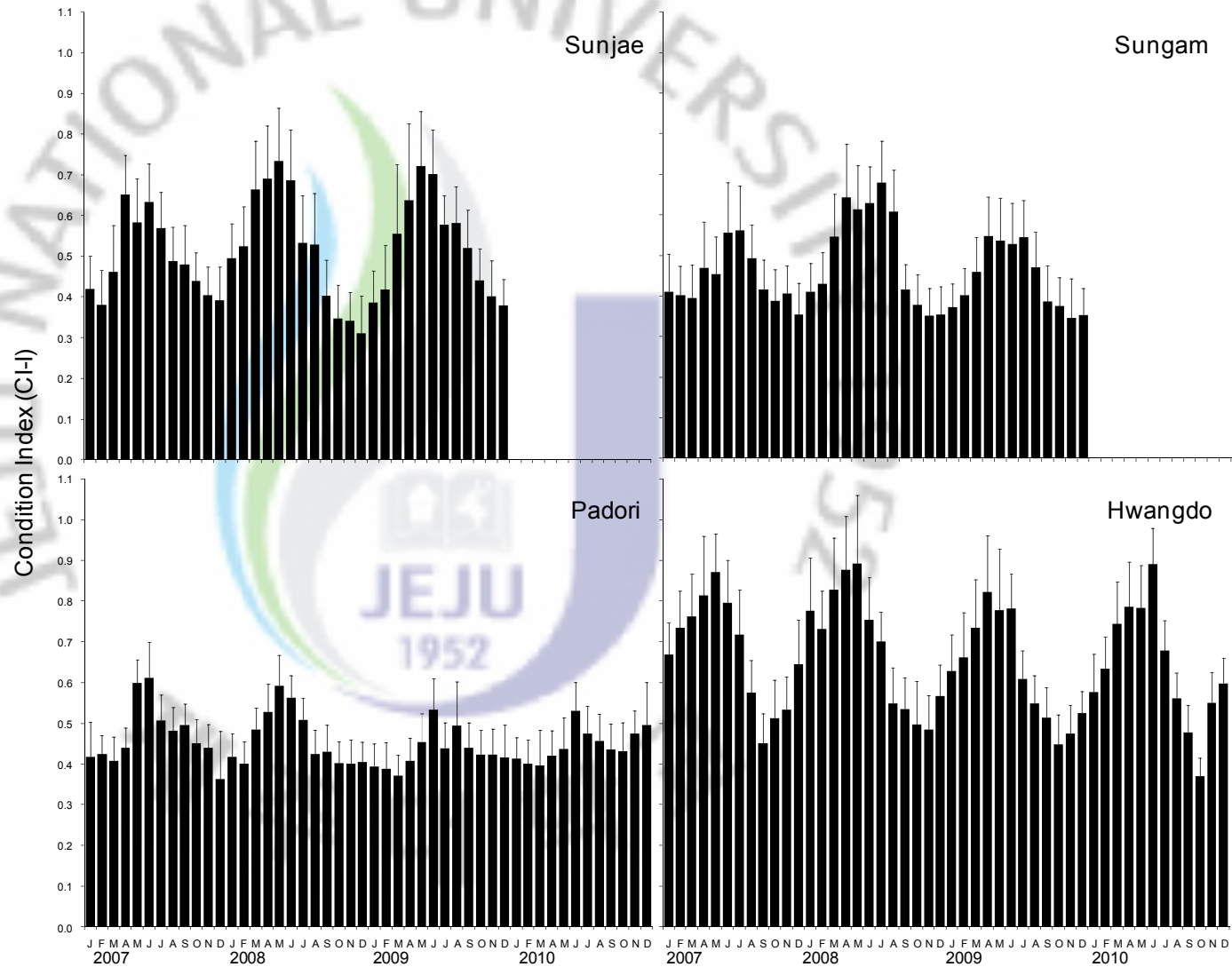


Fig. 2-6. Condition index (CI-I as TWWT/SDWT) of clam in each sampling sites during sampling period.

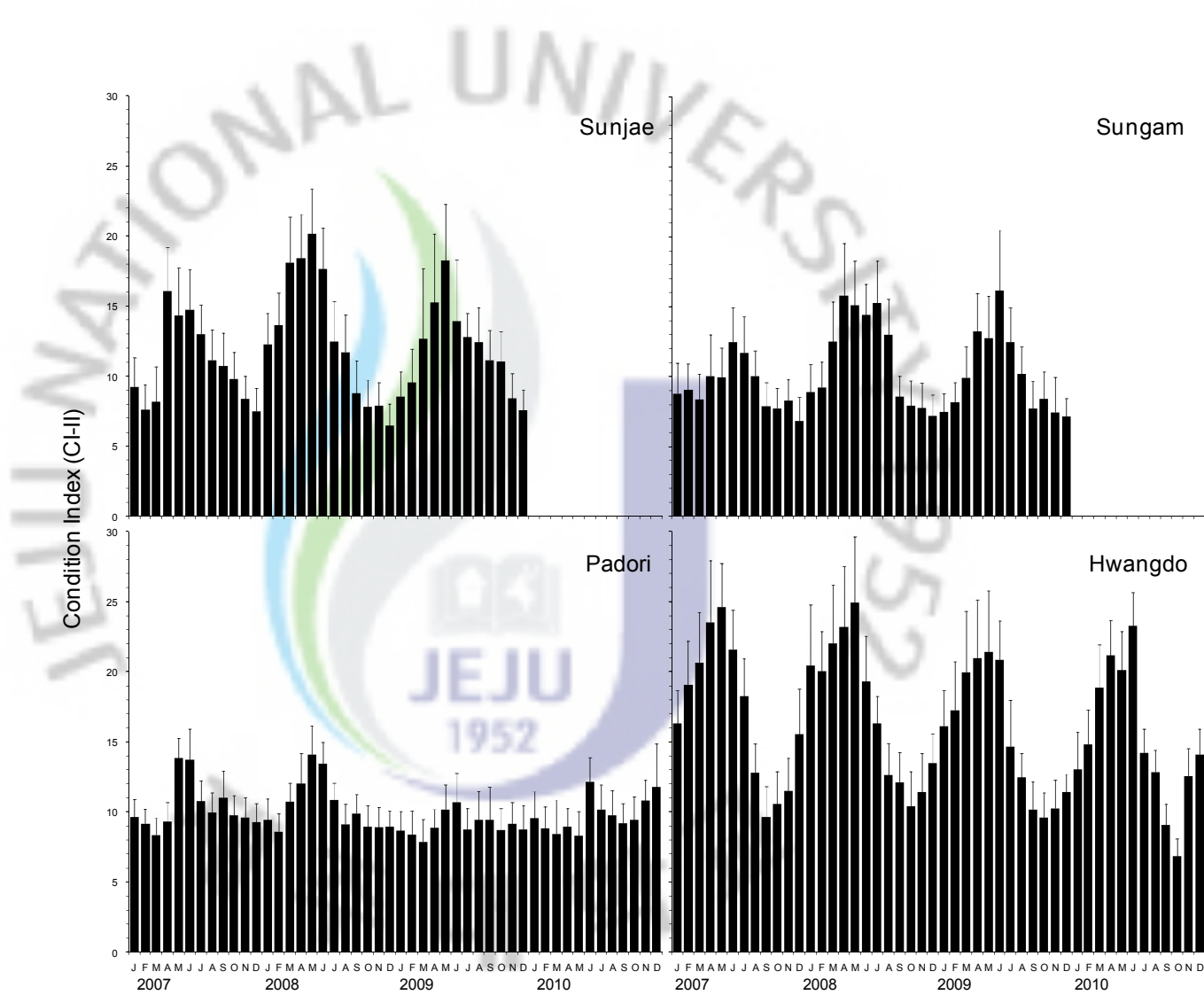


Fig. 2-7. Condition index (CI-II as $TDWT/SDWT \times 100$) of clam in each sampling sites during sampling period.

3.3. Reproductive cycle

3.3.1. Sunjae

선재 지역 암컷 바지락의 월별 생식소 변화를 Fig. 2-8-1에 나타냈다. 조직학적 관찰 결과, 2007년 완숙한 암컷 바지락 생식소는 6월 (33.3%)부터 관찰되기 시작하였으며 7월에는 92.3%로 급격히 증가하였다. 산란은 8월에서부터 10월까지 관찰되었으나, 8월과 9월 각각 90%와 100%를 보임으로 주 산란기임을 알 수 있었다. 생식소가 관찰되지 않는 휴지기는 10월부터 나타났으며, 2008년 2월까지 지속되었다. 생식세포 분열은 2007년 12월에 관찰되기 시작하였고, 2008년 성적으로 성숙한 바지락 생식소는 2007년 보다 한 달 빠른 5월에 처음 관찰되었으며 6월과 7월에는 산란 직전의 바지락이 70% 이상이었다. 2008년 산란은 2007년과 마찬가지로 8월에 처음 관찰되었고, 9월은 모든 개체들이 산란 중에 있는 것으로 확인되었다. 산란 직후 인 10월부터 휴지기 상태가 관찰되었고, 2009년 1월 생식세포 분열을 시작하였다. 완숙한 바지락은 2008년과 마찬가지로 5월에 처음 관찰되기 시작하였고, 산란은 2007년과 2008년 보다 한 달 빠른 7월에 나타났다. 산란은 9월까지 지속되었고, 9월달 94.1%가 산란에 참여 하는 것으로 확인되어 주 산란이 9월인 것으로 보인다. 산란 직 후인 10월부터 휴지기 상태인 개체들이 관찰되기 시작하였고, 12월 생식세포가 관찰되기 시작하였다. 이 지역의 생식소 발달 과정은 매년 유사한 패턴을 보이는 것으로 확인되었다.

3.3.2. Sungam

선감 지역 암컷 바지락의 생식소 변화를 관찰한 결과를 Fig. 2-8-2에 나타냈다. 2007년 이 지역에서 완숙한 개체는 6월 처음 관찰 (40.9%)되기 시작하여 7

월에는 72.7%까지 증가하였고 9월까지 산란 직전의 개체들이 확인되었다. 첫 산란은 완숙한 개체가 관찰된 6월 동시에 일어났으며, 11월까지 지속되었다. 9월 78.6%의 개체들이 산란 하는 것으로 관찰되어 이 시기가 2007년 주 산란기임을 알 수 있었다. 주 산란 직후인 10월부터 휴지기 상태의 개체들이 관찰되었고, 2월까지 지속되었다. 암컷 바지락의 생식세포는 12월에 처음 관찰되었다. 2008년 산란 직전의 생식소가 관찰된 시기는 2007년 보다 한 달 빠른 5월 이었고 7월과 8월은 각각 87.5%와 90.9%가 관찰되어 산란이 임박했음을 짐작할 수 있었다. 산란은 9월부터 10월까지인 것으로 나타났으나, 산란 비율은 각각 25.0%와 4.8%인 것으로 미루어 보아 주 산란은 8월과 9월 사이인 것으로 추측된다. 휴지기는 10월부터 12월까지 관찰되었으며, 12월 첫 생식세포가 관찰되었다. 2009년 완숙란은 6월부터 8월까지 관찰되었고, 10월에 다시 나타났다. 산란은 7월부터 10월까지였으며, 8월 70% 가량의 개체들이 산란에 참여 하는 것으로 보아 주 산란기임을 추측할 수 있었다. 2009년의 경우, 생식세포 발달은 이전 해보다 한 달 가량 빠른 11월에 관찰이 시작되었다. 이 지역의 경우, 2007년과 2009년 생식소 발달 패턴은 비슷하였다. 반면, 2008년의 경우 완숙한 개체는 다른 두 해보다 한달 먼저 관찰되었고 산란은 늦은 것을 알 수 있었다.

3.3.3. Padori

파도리 지역에 서식하는 암컷 바지락의 성성숙 변화를 Fig. 2-8-3에 나타냈다. 2007년 1월부터 4월까지의 대부분 초기 발달 상태의 생식소가 관찰되었고, 같은 해 6월 산란 직전의 생식소가 나타나기 시작하였다. 산란 직전의 완숙란이 관찰된 다음 달인 7월부터 산란이 시작되었고 11월까지 일부 산란 개체들이 나타났

지만, 주 산란 시기는 8월 (90.9%)과 9월 (70.6%)인 것을 알 수 있었다. 주 산란 이후 휴지기 상태가 10월부터 시작되었고, 2008년 2월까지 지속되었다. 2007년 12월 산란 이후 첫 생식세포가 관찰이 되었고, 2008년 4월까지 생식소 발달이 계속되었다. 2008년 완숙한 바지락은 2007년 보다 한 달 이른 5월에 관찰되었다 (10%). 완숙한 바지락은 5월과 6월 그리고 9월과 10월에 조사되었고, 5월부터 8월 사이는 아직 성숙이 덜 된 후기 발달기 상태의 개체들이 대부분을 차지하고 있었다. 이 시기에 산란은 6월 6.3%를 보이며 처음 시작하였고, 9월부터 11월까지 다시 산란이 이뤄졌다. 산란이 임박한 9월 이후 10월에는 산란 개체의 비율이 20.0% 밖에 되지 않아 9월과 10월 사이에 주 산란이 이뤄졌음을 알 수 있었다. 휴지기는 2007년 보다 한 달 앞선 9월부터 관찰되기 시작하였고, 산란 이후 배우자형성은 2007년과 마찬가지로 12월에 나타났다. 2009년 이 지역의 생식세포 발달은 6월까지 초기 발달기 상태와 후기 발달기 상태를 보였으며, 첫 완숙한 바지락은 2007년과 2008년 보다 한 달 늦은 7월에 관찰되었다. 산란 직전의 완숙란이 관찰된 7월에 산란이 동시에 일어나는 것을 확인 할 수 있었고, 산란은 9월까지 관찰되었다. 휴지기 상태의 개체들은 9월부터 나타나기 시작하여, 2010년 3월까지 남아 있는 것을 알 수 있었다. 산란 후, 초기 발달기 상태의 개체는 이전 해와 마찬가지로 12월부터 관찰되기 시작하였고, 이후 비율은 점점 증가하여 4월에는 모든 개체들이 초기 발달기 상태로 나타났다. 2010년 5월 후기 발달기 상태가 관찰된 이후 6월부터 완숙한 개체들이 9월까지 꾸준히 나타나고 있었다. 완숙란이 90.0%를 차지한 8월 이후 9월 산란이 관찰되기 시작하였다. 2010년 이 지역의 산란은 9월과 10월로 2007년부터 지속된 관찰 결과 보다 2-3달 늦은 것으로 나타났다. 완숙

란이 관찰된 시기도 2007년과 2008년의 경우 5월과 6월 사이에 나타난 반면, 2009년과 2010년은 1-2달 가량 늦은 7월에 관찰 되어, 같은 지역이라도 해마다 성성숙과 산란 패턴이 다름을 알 수 있었다.

3.3.4. Hwangdo

황도 지역 암컷 바지락의 성성숙 변화 결과를 조직학적 관찰을 통해 알아 보았다 (Fig. 2-8-4). 2007년 1월부터 3월까지는 대부분 초기 발달기 상태였고, 4월 후기 발달기가 관찰된 다음달인 5월 완숙한 개체들이 나타나기 시작했다. 6월부터 8월 사이 산란 직전 상태의 바지락이 대부분을 차지하고 있었고, 9월과 10월 산란이 이뤄졌다. 휴지기는 10월부터 시작되었고, 배우자형성은 12월부터 나타났다. 2008년 생식소 발달은 2007년에 비해 산란 직전의 바지락 보다는 후기 발달기 상태의 바지락 비율이 높게 관찰되고 있었다. 2008년 4월부터 후기 발달기 상태의 바지락은 증가하기 시작하였고, 5월부터 9월까지는 50% 이상 관찰되었다 (50.0-86.4%). 산란 직전의 바지락은 2007년과 마찬가지로 5월 처음 관찰되기 시작하여 9월까지 나타났다. 산란은 7월부터 2009년 1월까지 지속되었으며, 산란 빈도수로 미루어 보아 8월에 주 산란이 일어난 뒤 9월 재 성숙한 개체들이 10월 2차 산란이 일어난 것으로 보인다. 휴지기는 11월에 시작하여 2009년 3월까지 지속되었고, 배우자형성은 지난해와 마찬가지로 12월에 시작되는 것을 확인할 수 있었다. 2009년의 생식소 발달 변화는 지난해와는 또 다른 변화를 보이고 있었다. 완숙한 바지락은 5월에 관찰되어 2007년도와 2008년과 같은 시기였지만, 2009년 관찰된 비율이 더 높은 것을 알 수 있었다. 산란도 2009년에는 6월부터 11월까지 꾸준히 지속되었고, 산란 비율도 다른 해 보다 높게 나타났다. 산란 발생 빈도로 보아

2009년 주 산란은 7월 (85.7%)인 것으로 보인다. 휴지기는 10월부터 나타나기 시작했고, 초기 발달기의 암컷 생식소는 이전 해와 동일하게 12월 관찰되었다. 2010년 생식소 발달 변화는 4월까지 초기 발달 상태의 개체들이 주로 관찰되었고, 5월 대부분의 개체들이 후기 발달기 상태로 확인되었다. 산란 직전의 바지락이 6월 95.0%로 급격히 증가하였고, 7월 일부 개체가 산란 (20%)한 것이 관찰 되었다. 완숙한 바지락은 12월까지 계속 나타났으며, 9월부터 11월 사이 재 산란이 관찰되었다.

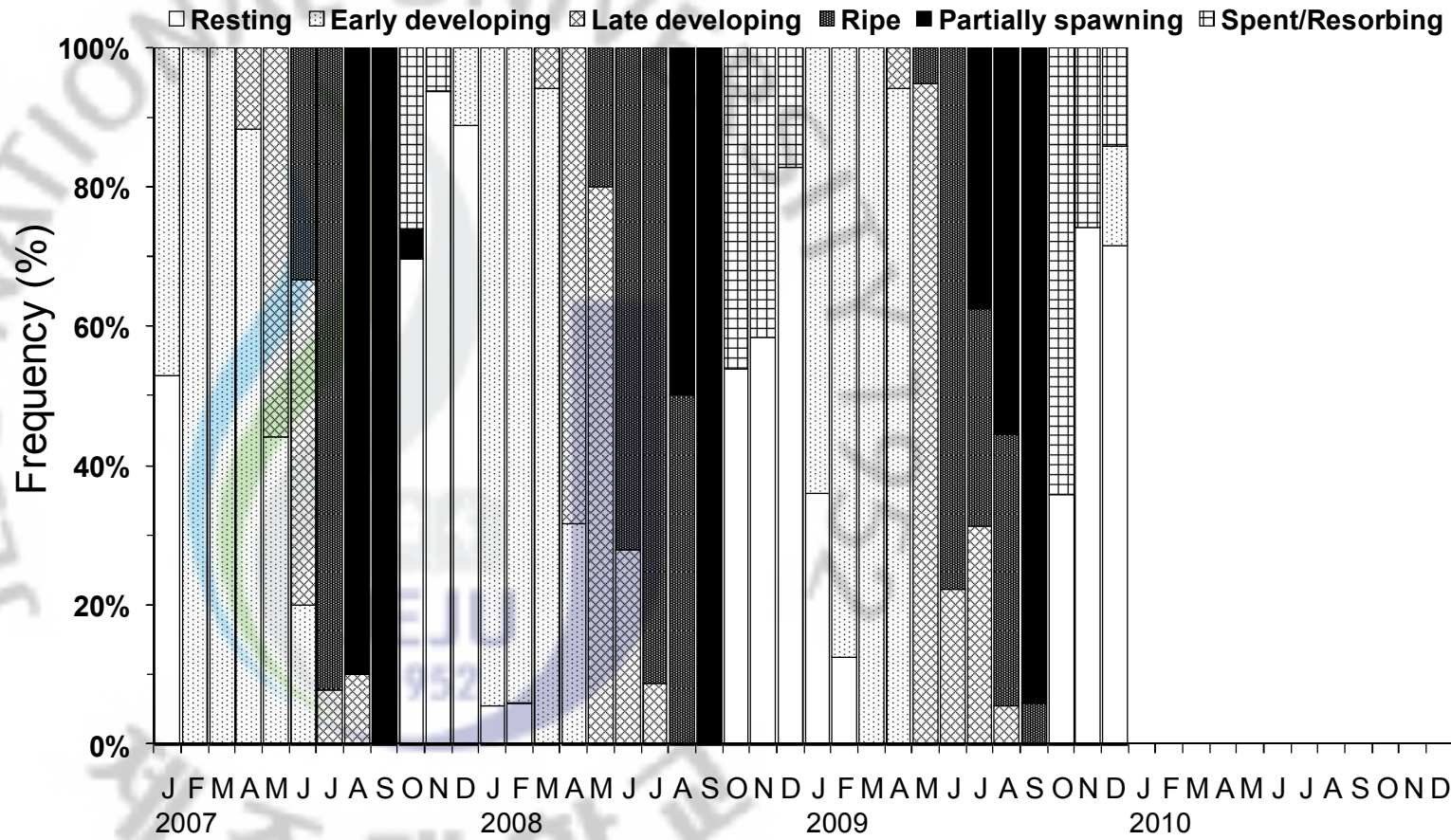


Fig. 2-8-1. Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Sunjae.

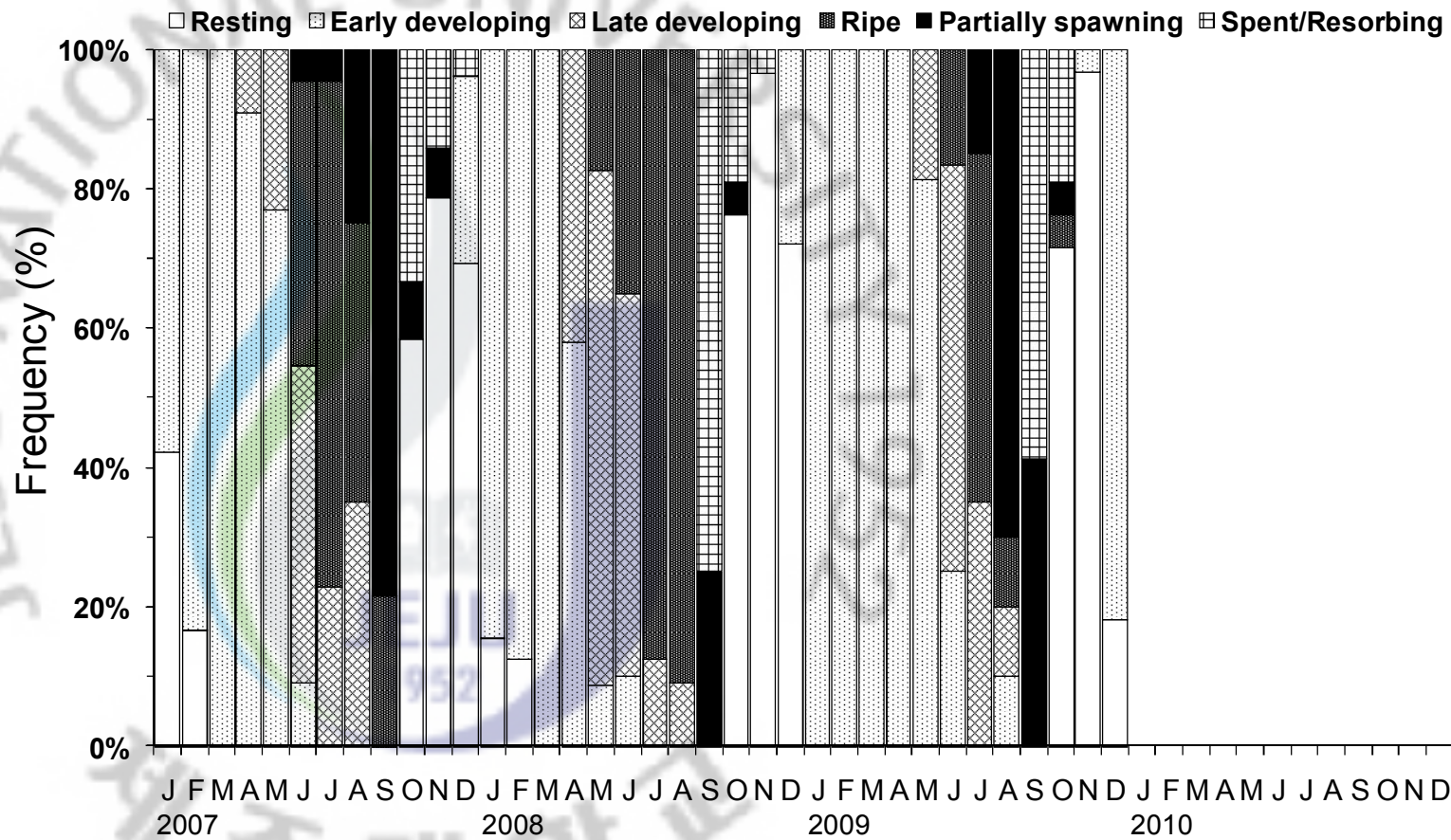


Fig. 2-8-2. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Sungam.

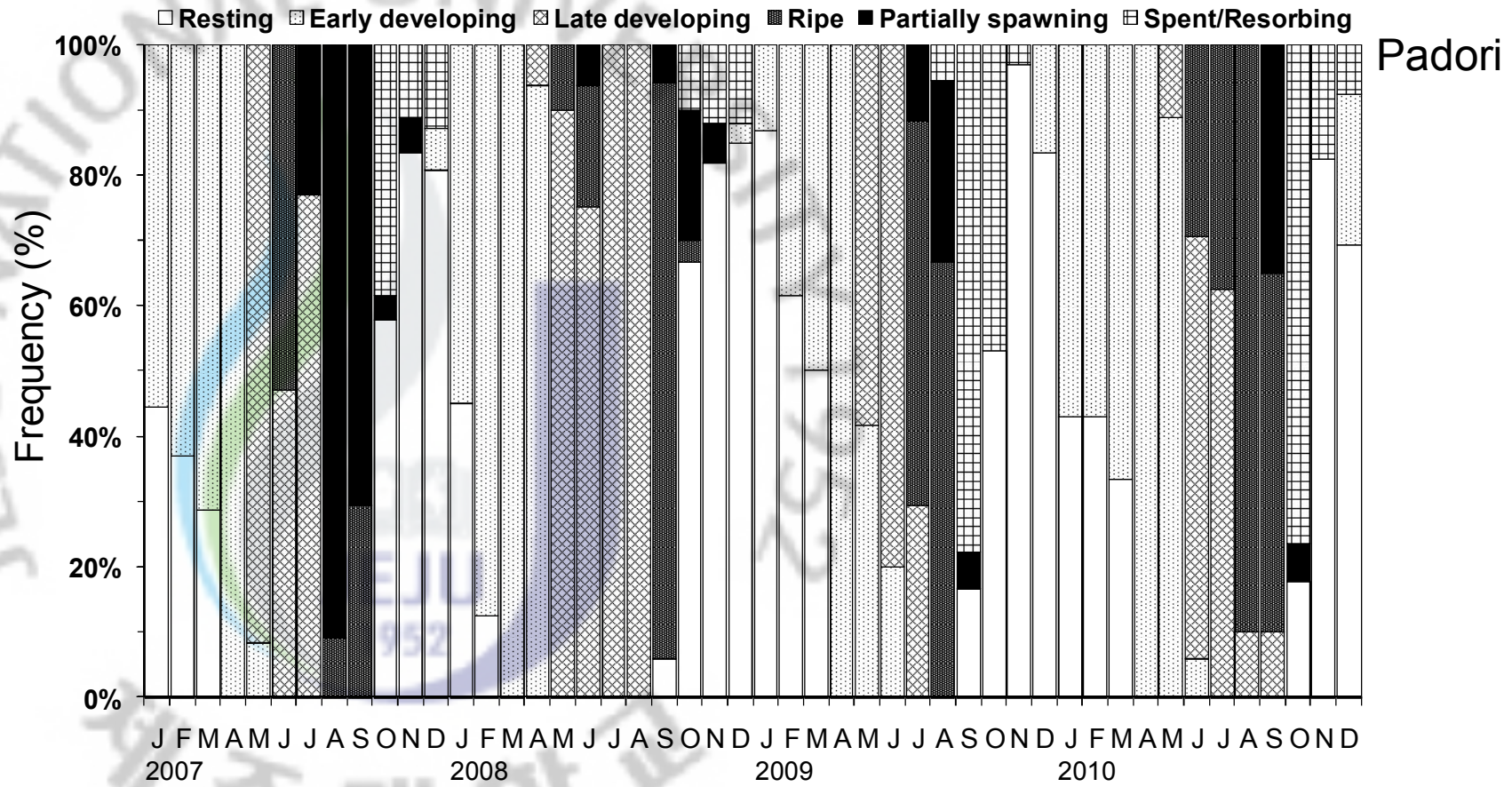


Fig. 2-8-3. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Padori.

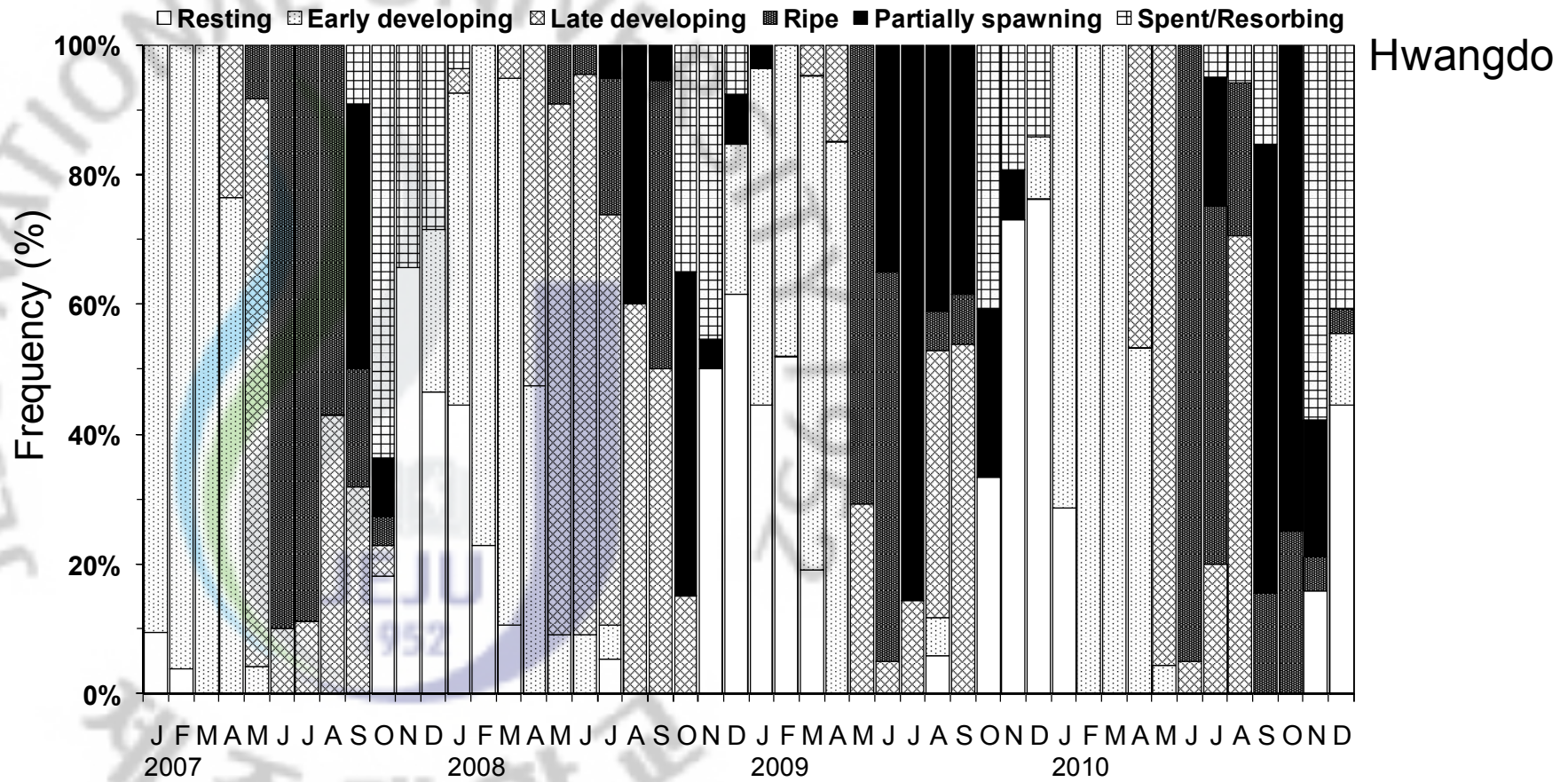


Fig. 2-8-4. (Continued) Frequency distribution of gametogenic stages of the female Manila clam collected from Hwangdo.

3.4. Gonadosomatic index (GSI)

바지락의 성숙한 알을 이용해 항체를 개발하고, ELISA를 이용해 각 지역별 번식량 (reproductive effort)을 측정하였다 (Fig. 2-9). 초기 발달기 상태의 바지락은 ELISA에 대한 반응이 일어나지 않았고, 후기 발달기 상태의 바지락부터 ELISA에 대한 반응이 나타나 번식량 측정이 가능하였다.

선재 지역의 번식량 측정 범위는 0.19 (± 0.17)-16.90 (± 6.56)으로 나타났으며, 2008년에 측정된 번식량이 2007년과 2009년에 비해 높은 것으로 확인되었다. 각 년도에 따른 번식량 범위는 2007년은 0.52 (± 0.45)-8.31 (± 3.19)으로 조사되었고, 2008년과 2009년은 각각 0.65 (± 0.49)-16.90 (± 6.56)과 0.19 (± 0.17)-7.11 (± 2.43)으로 나타났다. 이와 같은 결과는 선재 지역 바지락이 7월과 8월 산란 직전의 상태임을 말하며, 최대 GSI를 보인 이후 감소하는 것은 산란이 일어났음을 나타낸다.

선감 지역의 번식량 측정 결과는 0.29-16.74 (± 5.60)의 범위였으며, 선재 지역과 마찬가지로 2008년 번식량이 2007년과 2009년보다 높은 것으로 나타났다. 이 지역의 월 평균 번식량 변화를 살펴 보면, 2007년은 0.29-12.88 (± 9.18)의 범위였고, 2008년과 2009년은 각각 0.73 (± 0.47)-16.74 (± 5.60)과 1.00 (± 0.44)-11.65 (± 5.51)로 조사되었다. 이 지역은 선재 지역과 마찬가지로 7월과 8월 가장 높은 번식량이 관찰되어, 두 지역의 번식 패턴은 유사한 것으로 생각된다.

파도리 지역 바지락의 번식량 측정 범위는 0.85-13.93 (± 4.60)으로 조사되었다. 각 지역별 월 평균 최대값은 12.66 (± 4.62)-13.93 (± 4.60)으로 일정하게 관찰되었고, 2007년과 2008년은 6월에 2009년과 2010년은 8월에 각각 가장 높게 조사되었다. 년도 별 번식량 측정 결과는 2007년 0.15-12.65 (± 4.62)였고, 2008년 1.72 (± 1.16)-13.64 (± 6.65)였으며, 2009년 0.85-13.24 (± 6.01) 그리고 2010년 1.27 (± 0.20)-13.93

(± 4.60)의 범위로 나타났다.

황도 지역 바지락의 번식량 범위는 0.33-16.81 (± 4.48)로 조사되었으며, 2010년에 측정된 번식량이 다른 연도에 비해 높게 나타났다. 반면, 2009년 번식량 측정 결과는 다른 해에 비해 비교적 낮게 나온 것을 알 수 있었다. 각 년도 별 번식량 측정 결과를 살펴 보면, 2007년 번식량은 0.33-11.39 (± 4.04)로 나타났고, 2008년 측정값은 0.36-9.80 (± 9.04)로 2007년에 비해 다소 낮아진 것을 알 수 있다. 2009년 ELISA 측정 결과 0.62-7.55 (± 2.21)의 범위였고, 2010년은 0.98 (± 0.19)-16.81 (± 4.48)로 2009년의 번식량 측정값 보다 2배 이상 높은 것으로 조사되었다. 각 년도 별 최대값은 2009년을 제외한 다른 해의 경우 6월과 7월인 반면, 2009년은 9월 가장 높은 값을 나타내는 것으로 보아 2009년 산란이 다른 해에 비해 늦은 것으로 생각된다.

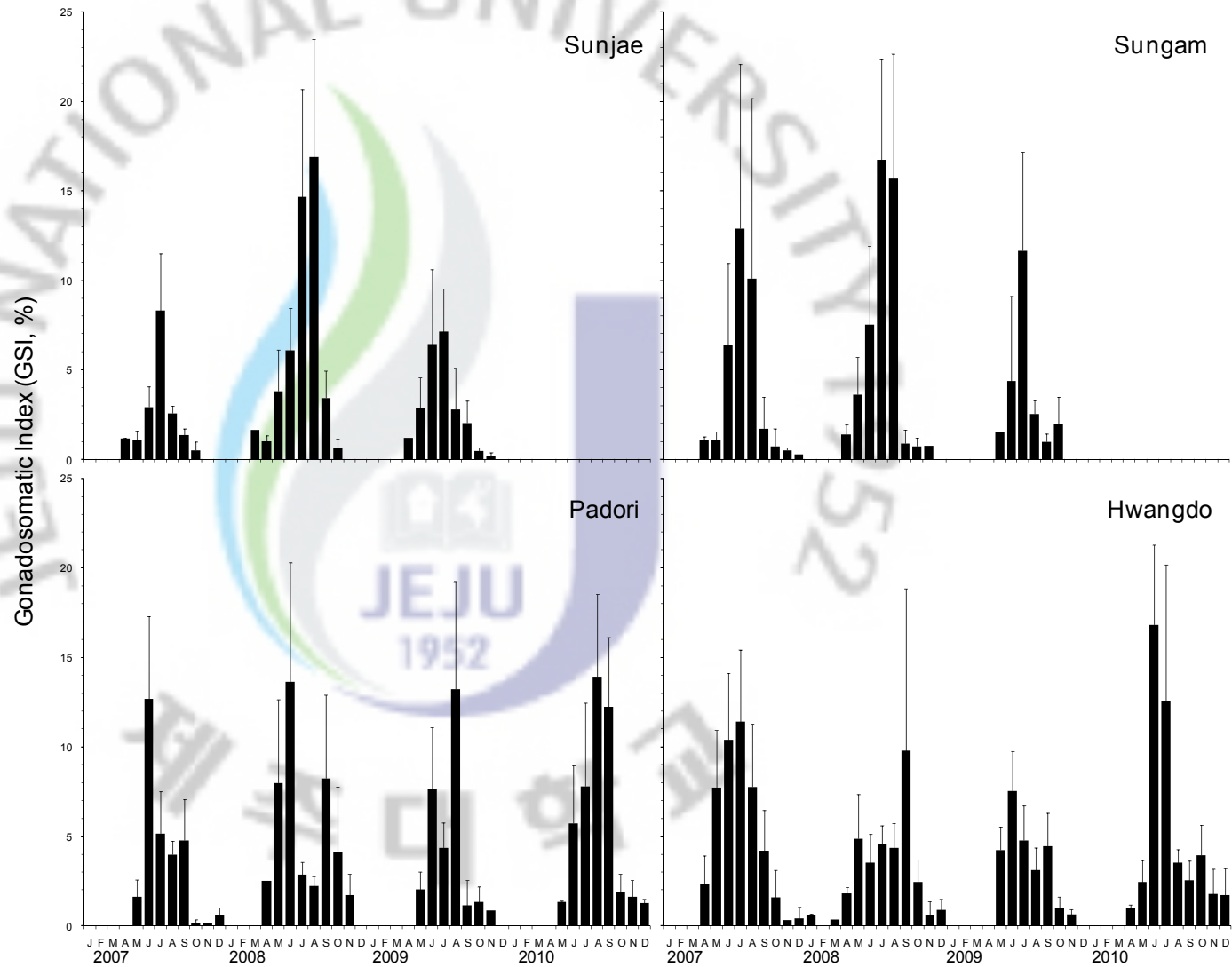


Fig. 2-9. Gonadosomatic index of clam in each sampling sites during sampling period.

3.5. *Perkinsus olseni* infection intensity

RFTM/2M NaOH 방법과 조직학적 관찰을 통한 *P. olseni* 감염율을 각각 Table 2-3과 Table 2-4에 나타냈다. RFTM/2M NaOH 방법을 이용한 각 지역별 감염율 조사 결과, 선재 지역의 경우 2007년 7월과 12월 각각 77%와 57%로 가장 낮았으며 다른 시기는 100%에 가까운 감염율을 보였다. 선감 지역의 *P. olseni* 감염율 역시 2007년 6월 (80%)을 제외한 다른 시기 감염율은 90-100%의 범위로 나타났다. 파도리 지역 바지락의 *P. olseni* 감염율은 17-100%로 감염율 변화가 매월 다르게 나타났고 또한 다른 지역에 비해 낮은 수준인 것을 알 수 있었다. 반면, 황도 바지락의 *P. olseni*는 이번 연구기간 동안 2009년 9월을 제외한 모든 달에서 모든 개체가 감염되어 있는 것을 확인 할 수 있었다.

조직학적 관찰을 통한 *P. olseni* 감염율은 RFTM/2M NaOH 방법을 이용한 결과 보다 다소 낮게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 전 지역 평균 감염율은 3-97%로 파도리 바지락이 가장 낮은 3%의 감염율을 보였고, 황도 바지락이 97%의 높은 감염율을 나타냈으며, 선재와 선감 바지락 역시 각각 92%와 94%로 높게 나타났다. 지역별 *P. olseni* 감염율은 선재 바지락은 48-100%였고, 선감 바지락은 73-100%로 조사되었다. 파도리 바지락의 *P. olseni* 감염율은 2009년 9월 35%로 가장 높게 나타났고, 대부분 15% 미만인 것으로 이번 실험을 통해 알 수 있었다. 황도 바지락은 RFTM/2M NaOH 방법과 마찬가지로 대부분 100%에 가까운 감염율을 나타내고 있었다.

RFTM/2M NaOH 방법을 이용한 바지락 조직의 *P. olseni* 감염도를 Fig. 2-10에 나타냈다. 연구기간에 따른 전체 평균 *P. olseni* 감염도는 황도 바지락이 2,063,087 ($\pm 917,113$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 가장 높게 나타났고, 선재와 선감 바

지락의 감염도가 각각 351,262(±207,028) *Perkinsus* cell/g TWWT와 317,026 (±186,543) *Perkinsus* cell/g TWWT로 조사되었다. 파도리 바지락의 *P. olsenii* 감염도는 9,388 (±4,869) *Perkinsus* cell / g TWWT로 다른 지역에 비해 가장 낮은 감염도를 나타냈다.

지역별 *P. olsenii* 감염도 관찰 결과, 선재 지역의 월별 *P. olsenii* 감염도 범위는 54,631 (±99,761)-1,051,162 (±785,448) *Perkinsus* cell/ g TWWT였다. 각 월별 *P. olsenii* 감염도 변화는 여름철인 6월과 7월에 낮아졌다가 이후 증가하는 것이 관찰되었고, 봄철인 3월과 4월 이후 다시 감소하는 반복적인 패턴을 보이고 있었다. 선감 지역 바지락의 월 평균 *P. olsenii* 감염도는 98,114 (±130,158)-905,797 (±541,175) *Perkinsus* cell/g TWWT의 범위로 나타났다. 년도 별 평균 *P. olsenii* 감염도가 높았던 달은 2007년의 경우 11월 (532,249±836,186 *Perkinsus* cell/g TWWT)이 가장 높게 나타났고, 2008년과 2009년은 각각 10월 (484,317±498,821 *Perkinsus* cell/g TWWT)과 12월 (905,797±541,175 *Perkinsus* cell/g TWWT)로 관찰되었다. *P. olsenii* 감염도가 가장 낮은 달은 선재 지역과 마찬가지로 매년 6월 또는 7월인 것으로 나타났다. 이번 조사 지역 중 *P. olsenii* 감염도가 가장 낮은 파도리 지역의 감염도 범위는 1,799 (±3,869)-23,008 (±69,465) *Perkinsus* cell/g TWWT로 나타났다. 연구기간 동안의 전체 평균 *P. olsenii* 감염도는 9,388 (±4,869) *Perkinsus* cell/g TWWT로 파도리 다음으로 낮았던 선감 지역의 *P. olsenii* 감염도 보다 30배 이상 낮은 결과였다. 황도 지역의 *P. olsenii* 감염도는 연구기간 전체 평균 2,063,087 (±917,113) *Perkinsus* cell/g TWWT로 선재와 선감 지역의 *P. olsenii* 감염도 보다는 6배, 감염도가 가장 낮은 지역인 파도리의 보다는 200배 이상 높은 결과였다. 이 지역의 *P. olsenii* 월 평균 감염도는

628,872 ($\pm 502,979$)-4,594,510 ($\pm 2,116,849$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 최대값과 최소값의 차이가 6배 이상 나고 있었다. 년도에 따른 월 평균 *P. olsenii* 감염율은 2007년 4월 2,617,334 ($\pm 1,700,937$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 최대값을 보인 직후 곧바로 감소하였고, 10월까지 증가와 감소를 반복하였다. 2007년 10월 이후 *P. olsenii* 감염도는 감소하기 시작하였고, 2008년 5월까지 낮아지며 이 해 최소값을 나타냈다 (1,142,242 \pm 841,632 *Perkinsus* cell/g TWWT). 최소값을 나타낸 이후 *P. olsenii* 감염도는 급격히 증가하였고 2009년 1월 조사기간 중 가장 높은 감염도를 나타냈다 (4,594,510 \pm 2,116,849 *Perkinsus* cell/g TWWT). 2009년 월 평균 *P. olsenii* 감염도 범위는 1,927,633 ($\pm 1,087,617$)-4,594,510 ($\pm 2,116,849$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 같은 지역의 다른 연도와 비교해 보아도 높은 결과였다. 1월 이후 *P. olsenii* 감염도는 6월까지 감소하기 시작하였고, 이후 증가와 감소를 반복하였다. 2010년 *P. olsenii* 감염도는 1월 가장 높은 3,052,642 ($\pm 1,870,063$) *Perkinsus* cell/g TWWT 보인 후 다시 감소하는 경향을 보였다. 이 지역의 *P. olsenii* 감염도는 연도별 다른 변화 양상을 나타내고 있었다.

계절별 *P. olsenii* 감염도 변화를 관찰하기 위해 봄 (Sp, March-May), 여름 (Su, June-August), 가을 (Au, September-November) 그리고 겨울 (Wi, December-February)로 나눠 비교하였다 (Fig. 2-11). 선재 바지락의 계절별 변화는 연구시작 초기인 2007년 겨울 *P. olsenii* 감염도가 다른 계절에 비해 높았으며, 여름 *P. olsenii* 감염도가 가장 낮았다. 2008년 결과에서는 가을 *P. olsenii* 감염도가 다른 계절에 비해 높았으며, 2009년에는 겨울과 가을 *P. olsenii* 감염도가 봄과 여름에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 이번 연구기간 동안 선재 지역은, 가을과 겨울철 *P. olsenii* 감

염도가 봄과 여름에 비해 높은 것을 확인할 수 있었다. 선감 지역의 계절별 *P. olsenii* 감염도를 2007년부터 2009년까지 나눠서 관찰한 결과, 가을 *P. olsenii* 감염도가 다른 계절에 비해 유의적으로 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다. 파도리 지역의 계절별 *P. olsenii* 감염도는 유의차를 찾아 보기 어려웠다. 황도 바지락의 계절별 *P. olsenii* 감염도를 살펴 보면, 2007년 가을이 여름보다 유의적으로 높게 나타났다. 2008년 *P. olsenii* 감염도는 봄이 가장 낮게 나타났으며 가을 *P. olsenii* 감염도가 여름과 겨울에 비해 유의적으로 높게 관찰되었다. 2009년과 2010년 결과에서는 2007년과 2008년과는 반대 양상인 겨울과 봄의 *P. olsenii* 감염도가 여름과 가을에 비해 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다.

Ngo and Choi (2004)의 구분 방법에 따른 조직에서 관찰된 *P. olsenii* 감염 결과를 Fig. 2-12에 나타냈다. 감염 정도는 0-4 단계로 나누어 관찰하였고, 0 단계는 *P. olsenii* 감염이 발견되지 않은 상태이고, 4 단계는 *P. olsenii* 감염이 gonad 및 foot muscle에서도 발견되는 심각한 상태이다. 조직에서의 관찰된 연구기간 동안의 전체 *P. olsenii* 감염도는 황도 지역에서 $3.6 (\pm 0.3)$ 으로 RFTM/2M NaOH 결과와 마찬가지로 가장 높게 나타났다. 선재와 선감 바지락의 *P. olsenii* 감염도는 각각 $2.0 (\pm 0.5)$ 와 $2.2 (\pm 0.4)$ 였으며, 파도리 바지락의 *P. olsenii* 감염도는 $0.1 (\pm 0.1)$ 로 가장 낮게 조사되었다. 선재 지역의 월별 *P. olsenii* 감염도는 $1.1 (\pm 0.6)$ - $3.2 (\pm 0.5)$ 범위였다. 조사 초기인 2007년 1월 *P. olsenii* 감염도는 $3.2 (\pm 0.5)$ 로 최고값을 보인 후, 감소하기 시작하여 2007년 8월 $1.7 (\pm 1.0)$ 로 낮아졌다. *P. olsenii* 감염도는 9월과 10월 일시적으로 증가하였다가 11월과 12월 다시 감소하였다. 2008년 *P. olsenii* 감염도는 지속적으로 증가하는 것을 관찰할 수 있었고, 2009년 1월 이후 다시 감소하였다. 감소하

던 *P. olsenii* 감염도는 2009년 6월 이후 다시 증가하는 경향을 보였다. 선감 지역의 월별 *P. olsenii* 감염도 범위는 1.2 (± 1.0)-3.0 (± 0.6)으로 나타났다. 2007년 감염도는 1.7 (± 1.1)-2.4 (± 0.7) 범위였으며, 가장 낮게 관찰되었던 11월을 제외한 다른 달은 비교적 비슷한 수준의 감염도를 보이고 있었다. 2008년 감염도는 4월 1.2 (± 1.0)으로 낮아진 이후 다시 증가하기 시작해 9월 2.6 (± 1.0)까지 관찰되었다. 2009년 감염도는 2.3 (± 0.9)-3.0 (± 0.6)의 범위였으며, 봄과 여름 낮아진 감염도는 가을과 겨울 다시 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 파도리 지역의 조직 내 *P. olsenii* 감염도는 0-0.4 (± 0.7) 범위로 다른 지역에 비해 가장 낮은 감염도를 보이고 있었으며, 년 중 변화 역시 관찰할 수 없었다. 황도 바지락의 조직 내 월 평균 *P. olsenii* 감염도는 2.5 (± 1.5)-4.0의 범위였다. 년 평균 감염도는 3.38 (± 0.22)-3.87 (± 0.09)로 2009년 감염도가 다른 해 보다 높게 나타났으며, 이는 RFTM/2M NaOH 실험에서 관찰된 유사한 결과였다.

Table 2-3. Infection prevalence of *Perkinsus olseni* from RFTM/2M NaOH method of each sampling sites.

Period	Sunjae	Sungam	Padori	Hwangdo
200701	97	97	47	100
200702	100	100	33	100
200703	100	100	33	100
200704	97	100	27	100
200705	97	97	33	100
200706	93	80	60	100
200707	77	100	17	100
200708	97	100	33	100
200709	100	100	53	100
200710	100	97	57	100
200711	97	100	83	100
200712	57	90	60	100
200801	100	100	73	100
200802	100	100	83	100
200803	100	100	57	100
200804	97	97	77	100
200805	100	100	93	100
200806	100	100	43	100
200807	97	100	67	100
200808	97	100	73	100
200809	100	97	83	100
200810	100	100	57	100
200811	100	100	63	100
200812	93	100	50	100
200901	100	100	47	100
200902	100	100	47	100
200903	90	100	67	100
200904	93	100	97	100
200905	97	100	100	100
200906	97	97	70	100
200907	97	100	70	100
200908	97	97	60	100
200909	100	100	70	90
200910	100	100	57	100
200911	100	100	53	100
200912	100	100	57	100
201001			80	100
201002			57	100
201003			87	100
201004			57	100
201005			53	100
201006			47	100
201007			60	100
201008			33	100
201009			83	100
201010			73	100
201011			90	100
201012			93	100

Table 2-4. Infection prevalence of *Perkinsus olseni* from histological observation of each sampling sites.

Period	Sunjae	Sungam	Padori	Hwangdo
200701	100	88	13	88
200702	100	100	5	100
200703	100	100	0	100
200704	95	95	0	95
200705	95	100	0	100
200706	88	98	3	93
200707	93	90	0	98
200708	95	95	0	88
200709	98	95	0	100
200710	100	95	0	95
200711	98	85	3	98
200712	48	85	0	100
200801	95	90	5	100
200802	88	95	10	100
200803	88	90	5	98
200804	85	80	0	100
200805	85	85	0	100
200806	95	93	0	95
200807	98	93	0	100
200808	93	98	0	100
200809	95	95	0	100
200810	98	93	0	100
200811	100	95	0	100
200812	85	95	3	100
200901	98	93	3	100
200902	100	98	5	100
200903	88	100	0	100
200904	95	100	5	100
200905	95	93	0	100
200906	90	93	5	100
200907	93	95	3	100
200908	95	100	0	100
200909	75	73	35	73
200910	93	100	3	100
200911	95	100	0	100
200912	100	100	0	100
201001			8	98
201002			0	100
201003			5	100
201004			5	95
201005			5	100
201006			5	85
201007			3	98
201008			5	93
201009			10	93
201010			3	98
201011			13	95
201012			3	100

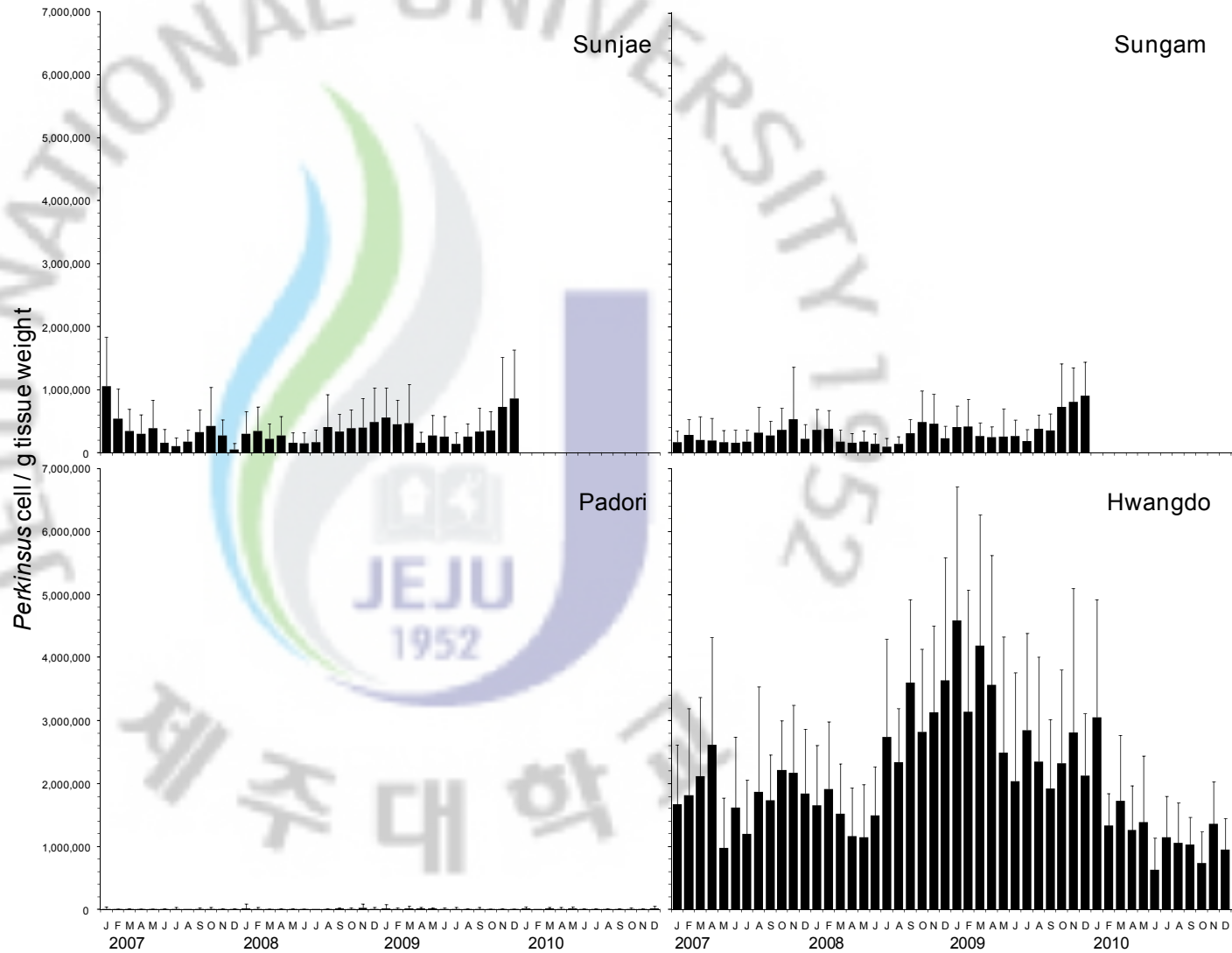


Fig. 2-10. *Perkinsus* infection intensity of clam in each sampling sites during sampling period.

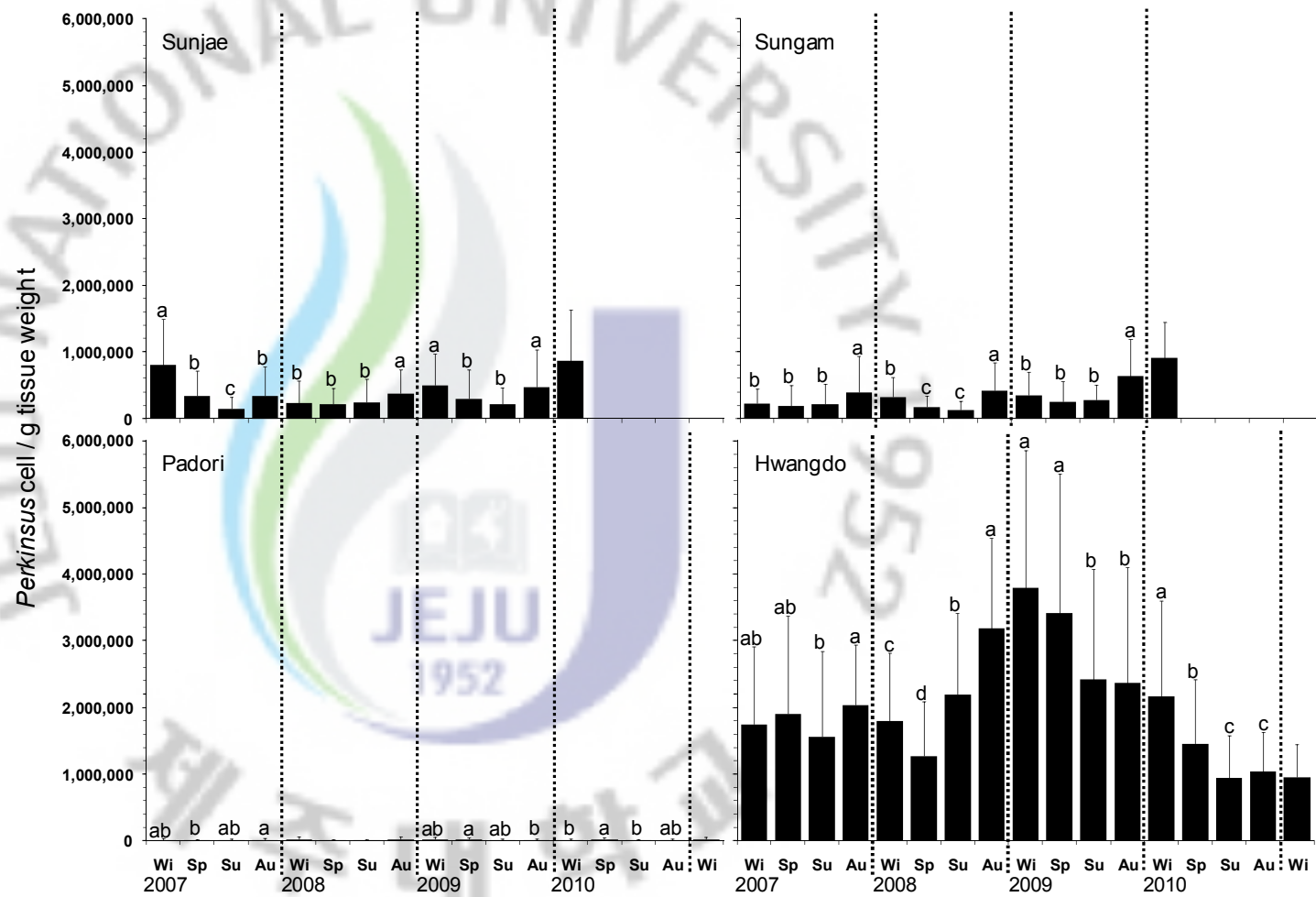


Fig. 2-11. Seasonal variation of the *Perkinsus* infection intensity of clam in each sampling sites during sampling period.

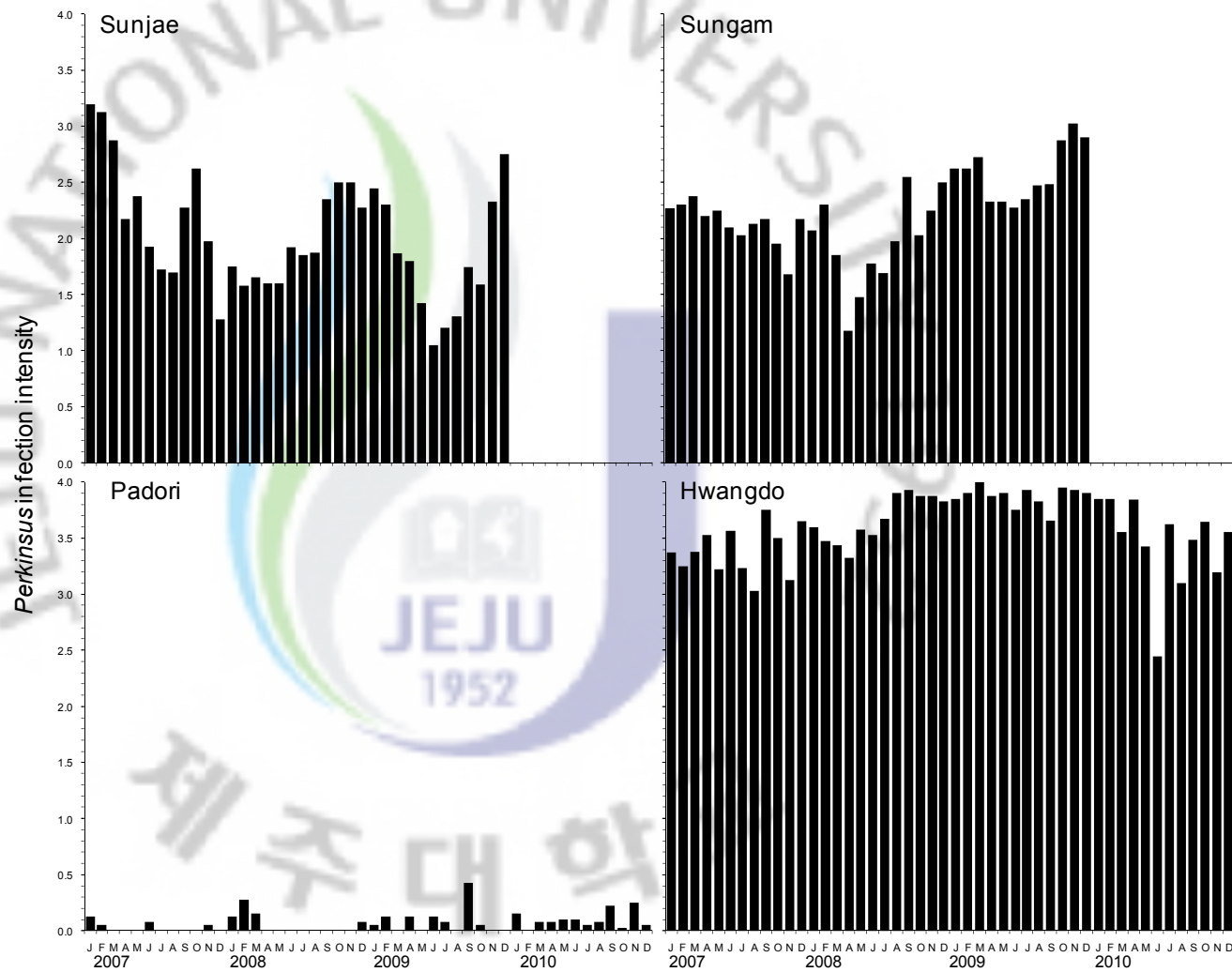


Fig. 2-12. *Perkinsus* infection intensity from histological observation of clam in each sampling sites during sampling period.

3.6. Biochemical composition in clam tissue

3.6.1. Total protein

Bovine serum albumin (BSA) kit를 이용하여 각 지역별 총 단백질 함량을 측정하였다 (Fig. 2-13). 선재 바지락의 총 단백질 월 평균 함량은 241.9 (± 28.6)-411.9 (± 20.7) mg/g tissue dry weight (TDW)의 범위였다. 2007년 단백질 함량 변화는 1월 347.7 (± 44.7) mg/g TDW였으며, 8월 299.7 (± 28.7) mg/g TDW로 지속적으로 감소하였다. 이후 급격히 증가한 단백질 함량은 11월 406.8 (± 32.5) mg/g TDW로 관찰된 후 다시 감소하였다. 2008년 단백질 함량 변화는 1월과 2월 각각 305.6 (± 32.2)와 315.2 (± 26.9) mg/g TDW로 관찰된 후 3월 241.9 (± 28.6) mg/g TDW로 감소하였다. 이후 단백질 함량은 9월 한차례 감소하였으나, 10월 다시 증가하여 12월 411.9 (± 20.7) mg/g TDW로 최대값을 보였다. 2009년 단백질 함량은 5월까지 감소하는 경향을 보였으나, 6월부터 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 선감 바지락의 총 단백질 함량은 249.2 (± 43.5)-412.3 (± 24.9) mg/g TDW의 범위였으며, 선재 바지락의 월 평균 함량 범위와 유사하였다. 2007년 관찰된 총 단백질 함량은 1년 내내 감소하는 경향을 보였다. 2007년 1월 단백질 함량은 401.4 (± 27.7) mg/g TDW였고, 12월에 측정된 단백질 함량은 266.6 (± 65.9) mg/g TDW였다. 2008년 단백질 함량 변화 양상은 비록 5월과 6월 그리고 9월 낮은 것으로 조사되었지만, 2008년 선감 바지락의 단백질 함량은 2007년과 다르게 증가하는 경향을 보였다. 1월 단백질 함량은 268.2 (± 48.1) mg/g TDW였고, 12월의 단백질 함량은 412.3 (± 24.9) mg/g TDW였다. 2009년 단백질 함량 변화 양상은 3월 (316.7 \pm 41.7 mg/g TDW) 최소값을 나타낸 후, 10월 (398.3 \pm 20.8 mg/g TDW)까지 증가하는 경향을 보인 다음 11월과 12월은 감소

하였다. 파도리 바지락의 총 단백질 월별 변화는 뚜렷한 패턴 없이 불규칙하게 관찰되고 있었다. 파도리 바지락의 월 평균 총 단백질 함량은 167.0 (± 85.1)-415.1 (± 24.7) mg/g TDW의 범위였고, 2007년 1월 이 지역 바지락의 단백질 함량은 167.0 (± 85.1) mg/g TDW로 다른 연구지역을 포함해 가장 낮은 값을 보였다. 황도 바지락의 월 평균 단백질 함량 변화는 연도 별 유사한 패턴을 보이고 있었다. 연도 별 최소 단백질 함량은 231. (± 21.3)-259.0 (± 31.7) mg/g TDW 범위로 비슷한 수준이었으나, 최대 단백질 함량은 344.1 (± 49.3)-403.5 (± 33.0) mg/g TDW로 2007년 측정된 단백질 함량이 다른 해에 비해 다소 낮은 것을 볼 수 있었다. 연도별 최소 단백질 함량은 4월과 5월에 관찰되었고, 이후 증가하기 시작하여 9월과 11월 사이 최대 단백질 함량이 측정되었다.

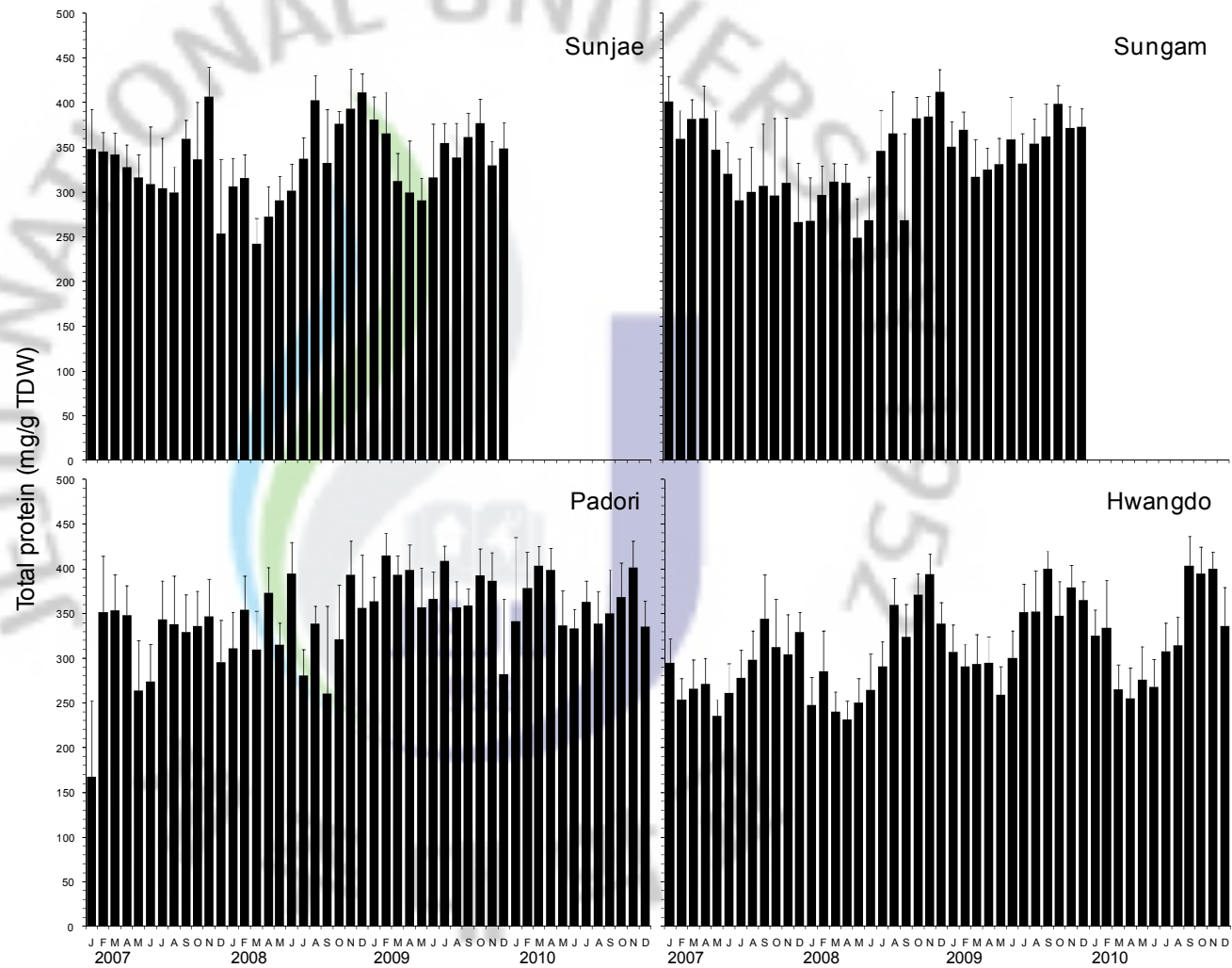


Fig. 2-13. Total protein contents of clam tissue in each sampling sites during sampling period.

3.6.2. Total carbohydrate

각 지역별 총 탄수화물 함량 측정 결과를 Fig. 2-14에 나타냈다. 각 지역별 측정된 탄수화물의 최소값은 $32.0 (\pm 9.3)$ - $43.8 (\pm 12.7)$ mg/g TDW로 큰 차이를 보이지 않았으나, 최대값은 $172.8 (\pm 53.9)$ - $414.4 (\pm 63.4)$ mg/g TDW로 황도 바지락의 탄수화물 함량이 다른 지역에 비해 1.5-3배 높은 것으로 확인되었다. 선재 바지락의 탄수화물 함량 변화를 비교해 보면, 년도 별 변화 패턴이 유사한 것을 알 수 있었다. 이 지역의 탄수화물 함량은 $43.8 (\pm 12.7)$ - $279.2 (\pm 65.2)$ mg/g TDW 범위로, 3월과 5월 사이 최대값을 보인 후 12월까지 지속적으로 감소한 뒤 다시 증가하는 양상을 보였다. 선감 바지락의 탄수화물 함량 변화는 선재 바지락의 변화 양상과 유사한 것으로 확인 되었다. 이 지역의 탄수화물 함량은 선재 지역에 서식하는 바지락의 탄수화물 함량 보다는 낮았으며, $42.5 (\pm 18.9)$ - $193.9 (\pm 38.7)$ mg/g TDW의 범위였다. 월 평균 탄수화물 함량 변화 양상은 2007년과 2008-2009년 각각 6월과 4월 최대값을 보인 이 후 12월까지 감소한 뒤 다시 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 파도리 바지락의 월 평균 탄수화물 함량은 다른 세 지역에 비해 낮게 나타나고 있었으며, $42.7 (\pm 25.2)$ - $172.8 (\pm 53.9)$ mg/g TDW의 범위였다. 이 지역은 다른 지역에 비해 불규칙한 변화 패턴을 보이고 있었다. 2007년과 2008년은 각각 6월 (124.1 ± 27.2 mg/g TDW)과 5월 (172.8 ± 53.9 mg/g TDW) 최대값을 보인 후 감소하는 것으로 나타났다. 2009년 월 평균 탄수화물 변화는 5월 (93.1 ± 28.4 mg/g TDW)과 9월 (96.6 ± 29.4 mg/g TDW) 각각 최대값을 보이고 감소하는 경향을 보인 반면, 2010년 변화 패턴은 6월 (122.9 ± 36.5 mg/g TDW) 한차례 peak를 보인 후 감소 하였다가 다른 년도와는 다르게 12월 (156.6 ± 23.3 mg/g TDW)에 다시 최대값을 보였다. 황도 바지락의 월별 탄수화물 함량 변화는 다른 지역에 비해 높을 뿐만 아니라, 변화

패턴도 년도 별로 일정하게 관찰되었다. 이 지역의 월별 탄수화물 함량은 32.0 (± 9.3)-414.4 (± 63.4) mg/g TDW의 범위였다. 년도 별 최소값의 탄수화물 함량 범위는 32.0 (± 9.3)-80.8 (± 27.1) mg/g TDW였고, 10월과 11월 사이에 관찰되었다. 탄수화물 함량이 높았던 시기는 4월 이었으며, 298.3 (± 54.4)-414.4 (± 63.4) mg/g TDW 범위였다. 이 지역의 월 별 탄수화물 변화 패턴은 4월 최대값을 보인 후 10월과 11월 까지 지속적으로 감소한 뒤, 다시 증가하는 변화 양상을 보였다. 이 지역은 2007년 이후로 월 평균 탄수화물의 최대값과 최소값이 해마다 감소하는 것으로 나타나고 있었다.

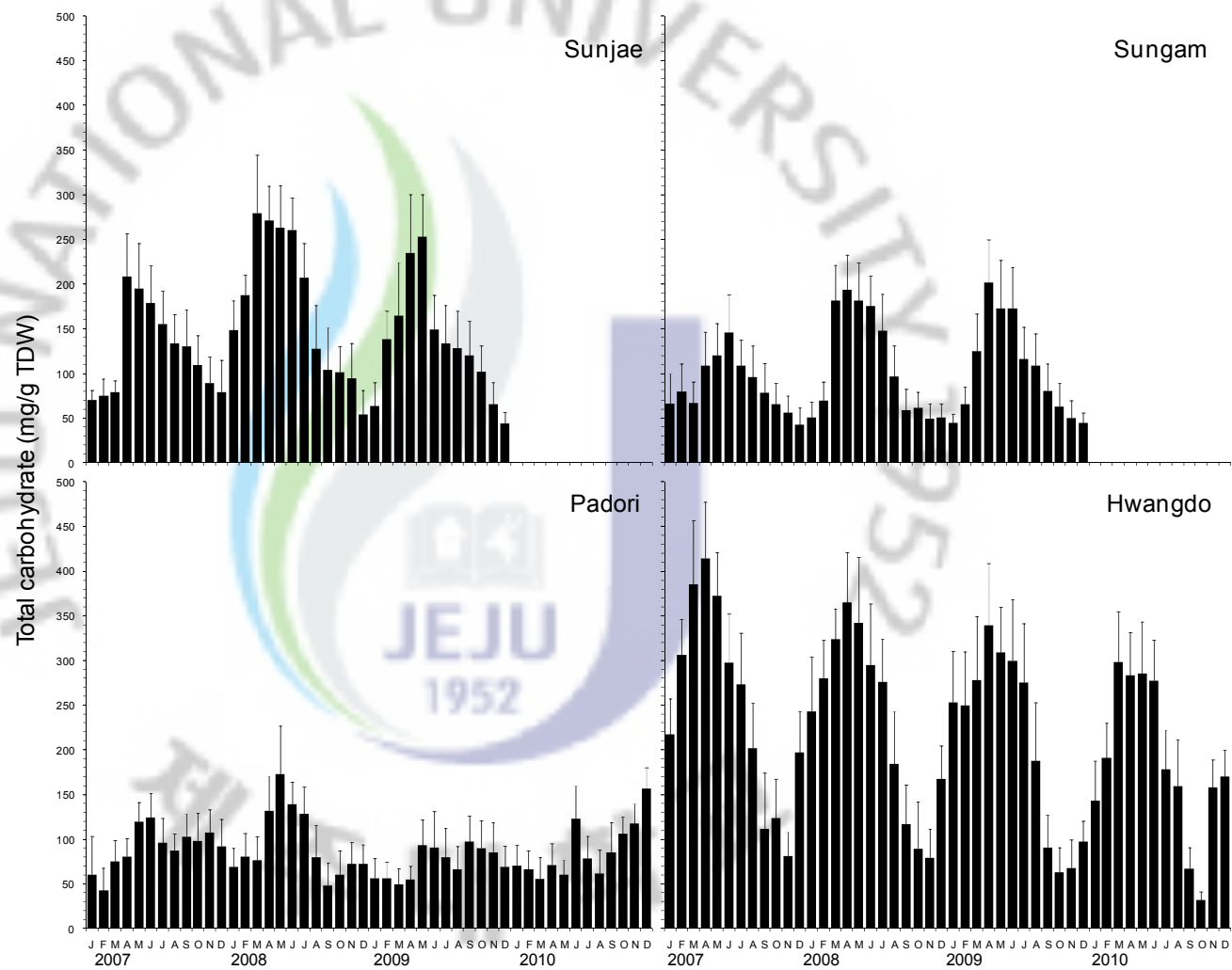


Fig. 2-14. Total carbohydrate contents of clam tissue in each sampling sites during sampling period.

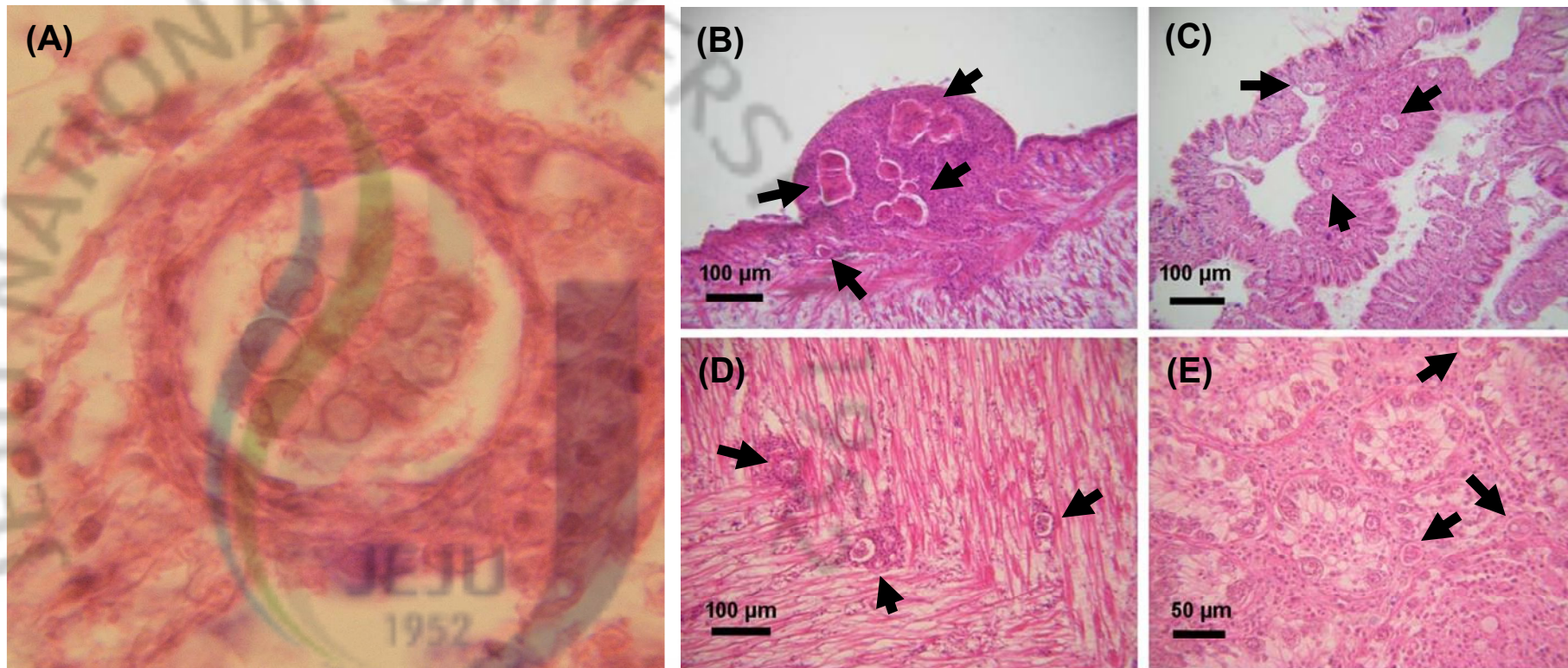


Fig. 2-15. Histological sections of Manila clam infected by *Perkinsus* (A: *Perkinsus* trophozoite characterized by the spherical uninucleated cells with large eccentric vacuole, B: The nodule formation due to high number of *Perkinsus*, C: *Perkinsus* infiltrated in mantle, noted that the thickness of mantle was increase, D: *Perkinsus* in foot muscle tissue and E: *Perkinsus* in female gonad follicle).

4. Discussion

4.1. Condition Index (CI)

CI는 일반적으로 이매패류의 영양 상태와 생리적인 스트레스를 측정하는데 사용된다 (Crosby and Gale 1990). CI의 변화는 먹이 조건, 서식지, 질병 감염 등과 연관이 있으며, 번식주기와도 밀접한 관련이 있다. CI의 연중 변화 양상은 일반적으로 에너지 저장기간과 배우자형성기간 동안에는 증가하고, 주산란시기에는 감소하는 것으로 알려져 있어 번식주기 산정이나 자연 개체군의 계절에 따른 생리상태 변화를 밝히는데 이용되었다 (Gosling 2003; Lawrence & Scott 1982; Widdows 1985). 이번 연구에서는 CI를 조직 습중량과 패각 건조중량의 비로 산정하였다 ($CI = TWWT/SDWT$). Fig. 2-7과 Fig. 2-8은 지역별 CI의 변화를 나타낸 것으로, 연간 비만도 변화만 차이를 보일 뿐 대부분 유사한 형태의 변화 패턴을 보이고 있었다. CI는 초기 발달기 상태를 보이는 3-6월 사이에 급격히 증가하는 것을 알 수 있었으며, 산란이 일어나는 7월 이후에 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 같은 시기에 채집된 백미리 지역의 바지락에서 관찰할 수 있었다. 백미리 바지락의 CI는 0.326-0.615의 연중 변화를 보이고 있었으며, 성적으로 가장 완숙한 상태인 7월까지 CI가 증가한 후 산란과 동시에 감소하는 경향을 보였다 (Jasim 2008). 안면도에 서식하는 바지락도 유사한 결과를 보이고 있었는데, 산란 직전인 5-7월 사이 최대값의 CI를 보인 후 산란이 일어나는 7-9월 사이 급격히 감소하였다 (Yang, unpublished). 이번 연구도 선행 연구들과 유사한 패턴의 변화 양상을 보이고 있었으며, 지역별 CI는 차이가 있었다. 지역별 CI는 황도 지역 바지락이 0.370-0.892의 범위로 다른 세 지역에 비해 연중 높게 나타난 반면, 파도리 지역

바지락의 CI는 0.363-0.612의 범위로 비교적 낮게 관찰되었다. CI의 증가는 해수중의 먹이 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있고, 대부분의 이매패류가 먹이 활동을 통해 체내 에너지로 저장하는 것으로 나타났다 (see Gosling 2003). 황도 지역의 CI가 다른 지역에 비해 높게 나타나는 이유는 이 지역 서식지의 먹이 조건이 다를 수 있다. 바지락과 같은 이매패류의 CI는 생식소 발달이 완숙기로 진행하면서 증가하고 산란 직전의 상태일 때 최고로 높아진다. 이와 같은 CI의 최대값은 육질 및 생식소 성장이 최대로 이루어졌음을 의미하는 것이다. 이번 연구지역의 CI 변화 양상은 조직학적 관찰결과와 비교해 볼 때 생식소 발달 변화와 매우 일치하는 경향을 보이고 있으며, 휴지기 상태인 10월부터 12월 사이에 가장 낮게 관찰되었고, 이후 생식소 발달과 함께 증가하는 것으로 관찰되었다.

4.2. Reproductive cycle & Reproductive effort

이번 연구에서는 조직학적 방법과 효소면역측정법 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)을 이용하여 지역과 시간에 따른 번식주기 및 번식량을 측정하였다. 조직학적 방법을 이용한 번식량 측정 방법은 각 개체당 oocyte를 계수하는 방법 (Brousseau 1978; Hadfield and Anderson 1988; Robinson and Breese 1982), 생식소 안의 oocyte가 차지하는 비율 (Eversole et al. 1980; Park and Choi 2004) 또는 oocyte의 크기나 분포 등의 방법 (Grant and Tyler 1983; Heffernan et al. 1989; Kanti et al. 1993; Keck et al. 1975)으로 정량화 하는 방법이 있으나, 이들 방법으로는 정확한 정량이 어려운 실정이다. 또한, 산란 전후의 무게차를 이용한 번식량 측정 (Kautsky 1982; Pouvreau et al. 2000a) 또는 인위적인 자극을 통해 산란을 유발하고 산란량을 계수 (Bayne et al. 1983; Chung et al. 2001; Toba and Miyama 1994)하는 방법 등이 있으나 이와 같은 방법은 산란이 한번에 끝나지 않고 지속되는 이매패류의 특성상 정확한 정량이 어렵다는 단점이 있다 (Park and Choi 2004). Choi et al. (1993)은 American oyster, *Crassostrea virginica*의 성숙한 알의 항체를 개발해 면역학적 방법을 이용해 번식량을 성공적으로 측정하였다. 이 후 Pacific oyster (*C. gigas*), butter clam (*Saxidomus purpuratus*) 그리고 Manila clam (*R. philippinarum*) 등의 알을 이용해 항체가 개발되어 여러 이매패류의 번식량을 측정하였다 (Kang et al. 2003b; Park et al. 2003; Park et al. 2004). 이번 연구에서 관찰된 조직학적 결과와 ELISA를 이용한 reproductive effort (RE)는 모든 지역에서 거의 일치하는 것으로 나타났다.

선재 바지락의 연도별 생식소 발달 변화를 살펴 보면, 산란 직전의 완숙기는 2007년 6-7월 2008년과 2009년은 각각 5-8월과 5-9월로 나타났지만 2008년의

완숙한 바지락의 비율이 2009년 보다 높게 관찰되었다. RE의 변화 역시 성적으로 완숙한 바지락이 보이는 시기에 높게 나타났는데, 2007년은 7월 가장 높게 나타났고, 2008년과 2009년은 각각 8월과 7월로 조사되었다. 산란은 GSI가 가장 높은 시기 후에 나타났고, 조직 관찰 결과와 일치하고 있었다. 선재 지역의 연중 산란은 년 1회씩 관찰되었고, 산란 peak는 2007년과 2009년의 경우 7월과 8월 사이였고, 2008년은 이보다 한 달 가량 늦은 8월과 9월 사이에 집중된 것을 알 수 있었다.

선감 바지락의 생식소 발달 변화는 선재 바지락의 패턴과 유사하였다. 성적으로 완숙한 바지락이 관찰된 시기는 2007년은 6-9월이었고, 2008년과 2009년은 각각 5-8월과 6-10월 이었는데 2008년도의 완숙한 바지락의 비율이 2007년과 2009년에 비해 높게 나타났다. RE 또한, 완숙기와 일치하였는데 2007년은 7-8월, 2008년과 2009년은 각각 7-8월과 7월로 조사되었다. 완숙기 상태의 비율이 오래 지속되었던 2008년의 경우, 다른 해에 비해 RE가 높았으며 이와 같은 현상은 선재 바지락에서도 관찰되었다. 이는 2008년도 이 지역의 먹이 환경이 다른 해에 비해 풍부했을 것으로 사료된다. 이 지역의 산란 peak는 2007년 8-9월 이었고, 2008년과 2009년은 각각 8-9월과 7-8월로 선재 지역의 산란 패턴과 유사한 것을 확인할 수 있었다.

파도리 바지락은 번식 패턴은 해마다 다르게 관찰되었다. 2007년 6월 완숙한 바지락이 관찰 되었고, 7월 1차 산란 이후 8-9월은 완숙한 바지락과 산란의 흔적이 동시에 나타났다. 2008년의 생식소 발달은 후기 발달기 상태의 개체가 다른 해에 비해 높은 비율로 관찰되고 있었다. 완숙한 바지락이 5월 관찰된 후 다음달인 6월 산란의 흔적을 보였고, 재생숙 과정을 거쳐 9월 약 85% 정도가 완숙하여

산란 직전의 상태로 관찰되었다. 2009년 조직학적 관찰에서는 7월부터 완숙한 개체들이 관찰 되었고, 2010년은 6-9월까지 완숙한 개체들이 높은 비율로 나타났다. 파도리 지역의 RE 결과를 통한 산란 시기는 2007년부터 2009년에는 2회 산란 형태를 보였으나, 2010년은 년 1회 산란 하는 것으로 나타났다. 산란 peak는 2회 산란시 6-7월과 9-10월 사이인 것으로 나타났으며, 2009년 2차 산란 peak는 이보다 한 달 앞선 8-9월 이었다. 2010년 산란 peak는 9-10월로 다른 해의 2차 산란 peak와 비슷한 시기였다.

황도 바지락의 연도별 생식소 발달 변화는 매우 복잡한 양상을 보였다. 2007년 생식소 발달은 산란 직전의 완숙한 바지락이 6-8월 높은 비율로 관찰된 반면, 2008년부터 2009년에는 완숙한 바지락의 비율이 각각 후기 발달기 상태와 산란기 상태의 바지락 보다 낮게 나타났다. 2010년 생식소 발달 변화는 6-7월 산란 직전 상태의 바지락이 높게 관찰 되었으며, 7월 산란 이 후 9-10월 집중적으로 산란하는 것으로 나타났다. 이 지역의 RE를 통한 산란시기는 2007년과 2008년은 1번의 peak를 보이고 있으며, 2009년과 2010년은 2번의 peak를 보이고 있었다. 산란 peak는 2007년과 2008년은 각각 7-9월과 9-10월로 관찰되었고, 2009년 산란은 6-8월과 9-10월 두 차례로 확인되었다. 2010년 산란 peak는 7-8월과 10-11월로 이전 해보다 한 달 가량 늦은 것으로 나타났다. 조직학적 관찰 결과와 RE 결과를 비교해 볼 때, 대부분 지역에서 두 결과가 일치하는 것으로 보아 ELISA는 RE 측정과 번식시기를 규명하는데 효과적인 방법이라 사료된다.

4.3. *Perkinsus* infection intensity

*Perkinsosis*는 상업적으로 중요한 연체동물인 굴, 전복과 바지락 등의 대량 폐사를 일으키는 원인생물로 알려져 있다 (Villalba et al. 2004). *Perkinsus*는 국내에서 1997년 곰소만 채집된 바지락에서 처음으로 관찰 되었고, 이후 Park et al. (2005)에 의해 *Perkinsus olseni*로 명명 되어졌다. 최근에는 한국을 비롯해 중국, 일본에서도 *P. olseni*에 감염된 개체들이 발견되고 있고 (Choi et al. 2002; Hamaguchi et al. 1998; Liang et al. 2002), 일본에서는 *Perkinsus honshuensis* 라는 신종에 감염된 바지락이 보고 되었다 (Dungan et al. 2006; Takahashi et al. 2009).

이번 연구에서 *P. olseni* 감염도는 RFTM/2M NaOH 방법에 의한 결과와 조직에서 관찰된 감염 결과를 나타내었다. 조직에서 관찰된 *P. olseni* 감염율은 지역별 평균 3-97% 였으며, RFTM/2M NaOH 방법을 통해 나타난 감염율은 62-100%였다. 이는 *Perkinsus* 진단 방법 중 RFTM method를 이용한 진단이 조직을 이용한 진단 보다 더 민감하다는 것을 보여주고 있다. RFTM 방법을 이용한 지역별 전체 평균 감염도는 파도리 지역에서 9,388 ($\pm 4,869$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 가장 낮았으며, 황도 바지락의 감염도가 2,063,087 ($\pm 917,113$) *Perkinsus* cell/g TWWT으로 가장 높게 나타났다. 선재와 선감 바지락의 감염도는 각각 351,262 ($\pm 207,028$) *Perkinsus* cell/g TWWT과 317,026 ($\pm 186,543$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 비슷한 수준이었다. Park and Choi (2001)는 제주도를 포함한 전국에 서식하는 바지락을 대상으로 *Perkinsus* 감염도를 조사한 결과, 0-873,000 ($\pm 839,000$) *Perkinsus* cell/g TWWT로 나타났다. Park et al. (2006)은 곰소만에 서식하는 바지락의 연중 *Perkinsus* 감염도를 관찰한 결과, 이 지역의 *Perkinsus* 감염도는 141,434 ($\pm 116,601$)-2,037,448 ($\pm 1,395,847$) *Perkinsus*

cell/g TWWT의 범위였고, 연 평균 감염도는 약 670,000 cell/g TWWT였다. Liang et al. (2002)은 중국 대련 등지에 서식하는 바지락의 *Perkinsus* 감염도를 알아본 결과, 이 지역에 서식하는 바지락의 *Perkinsus* 감염도는 13,178-3,471,655 *Perkinsus* cell/g TWWT로 조사되었다. 일본 규수의 Isahaya Bay에 서식하는 바지락의 *Perkinsus* 감염도는 225,701 *Perkinsus* cell/g TWWT였고, 감염율은 57%였다 (Choi et al. 2002). 이와 같은 결과와 비교해 볼 때, 2007년부터 2010까지 4년 동안 관찰한 황도 바지락의 *Perkinsus* 감염도는 우리나라를 비롯한 중국, 일본 바지락의 감염도 보다 훨씬 심각한 것을 알 수 있었다. 반면, 선재와 선감 바지락의 감염도는 심각한 수준은 아닌 것으로 판단되나, 2007년부터 2009년까지 3년 동안 관찰한 *Perkinsus* 감염율이 각각 평균 96%와 99%로 나타난 것은 이 지역의 감염도의 증가를 야기할 수 있을 것이라 사료된다.

Ngo and Choi (2004)는 바지락 조직내 *Perkinsus* 감염도를 0-4 단계로 나누어 구분하였는데, 0 단계는 바지락 조직 어디에서도 *Perkinsus* 감염이 발견되지 않은 상태를 말하며, 4 단계는 foot muscle을 포함한 조직 전체에서 *Perkinsus* 감염이 관찰되는 상태를 말한다. 이러한 *Perkinsus* 감염 진단 방법에 따른 조직에서 관찰된 *Perkinsus* 감염도는 파도리 바지락이 0.1 (± 0.1)로 나타나 이 지역의 감염도는 매우 낮은 것으로 판단 되었다. 선재와 선감 바지락의 감염도는 각각 2.0 (± 0.5)와 2.2 (± 0.4)로 나타났으며, RFTM 방법에 의한 감염도가 가장 높았던 황도 바지락의 경우 3.6 (± 0.3)으로 조사되었다. Yang et al. (2010) 또한 Ngo and Choi (2004)의 방법을 이용해 해주에 서식하는 바지락의 *Perkinsus* 감염도를 조사한 결과 2007년 2월과 3월 각각 1.2 (± 1.2)와 0.7 (± 1.0)으로 확인한 바 있다. Park et al. (2008) 또한,

Ariake Bay에 서식하는 바지락의 조직 내 *Perkinsus* 감염도를 측정한 결과, 0-2.1 (± 1.1)로 나타나고 있음을 보고 하였다. 조직학적 관찰 결과 역시, 황도 바지락의 *Perkinsus* 감염도는 매우 높은 것으로 사료된다. Choi (unpublished data)는 바지락의 부위 별 *Perkinsus* 감염도를 RFTM/2M NaOH 방법으로 조사한 결과, 먼저 gill과 mantle 등의 조직에서 감염이 일어나며 마지막에 감염되는 부위가 foot muscle이라고 나타내고 있다. 황도 바지락의 경우, *Perkinsus*에 심하게 감염된 바지락에서는 혈구 침윤 현상이 자주 관찰되고 있었고 이로 인해 바지락 번식량 또한 낮은 것으로 사료된다.

4.4. Seasonal changes in carbohydrate and protein

이번 연구 지역인 선재, 선감, 파도리 및 황도 바지락의 체내 탄수화물 함량 변화는 네 지역 모두 유사한 형태의 연중 변화를 보였다. 해양 이매패류의 번식주기와 체내 에너지 저장 과정은 밀접한 관계를 나타내는 것으로 알려져 있으며 (Sastry 1979; Urrutia et al. 1999), 난 단백질과 같은 생식소와 관련된 물질로 변환하기 위해 높은 양의 탄수화물을 체내에 축적하는 것으로 나타났다 (Robert et al. 1993; Berthelin et al. 2000; Ojea et al. 2004; Dridi et al. 2007). 이매패류 체내의 탄수화물 함량은 해수 중 이들의 먹이원인 phytoplankton이 증식할 때, 증가하는 것으로 알려져 있다 (Drummond et al. 2006). Marin et al. (2003)은 Lagoon of Venice에 서식하는 *T. philippinarum*에서 생식소의 배우자형성이 일어나는 시기에 탄수화물 함량이 증가하고, CI가 낮아 지는 시기에 탄수화물 역시 낮아지는 것을 보고하였다. 이번 연구에서도, 총 탄수화물 함량은 생식소 발달이 이루어지는 시기인 산란 전 시기가 산란이 시작되고 관찰되는 시기 보다 높은 것으로 나타났다. 각 지역별로 산란이 일어나기 전 4-6월 이후 탄수화물 함량이 급격히 감소하기 시작하였다. 지역에 따라 감소하는 비율은 다르게 나타났지만 12월까지 감소한 다음 1월부터 다시 증가하기 시작하였다. 이와 같은 현상은 다른 지역에 서식하는 바지락에서도 관찰 되었다. Yang (unpublished data)은 안면도에 서식하는 바지락을 2005년 4월부터 2006년 9월까지 관찰한 결과, 산란 전 탄수화물 함량이 증가하고 산란 이후 감소하는 것을 보고 하였다. Robert et al. (1993)은 Arcachon Bay에 서식하는 바지락의 생식소 발달 과정을 1989년 3월부터 1991년 3월까지 관찰하였는데, 산란기인 1989년 8월부터 감소하기 시작하였고, 1990년 5-6월 산란 직전 최고로 증가한 뒤 다시

감소하였다. Venice Lagoon과 Jinju Bay에 서식하는 바지락에서 관찰된 탄수화물 함량 역시, 산란 직전 가장 높게 관찰되고 산란이 일어나는 시기에 맞춰 감소하는 패턴을 보이고 있었다 (Kang et al. 2007; Marin et al. 2003). 이번 연구 기간 중 관찰된 지역별 탄수화물 함량은 파도리 바지락이 다른 지역에 비해 낮게 나타났으며, 황도 지역이 다른 지역에 비해 높게 조사되었다. 이처럼 지역 및 연도별로 차이가 나는 것은 각 지역의 바지락의 먹이량이 다르기 때문이라 생각된다.

지역별 바지락의 단백질 함량은 탄수화물 결과와 정 반대 결과를 보이고 있었으나, 뚜렷한 연중 변화 양상을 보이고 있지 않았다. 단백질은 이매패류의 성숙한 알의 주 성분으로서, 성숙란 무게의 40-50%를 차지한다고 알려져 있다 (Lee and Heffernan 1991; Choi et al. 1993; Kang et al. 2003; Park et al. 2003; Park & Choi 2004). 반면, 이번 연구결과는 대부분 지역에서 휴지기 상태인 10-12월 사이의 바지락 체내 단백질 함량이 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 이 지역에 서식하는 새조개 체조직을 이용한 단백질 측정에서도 관찰되었다. Yang et al. (2011)은 천수만에 서식하는 새조개의 생화학 조성을 측정하였다. 탄수화물과 단백질 함량은 서로 대칭적으로 변화하는 양상을 보이고 있었고, 새조개의 단백질 함량은 휴지기 상태인 10-12월 사이에도 높게 나타나고 있었다.

Part 3

Broodstock selection for the artificial seed production of Manila clam,

Ruditapes philippinarum

Abstract

바지락, *Ruditapes philippinarum*, 산란기에 맞춰 2009년 6월 동, 서, 남해안 및 제주를 포함한 전국 26곳의 번식량을 측정하였다. 지역적 차이에 따른 번식량을 비교 하기 위해 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)를 이용해 바지락 알을 정량하였다. 생식소지수 (Gonadosomatic Index, GSI)는 측정된 개체의 알 건중량과 조직 건중량의 비로 나타냈고, 지역별 생식소지수 범위는 1.76 (± 3.30)-18.91 (± 7.98)으로 나타났다. ELISA를 통한 포란수 (fecundity)는 358,382-11,373,973 ($\pm 4,181,091$) 범위였다. 생식소지수와 포란수는 충남 드르니와 전남 완도 조하대에서 채집된 바지락에서 높게 관찰되었다. 조직학적 관찰에 의하면 이 지역에 서식하는 바지락의 생식소 발달 단계는 대부분 산란 직전의 완숙기 상태인 것으로 나타났다. 포란수와 바지락 개체 크기 (shell length)에 따른 상관 관계를 알아본 결과, 포란수는 크기가 크면 증가하는 유의적인 상관관계를 보이고 있었다 ($r^2=0.6435$). 이번 실험은 지역에 따른 산란기 상태의 바지락 생식소지수를 비교한 첫 번째 연구로서, 이 결과는 바지락 인공종묘 연구의 모패 선정을 위한 기본 자료로 사용될 것이다.

1. Introduction

바지락 (*Ruditapes philippinarum*)은 국내 수산업에 있어 굴과 더불어 가장 중요한 수산자원의 하나이다. 바지락 양식은 서해안과 남해안 일대의 갯벌에서 대규모로 이뤄지고 있으며, 양식방법은 1-1.5 cm의 1년생 바지락 치패를 양식장에 살포한 다음 2-3년 뒤에 수확하는 방식이다. FAO 통계에 의하면 전 세계 바지락 생산량은 2009년 기준으로 연간 3,248,013 톤에 달하며, 총 생산량의 97% 이상이 중국에서 생산된 것으로 나타났다. 국내 바지락 연간 생산량은 1999년 약 60,000 톤으로 최고를 기록한 이후, 1993년 약 10,000 톤으로 급감한 이후 예전 자원량을 회복하지 못하고 있으며, 최근 5년간 생산된 바지락은 20,000톤 이하인 것으로 조사되었다 (FAO, 2010). 국립수산물품질검사원 (<http://www.nfis.go.kr/>)과 한국무역협회 (<http://www.kita.net/>) 의 자료에 의하면 바지락 수입량은 1998년 1,441 톤의 수입을 시작으로 꾸준히 증가하고 있는 실정이다.

유럽 지역의 바지락 양식은 1974년 미국 Olympia Oyster Company로부터 프랑스로 처음 전해지면서 시작되었다. 유럽의 바지락 양식 방법은 우리나라와 마찬가지로 치패를 양식장에 살포해 수확하는 방식이지만, 자연 발생 된 치패를 사용하는 것이 아니라 인공종묘로 생산된 치패를 사용하는 것이 우리나라와 다른 점이다 (INNOVATIVE. 1993, <http://innovativeaqua.com/Publications>). 우리나라의 치패 생산은 자연 발생장 생산량에 의존해 전국에 공급되고 있지만 부족한 실정이며, 수입 치패의 경우 질병 감염 등의 문제로 수입 조건이 까다로워 바지락 치패의 인공종묘생산 기술이 시급한 실정이다.

종묘생산에 있어 모패의 산란시기와 번식량은 모패선정에 있어 가장 중요

한 요인의 하나이다 (FAO 1990). 해양 이매패류의 번식량 측정은 조직학적 관찰, 산란 전후의 무게 비율 그리고 다양한 산란 유도를 통한 방출된 알을 계수하는 방법 등을 사용하고 있다 (Toba and Miyama, 1994; Tirado and Salas, 1998; Ceballos-Vazquez et al., 2000; Zhang and Yan, 2006). 하지만, 이와 같은 방법은 이매패류의 산란이 한차례만 일어나는 것이 아니라 여러 번에 나뉘어 일어나는 점과 조직 슬라이드 단면적이 부정확 할 수도 있기 때문에 실제 생식소 양보다 적게 정량 될 수 있다 (Lucas, 1982; Chung et al. 2001; Kang et al. 2003a). 이러한 단점을 보완하고자, 해양 이매패류의 번식량을 면역학적 방법을 이용하여 측정하였다. Choi et al. (1993) 은 대서양굴 (*Crassostrea virginica*) 알에 대한 특이적인 단백질 항체를 개발하여 번식량을 측정하였다. 이러한 면역학적 방법을 이용한 번식량 측정법은 아주 적은 양의 알 단백질에도 반응한다는 점과 신속한 진단을 할 수 있는 장점도 가지고 있어 굴을 비롯한 다양한 이매패류의 번식량을 측정하는데 개발되어 이용되고 있는 실정이다 (Kang et al., 2003b; Park et al., 2003; Park and Choi, 2004).

이번 연구는 2009년 6월 전국 바지락을 대상으로 우수한 모패 조건의 하나인 번식량을 측정하여 지역별 시·공간적인 번식량 특성을 이해하고 인공종묘에 사용할 우량 모패를 선발하는데 기초 자료로 사용하고자 한다.

2. Materials and methods

2.1. Samples

실험에 사용된 바지락은 제주도를 비롯한 동·서·남해안 총 25개 지역을 선정하고 (Fig. 3-1), 2009년 6월 초 동시에 채집을 실시하였다 (Table 3-1). 채집된 바지락은 곧바로 실험실로 옮겨 바지락의 이상 유무를 확인한 후 지역별로 30-50 개체씩 선정하였다. 버니어 캘리퍼스와 전자저울을 이용하여 각장 (Shell Length, SL, mm), 습중량 (Tissue Wet Weight, TWWT, g) 및 패각 건조량 (Shell Dry Weight, SDWT, g)을 측정하였고, 비만도 (Condition Index, CI)는 습중량과 패각 건조량의 비로 나타냈다 ($CI = TWWT / SDWT$). 조직학적 방법을 통한 바지락의 암수 구분을 위해 생식소가 포함되도록 몸체 가운데 부분을 1.5-2mm 가량 적출하여 Davidson's solution에 48시간 고정하였다. 잔여 조직은 번식량 측정을 위해 동결건조 한 후, 막자와 막자사발을 이용하여 파우더화 하였고 실험 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다 (Fig. 3-2).

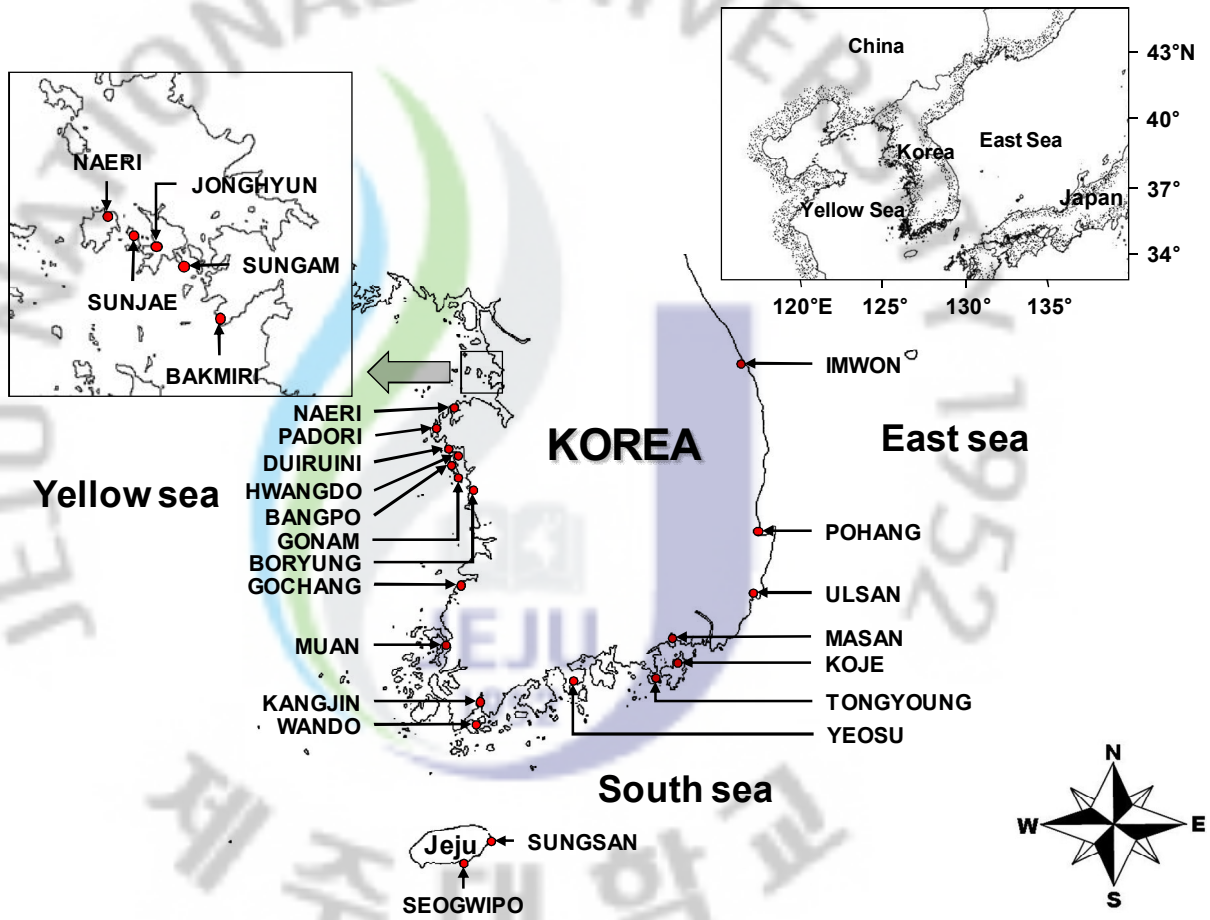


Fig. 3-1. Sampling locations.

Table. 3-1. Sampling date and number of sample collected from each sampling location.

Locality	Sampling date	N
Naeri, West coast (KG)	06 Jun 2009	50
Sunjae, West coast	06 Jun 2009	40
Jonghyun, West coast	06 Jun 2009	40
Sungam, West coast	19 Jun 2009	40
Bakmiri, West coast	06 Jun 2009	50
Naeri, West coast (CN)	26 Jun 2009	40
Padori, West coast	26 Jun 2009	40
Hwangdo, West coast	05 Jun 2009	50
Duiruini, West coast	05 Jun 2009	40
Bangpo, West coast	05 Jun 2009	50
Gonam, West coast	05 Jun 2009	40
Boryung, West coast	04 Jun 2009	50
Gochang, West coast	04 Jun 2009	50
Muan, West coast	04 Jun 2009	50
Kangjin, South coast	04 Jun 2009	50
Wando-subtidal, South coast	10 Jun 2009	40
Wando-intertidal, South coast	10 Jun 2009	30
Yeosu, South coast	03 Jun 2009	30
Tongyoung, South coast	03 Jun 2009	50
Geoje, South coast	03 Jun 2009	40
Masan, South coast	03 Jun 2009	30
Ulsan, East coast	26 Jun 2009	40
Pohang, East coast	02 Jun 2009	50
Imwon, East coast	02 Jun 2009	50
Sungsan, Jeju	09 Jun 2009	50
Seogwipo, Jeju	09 Jun 2009	40

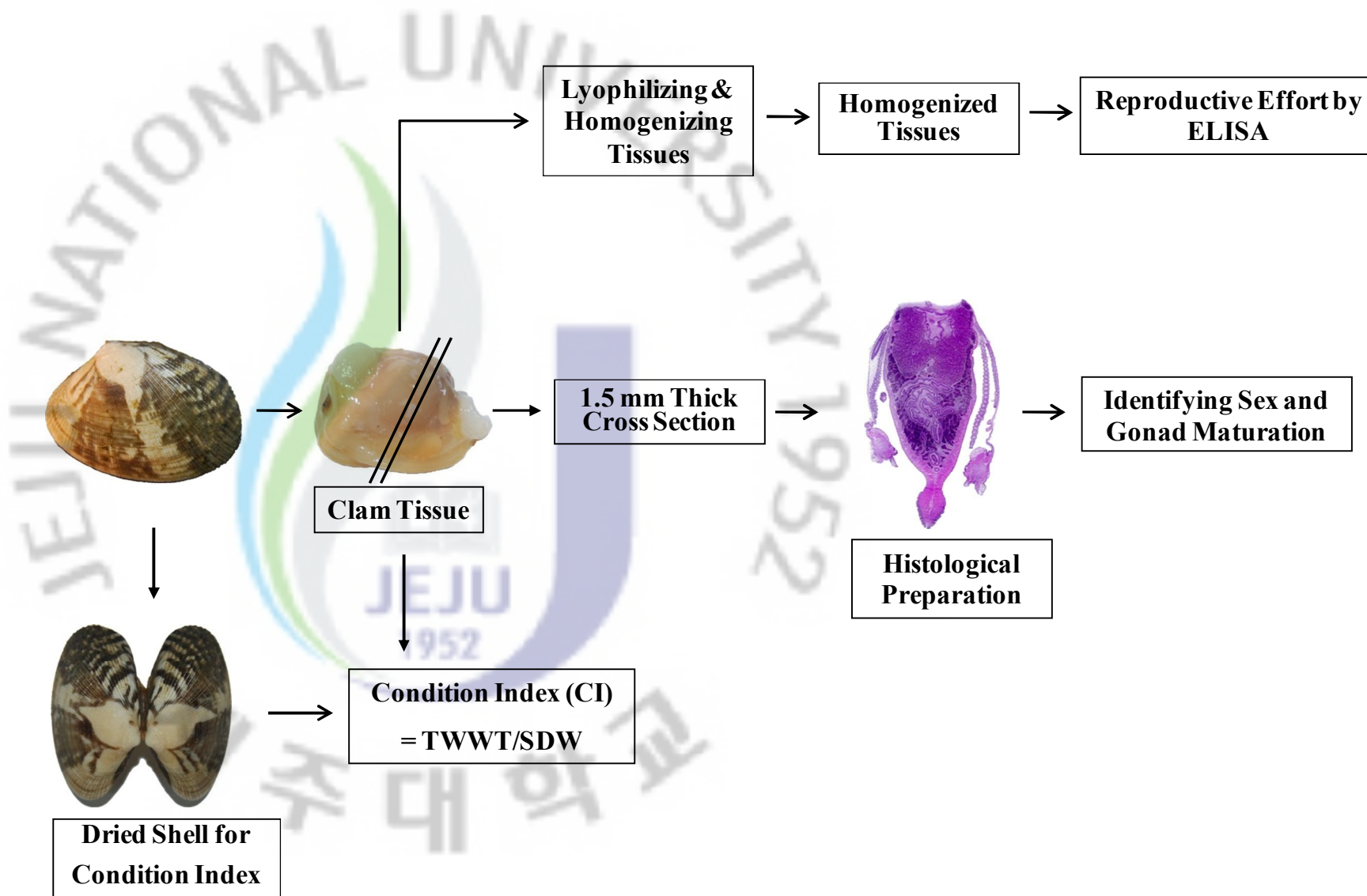


Fig. 3-2. Flowchart for the experiment.

2.2. Histological observation

고정이 끝난 시료는 각 농도별 에탄올을 이용하여 탈수한 후, 파라핀을 이용하여 포매하였다. 포매가 끝난 조직 시료는 마이크로톰을 이용하여 6 μ m 두께로 절편한 뒤, Harris haematoxylin과 Eosin Y를 이용하여 비교 염색 하였다. 염색이 끝난 슬라이드는 광학현미경을 이용하여 암수 구분 및 생식소 발달 단계를 관찰하였다. 생식소 발달 단계는 Drummond et al. (2006)의 구분 방법에 따라 휴지기 (resting), 초기발달기 (early developing), 후기발달기 (late developing), 완숙기 (ripe), 부분산란기 (partially spawning) 및 소모기·흡수기 (spent/resorbing) 등 총 6 단계로 나누어 확인하였다.

2.3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

조직학적 관찰을 통해 구분된 암컷 바지락의 번식량을 측정하기 위해 Park and Choi (2004)의 방법에 따라 indirect-ELISA를 사용하였다. 분석을 위해 동결 건조된 바지락 20 mg을 1 ml의 PBS가 담긴 튜브에 넣고 초음파파쇄기를 이용하여 균질화 하였다. 원심분리 후, 균질액을 500-2,000배로 희석하고 각각의 샘플을 표준용액과 함께 96 well plate에 100 μ l씩 3반복으로 분주하여 4°C 에서 하룻밤 반응시켰다. 표준용액은 성숙한 바지락으로부터 순수 분리된 알 20 mg을 1 ml의 PBS가 담긴 튜브에 넣고 균질화 시킨 다음 상등액을 따로 분리하여 단백질 농도 측정 후 사용하였다. 반응이 끝난 plate는 0.05%의 triton X-100가 첨가된 PBS (PBST)로 네 차례 세척한 뒤, 1%의 bovine serum albumin (BSA)이 첨가된 PBST 150 μ l를 blocking buffer로 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 반응이 끝난 후, PBST로 네 차례 세척하고 1%의 BSA가 첨가된 PBST에 1차 항체인 Manila clam egg-primary antibody를 2,000배로 희석해 모든 well에 100 μ l씩 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤, PBST로 다시 네 차례 세척하고 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate를 1%의 BSA가 첨가된 PBST에 2,000배로 희석하여 100 μ l씩 넣고 한 시간 실온에 반응시켰다. 한 시간 반응 뒤, PBST로 네 차례 세척하고 발색기질을 100 μ l씩 넣고 20분간 암조건에서 반응시켜 흡광도 측정기를 이용해 405 nm 파장에서 흡광도 (Optical Density, O.D.)를 측정하였다. 발색기질은 p-nitrophenylphosphate (p-NPP)를 0.1 M glycine buffer에 mg/ml로 희석하여 사용하였다.

각 시료의 단백질 농도는 순수 분리된 바지락 알 단백질로부터 측정된 O.D.을 이용하여 작성된 표준곡선으로부터 환산하여 나타내었다. 각각의 바지락

알 정량 (total egg dry weight)은 ELISA로부터 얻어진 단백질 농도에 2.44를 곱해 산출하였다. 생식소지수 (Gonadosomatic index, GSI)는 각 바지락의 산출된 알 무게와 총 건중량의 비로 나타내었다 ($GSI = \text{total egg dry weight} / \text{total tissue dry weight}$). 포란수 (fecundity)는 ELISA를 통해 얻어진 각 바지락의 알 무게를 순수 분리 시 얻어진 알 한 개의 무게인 22 ng으로 나누어 산출하였다 ($Fecundity = \text{total egg dry weight} / 22 \text{ ng}$).

3. Results

3.1. Water temperature

채집 지역의 수온은 국립해양조사원 (Korea Hydrographic and Oceanographic Administration, <http://www.khoa.go.kr>) 자료를 인용하여 사용하였다. 국립해양조사원 수온 측정 지점을 중심으로 가장 가까운 지역의 채집 시점에 맞춰 수온을 표기하였다. 채집 시기에 따른 지역별 수온 범위는 14.5-21.3℃ 였다. 2009년 6월 5일에 채집된 충남 드르니, 방포, 내리, 파도리 지역이 속한 안흥 지점의 수온이 14.5℃로 가장 낮았으며, 2009년 6월 19일에 채집된 선감 지역이 속한 안산 지점의 수온이 21.3℃로 가장 높게 관찰되었다 (Table 3-2).

Table. 3-2. Distribution of surface mean water temperature at the sampling sites for the past 5 years recorded by Korea Hydrographic and Oceanographic Administration.

KHOA stations	Sampling location	Period											
		JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN(Sampling date)	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
Ansan	Naeri (KG), Sunjae, Jonghyun, Bakmiri Sungam	1.0	1.5	5.6	10.9	16.7	21.1(20.0, 06/Jun) (21.3, 19/Jun)	24.0	25.8	23.8	18.7	11.3	4.2
Anheung	Duiruini, Bangpo Naeri (CN), Padori	6.2	4.6	5.1	7.3	11.0	15.3(14.5, 05/Jun) (16.0, 26/Jun)	19.9	22.6	21.9	19.2	14.7	10.4
Boryung	Gonam, Boryung, Hwangdo	7.2	6.1	7.2	10.9	16.1	20.2(18.0, 05/Jun)	24.2	27.3	25.2	21.3	16.0	10.9
Gunsan	Gochang	3.3	3.6	6.2	11.2	16.1	20.6(18.4, 04/Jun)	23.6	26.1	23.5	19.2	12.5	6.4
Mokpo	Muan	5.4	5.0	6.5	11.2	16.6	20.8(18.5, 04/Jun)	24.3	26.5	24.2	20.6	14.4	9.3
Wando	Kangjin, Wando	8.2	8.0	9.4	12.2	15.5	18.6(17.3, 10/Jun)	20.9	23.5	23.7	20.0	14.6	10.5
Yeosu	Yeosu	6.4	6.5	8.8	12.1	16.5	19.7(18.5, 03/Jun)	22.9	24.6	23.6	20.3	15.4	10.2
Tongyoung	Tongyoung	7.7	8.0	10.3	13.8	17.7	20.4(18.8, 03/Jun)	22.8	25.2	24.2	20.9	15.7	10.5
Geoje	Geoje	12.5	12.0	12.2	13.4	15.2	17.8(16.9, 03/Jun)	20.1	24.0	24.0	20.5	16.5	14.3
Ulsan	Ulsan	10.5	10.9	12.1	13.4	15.3	17.9(16.2, 26/Jun)	19.6	22.5	23.4	20.3	15.7	12.4
Pohang	Pohang	7.3	8.0	9.7	12.4	14.9	18.8(17.7, 02/Jun)	21.4	23.5	23.2	19.8	13.4	9.3
Mukho	Imwon	8.3	7.9	8.8	10.9	12.9	17.2(16.5, 02/Jun)	20.5	22.5	20.7	18.9	15.1	10.3
Sungsan	Sungsan	12.5	12.1	12.7	14.7	16.9	19.3(18.6, 09/Jun)	22.6	25.3	23.5	20.8	17.3	14.2
Seogwipo	Seogwipo	15.4	14.7	14.6	15.3	17.0	19.8(19.5, 09/Jun)	22.0	24.6	24.3	22.7	20.5	17.8

3.2. Biometric measurements

번식량 측정을 위해 암컷 바지락만을 이용하였으며, 암컷 바지락은 조직 슬라이드 관찰을 통해 선택하였다. 지역별로 12-28개체가 번식량 측정 실험에 사용되었으며, 측정에 사용된 바지락의 평균 각장, 습중량, 패각 건중량 및 비만도 등은 Table 3-3에 나타내었다. 실험에 사용된 바지락의 평균 각장은 28.7 (± 1.8)-50.5 (± 3.2) mm 였다. 조하대에서 채집된 완도와 거제 바지락의 평균 각장은 각각 50.5 (± 3.2) mm와 49.0 (± 12.3) mm로 가장 크게 나타났고, 충남 지역의 내리 바지락이 28.7 (± 1.8) mm로 가장 작았다. 바지락의 평균 습중량은 0.941 (± 0.218)-6.975 (± 1.487) g의 범위 였다. 평균 각장이 가장 크게 나타난 완도 조하대 바지락이 가장 높게 나타났으며 충남 내리 지역의 바지락이 가장 낮게 나타났다. 비만도 (CI) 는 0.351 (± 0.055)-0.881 (± 0.086)의 범위로 조사 되었으며, 지역 간 비만도 차이가 크게 나타났다 (Fig. 3-3).

Table. 3-3. Biometry of female *Ruditapes philippinarum* surveyed in Korean waters (N: sample number, SL: shell length in mm, TWWT: tissue wet weight in gram, SDWT: shell dry weight in gram, CI: condition index as TWWT/SDWT).

Locality	N	SL (\pm SD)	TWWT (\pm SD)	SDWT (\pm SD)	CI (\pm SD)
Naeri (KG)	19	33.1 \pm 1.8	2.439 \pm 0.556	3.810 \pm 0.836	0.654 \pm 0.131
Sunjae	20	40.3 \pm 2.8	3.701 \pm 1.099	6.367 \pm 1.607	0.590 \pm 0.126
Jonghyun	22	33.4 \pm 2.4	2.192 \pm 0.537	3.471 \pm 1.392	0.660 \pm 0.123
Sungam	13	33.2 \pm 1.6	1.690 \pm 0.348	3.473 \pm 0.585	0.495 \pm 0.107
Bakmiri	12	35.4 \pm 3.8	2.356 \pm 0.935	4.587 \pm 1.092	0.504 \pm 0.117
Naeri (CN)	19	28.7 \pm 1.8	0.941 \pm 0.218	1.709 \pm 0.331	0.552 \pm 0.088
Padori	19	34.5 \pm 3.7	2.190 \pm 0.800	4.145 \pm 1.316	0.528 \pm 0.085
Hwangdo	19	37.0 \pm 3.6	3.397 \pm 1.100	5.275 \pm 1.572	0.661 \pm 0.103
Duiruini	18	38.0 \pm 3.6	4.394 \pm 0.959	5.313 \pm 1.533	0.853 \pm 0.154
Bangpo	20	33.0 \pm 5.2	3.349 \pm 1.877	4.087 \pm 2.140	0.881 \pm 0.086
Gonam	23	35.2 \pm 3.2	3.173 \pm 0.944	4.308 \pm 1.504	0.757 \pm 0.134
Boryung	25	28.9 \pm 2.9	1.470 \pm 0.595	1.933 \pm 1.122	0.793 \pm 0.083
Gochang	24	37.0 \pm 1.9	3.317 \pm 0.778	4.313 \pm 1.046	0.777 \pm 0.114
Muan	24	33.8 \pm 2.0	2.307 \pm 0.521	4.050 \pm 0.824	0.574 \pm 0.093
Kangjin	28	34.9 \pm 1.9	2.417 \pm 0.490	5.034 \pm 0.972	0.489 \pm 0.110
Wando-subtidal	20	50.5 \pm 3.2	6.975 \pm 1.487	9.174 \pm 2.241	0.768 \pm 0.108
Wando-intertidal	23	36.5 \pm 2.4	2.461 \pm 0.370	6.066 \pm 1.367	0.416 \pm 0.065
Yeosu	14	31.1 \pm 0.9	1.340 \pm 0.181	3.873 \pm 0.580	0.351 \pm 0.055
Tongyoung	19	30.0 \pm 2.4	1.247 \pm 0.401	2.807 \pm 1.423	0.472 \pm 0.092
Geoje-subtidal	18	49.0 \pm 12.3	6.860 \pm 3.719	10.961 \pm 6.036	0.645 \pm 0.117
Masan	15	34.9 \pm 2.1	3.093 \pm 0.731	4.629 \pm 1.050	0.670 \pm 0.072
Ulsan	19	30.9 \pm 1.6	1.534 \pm 0.197	3.176 \pm 0.429	0.487 \pm 0.064
Pohang	24	41.4 \pm 2.4	4.591 \pm 1.065	8.593 \pm 1.875	0.538 \pm 0.072
Imwon	24	33.3 \pm 3.8	1.676 \pm 0.587	4.606 \pm 2.098	0.377 \pm 0.049
Sungsan	12	33.5 \pm 6.6	2.054 \pm 1.533	5.318 \pm 3.530	0.378 \pm 0.066
Seogwipo	22	33.4 \pm 2.6	2.474 \pm 0.661	3.776 \pm 1.051	0.659 \pm 0.064

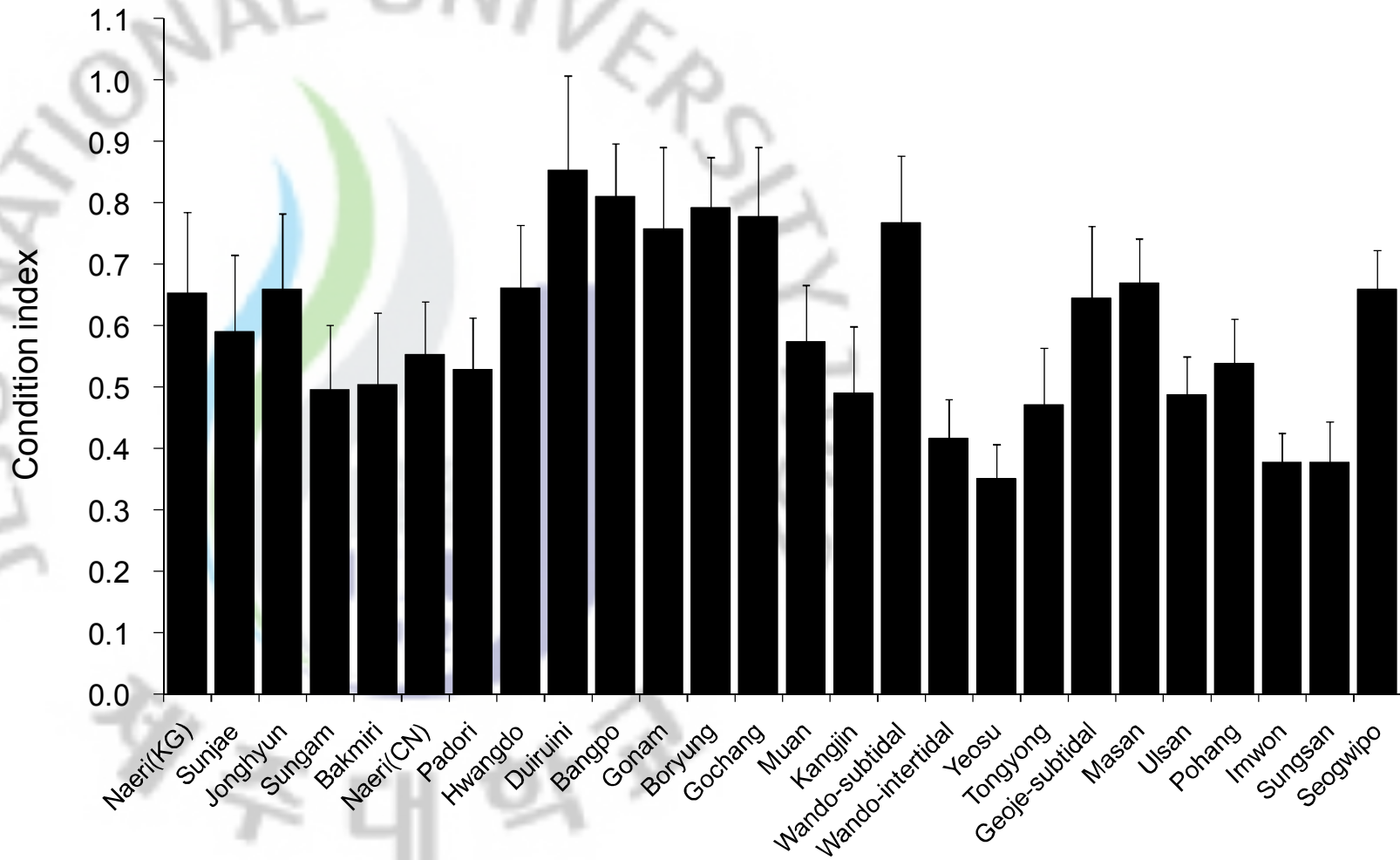


Fig. 3-3. Condition index of clam in Korean waters collected in June of 2009.

3.3. Gonadal development phase

각 지역별 생식소 발달 변화 결과를 Fig. 3-4에 나타내었다. 초기 발달기부터 소모기 상태의 바지락 생식소가 관찰 되었고, 휴지기 상태의 바지락은 관찰되지 않았다. 동해안 지역의 울산, 남해안 지역의 마산, 여수, 완도 조간대 그리고 서해안 지역의 황도에서 대부분 산란 (42.1-78.9%) 중이거나 소모기 (21.1-52.6%) 상태인 것으로 확인 되었다. 동해안의 포항, 남해안의 완도 조하대 그리고 서해안의 무안, 고창, 고남, 방포, 드르니, 파도리 및 경기 내리 바지락은 산란 직전의 완숙기 (50.0-90.5%) 상태인 것을 알 수 있었다. 이 밖의 다른 지역 바지락은 아직 성성숙이 덜된 초기 발달기 또는 후기 발달기 상태인 것을 확인 할 수 있었다.

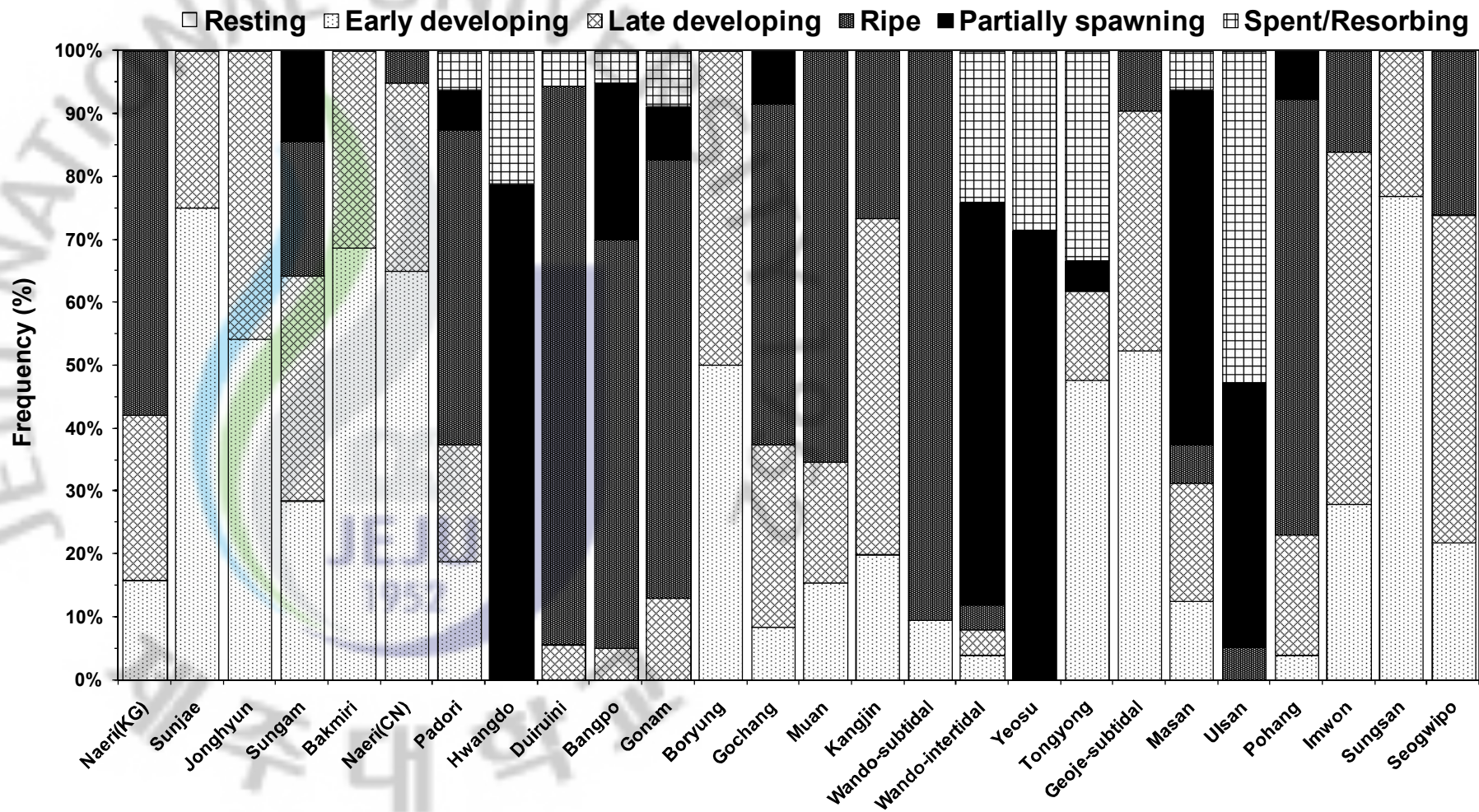


Fig. 3-4. Gonadal development phase of clam in Korean waters collected in June of 2009.

3.4. Gonadosomatic index (GSI) and fecundity

ELISA를 이용해 지역별 평균 GSI, 발달 상태에 따른 GSI 그리고 완숙기 상태의 포란수를 측정하였다. 지역별 평균 GSI 범위는 1.76 (± 3.30)-18.91 (± 7.98)로 나타났고, 대부분 초기 발달기 상태의 생식소가 관찰된 충남 내리와 제주도 성산이 가장 낮게 조사되었다. 생식소가 산란 직전의 상태를 보인 지역의 평균 GSI의 범위는 6.69 (± 4.58)-18.91 (± 7.98) 이었고, 산란이 진행되고 있는 지역의 GSI 범위는 3.83 (± 2.35)-5.63 (± 3.58) 이었다 (Fig. 3-5).

GSI를 생식소 발달 단계로 구분하여 나타낸 결과, 후기 발달기 상태와 산란기 상태의 평균 생식소 지수 범위는 각각 2.07 (± 0.60)-7.60 (± 0.75)과 4.41 (± 2.26)-9.05 (± 1.63) 이었다. 반면, 산란 직전의 완숙기 상태의 바지락 평균 GSI는 9.26 (± 3.68)-19.86 (± 6.94)의 범위였고, 후기 발달기 상태와 산란기 상태의 평균 GSI보다 2-3배 높은 것으로 확인 되었다 (Fig. 3-6).

지역별 포란수는 산란 직전의 완숙기 상태의 바지락만을 대상으로 산정하였다. 한 개체만 관찰된 지역을 제외한 나머지 지역의 평균 포란수 범위는 1,112,045 ($\pm 510,622$)-11,373,973 ($\pm 4,181,091$) 개로 나타났으며, 동해안의 임원 바지락이 가장 낮게 조사되었고, 완도 조하대 바지락이 가장 높게 나왔다 (Fig. 3-7).

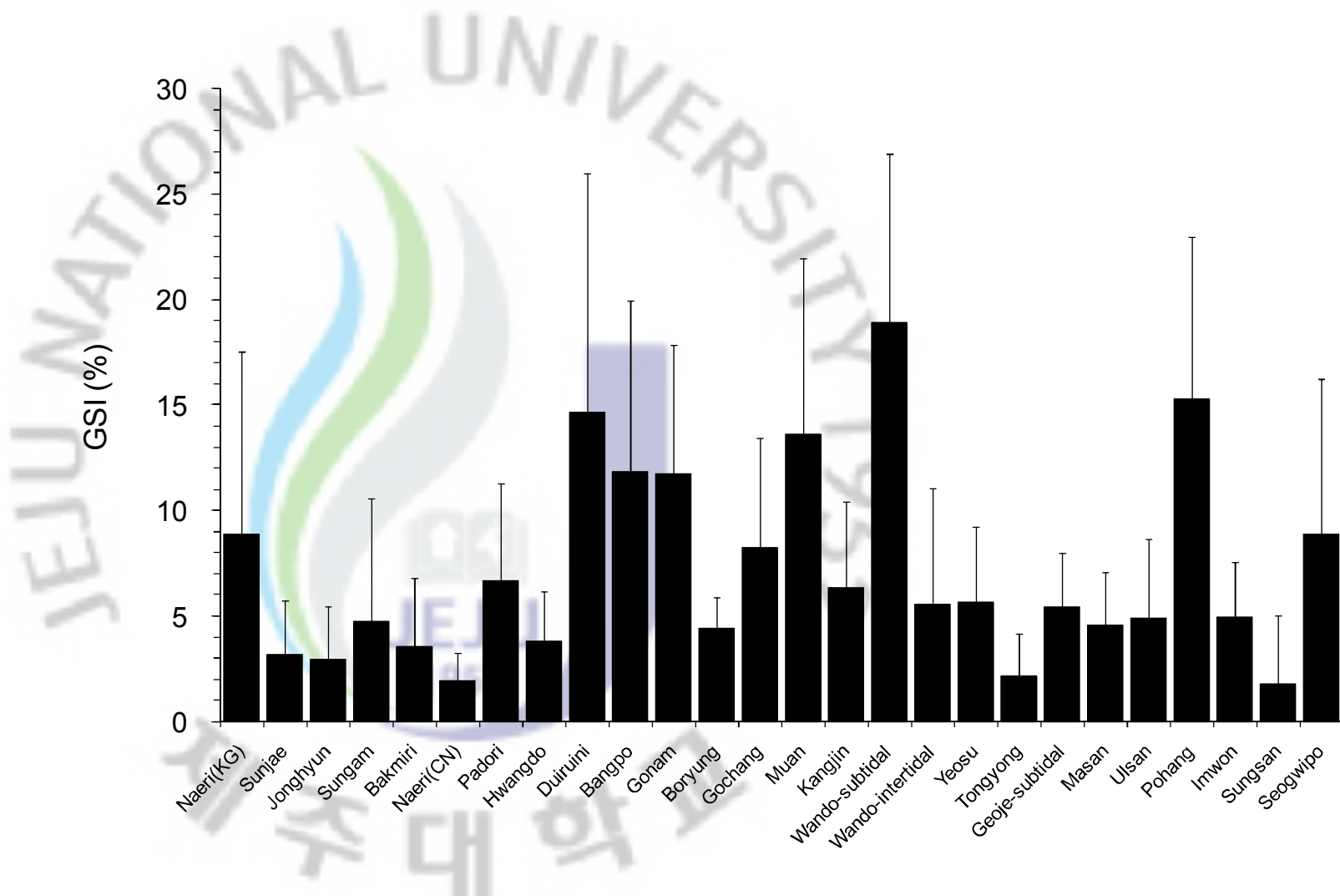


Fig. 3-5. Gonadosomatic index of clam in Korean waters collected in June of 2009.

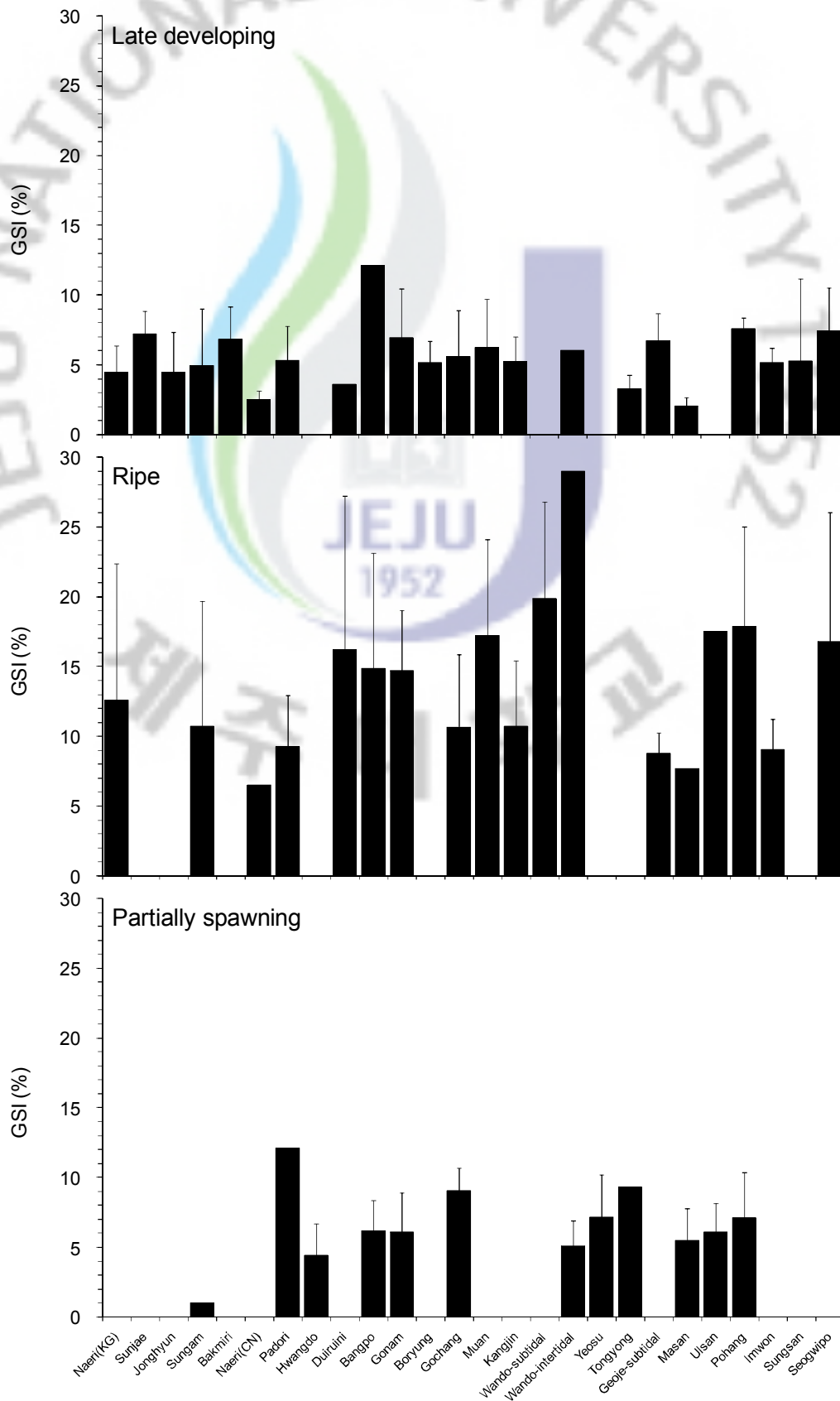


Fig. 3-6. Gonadosomatic index of clam in each development phases collected in June of 2009.

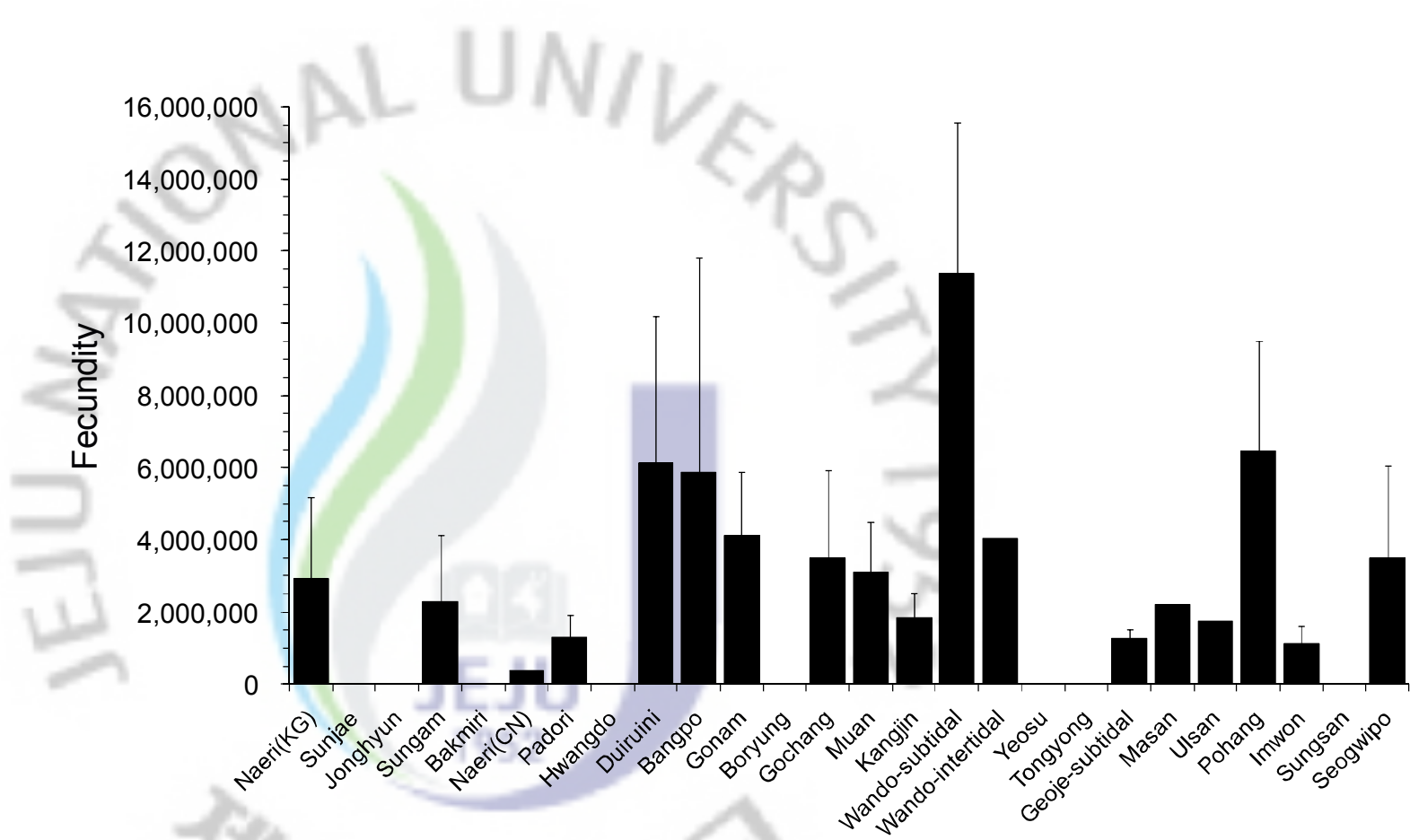


Fig. 3-7. Fecundity of clam in Korean waters collected in June of 2009.

4. Discussion

수온은 해양 이매패류의 번식에 영향을 주는 주 환경요인의 하나로 알려져 있다 (Sastry, 1979; Gosling 2003). 온대 지역의 경우, 수온의 계절변화가 크게 나타나며 이러한 수온변화는 배우자형성과정에서 생식소 발달 및 산란과 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다 (Darriba et al., 2004; Drummond et al. 2006). 이번 연구 결과, 채집 지역 수온 범위는 14.5-21.3°C였으며, 지역별 수온은 상승하고 있는 중이었다. 이미 산란이 50% 이상 일어난 지역인 충남 황도, 전남 완도와 여수 그리고 동해 울산의 수온은 16.2-18.5°C 범위였다. 반면, 산란이 일어나지 않은 산란 직전의 완숙한 상태의 생식소를 보인 경기 내리, 충남 드르니, 전남 무안 및 완도 조하대, 포항의 수온 범위는 14.5-20.0°C로 산란이 일어난 지역보다 수온 변화의 폭이 더 크게 나타났다. 이번 연구에서는 같은 지역에 서식하고 해수 표면 온도 또한 유사한 지역에서 서로 다른 양상의 번식 형태를 보이고 있는데 이는 지역별 먹이 조건이 다르기 때문이라 사료된다. 서식지의 먹이 조건은 수온과 함께 배우자형성과정과 산란에 영향을 주는 것으로 알려져 있으며, 같은 종이라도 먹이 조건에 따라 지역별로 산란 시기의 차이가 나는 것으로 나타났다 (Sastry, 1979; Hofmann et al., 1992; Grant and Creese, 1995). Starr et al. (1990)은 성계와 담치를 대상으로 각각 다른 농도의 플랑크톤 수조에 넣어 산란을 유도한 실험에서 플랑크톤 농도가 더 높은 실험구에서 산란이 더 높게 나타난 것을 밝혀냈다. 또한, Park and Choi (2004)는 곰소만에 서식하는 바지락의 산란시기가 플랑크톤 증식시기와 일치하는 것을 보고하였다. Shim and Yeo (1988)는 천수만의 식물 플랑크톤 군집의 공간 분포와 시간경과에 따른 변화 양상을 조사하였는데, 천수만 입구의 경우 플랑크

톤 변화가 계절적으로 다양한 반면 내만은 정체된 것을 확인할 수 있었다. Kang et al. (2000)의 연구에서는 한산-거제만과 자란만의 Chlorophyll a를 비교 하였는데, 두 지역의 Chlorophyll a 농도는 계절별 유의적인 차이를 보인다고 발표 하였다. 비록, 이번 연구에서는 먹이 조건을 직접 측정하지 않았지만, 이전 선행 연구들로 미루어 보아 수온 보다는 지역적 먹이 환경 차이에 따라 바지락 생식소 발달이 차이가 난 것이라 사료된다.

2009년 6월 전국에서 채집된 바지락의 지역별 평균 GSI의 범위는 1.91 (± 1.33)-18.91 (± 7.98)이었고 각 개체 당 측정된 GSI의 범위는 0.4-37.6%로 나타났다. 이중 평균 GSI가 10% 이상인 지역은 충남 3지역, 전남 2지역 그리고 동해안 1지역으로 이들 지역의 생식소 발달 상태는 생식소가 65% 이상 완숙한 상태를 보였다. GSI가 18.91 (± 7.98)%로 가장 높게 조사된 완도 조하대는 90% 이상의 생식소가 산란 직전의 완숙한 상태였다. 반면, GSI가 5% 이하를 보인 지역은 생식소 발달 상태가 초기 발달기 상태 (47.6-76.9%) 이거나, 이미 산란이 일어난 상태 (42.1-78.9%)였다. Park and Choi (2004)는 생식소 발달이 덜 된 초기 발달기 상태의 바지락의 경우 난황 단백질 없거나 농도가 낮아, 항체가 개발될 때 사용된 성숙한 알에 대한 단백질 항체 반응이 낮을 수 있을 것이라 보고하였다. Park and Choi (2004)는 곰소만에 서식하는 바지락의 연중 GSI를 ELISA를 통해 관찰하였는데, 월 평균 GSI는 0-25%의 변화를 보였다. 곰소만에 서식하는 바지락은 연구기간 동안 2번의 산란이 일어났는데 5월에 일어난 산란 보다 7월에 일어난 산란강도가 더 컸으며 산란 이후 GSI는 각각 18.7%에서 12.2%로 25.0%에서 10.7%로 낮아졌다. Jasim (2008) 또한 제주 성산과 경기 백미리에 서식하는 바지락의 GSI를

ELISA를 통해 측정하였는데, 두 지역의 GSI 범위는 각각 0.9-19.7%와 4.27-20.63%를 보였으며 이 두 지역 모두 최대 GSI값이 관찰된 이후 산란이 이루어 졌다. 이와 같은 결과로 미루어 보아, 바지락은 생식량이 전체 중량의 약 20% 정도에 도달한 이후 산란이 일어남을 알 수 있었다. 이번 실험에서 GSI가 18.91%로 가장 높게 관찰된 완도 조하대의 조직관찰 결과, 약 90%가 산란 직전의 완숙한 상태였으며, 15.8%의 GSI를 보인 포항 바지락의 경우 약 70%가 완숙란이었으며 7.7%의 산란이 관찰되었다. 이는 Park and Choi (2004)와 Jasim (2008)의 연구와 유사한 결과이다.

ELISA 측정 결과로부터 산란 직전의 완숙한 바지락의 포란수를 환산하였다. 이번 연구에서 확인된 지역별 완숙한 바지락의 평균 포란수는 358,382-11,373,973 ($\pm 4,181,091$) 개였으며, 바지락 각각의 포란수는 123,114-19,239,018 개의 범위였다. 곰소만에 서식하는 바지락 (SL range 30.5-42.0 mm)의 포란수는 945,000-11,794,000 개로 나타났고 (Park and Choi, 2004), 제주 성산 (SL range 32.7-36.7 mm) 과 경기 백미리 (SL range 34.0-37.1 mm) 바지락의 포란수는 각각 2,420,350-8,967,785와 2,544,553-13,839,542개 범위였다 (Jasim, 2008). 이전 연구에서 알려진 바지락의 포란수는 이번 연구에서 알려진 포란수 범위에 모두 포함 되었는데, 이는 이번 연구에 사용된 바지락의 SL가 28.7 (± 1.8)-50.5 (± 3.2) mm로 다양했기 때문이라 사료된다. Choi et al. (1993)은 처음으로 해산 이매패류인 *Carssostrea virginica*의 번식량을 측정하고 포란수가 크기 (total dry weight)와 상관관계가 있다고 발표하였다. Park and Choi (2004)와 Royer et al. (2008) 역시 각각 *R. philippinarum*과 *Crassostrea gigas*의 포란수가 크기 (meat dry weight)와 밀접한 관련이 있다는 것을

나타낸 바 있다. 이번 연구에서도 유사한 완숙한 바지락의 크기 (total dry tissue weight)와 포란수와의 상관관계를 살펴본 결과, 크기가 증가할수록 포란수 역시 유의적으로 증가하는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3-8, $r^2=0.6435$).

이번 연구는 바지락 인공종묘 모패 선정을 위해 2009년 6월 전국에서 동시에 바지락을 채집하여 GSI를 측정하였다. 지역별로 바지락의 GSI는 큰 차이를 보였으며, 이는 바지락의 생식소 발달과 관련이 있었다. 조직관찰 결과, 산란 직전인 완숙기 상태가 약 90%정도 관찰된 지역인 충남 드르니와 전남 완도 조하대 바지락 GSI가 각각 14.6%와 18.9%로 나왔으며, 포란수는 6,111,687 ($\pm 4,072,375$)와 11,373,973 ($\pm 4,181,091$)개 였다. 이와 같은 결과를 토대로 2009년 6월 바지락 인공종묘를 실시할 경우, 충남 드르니와 완도 조하대 바지락을 사용하는 것이 바지락 치패 생산에 유리할 것으로 사료된다.

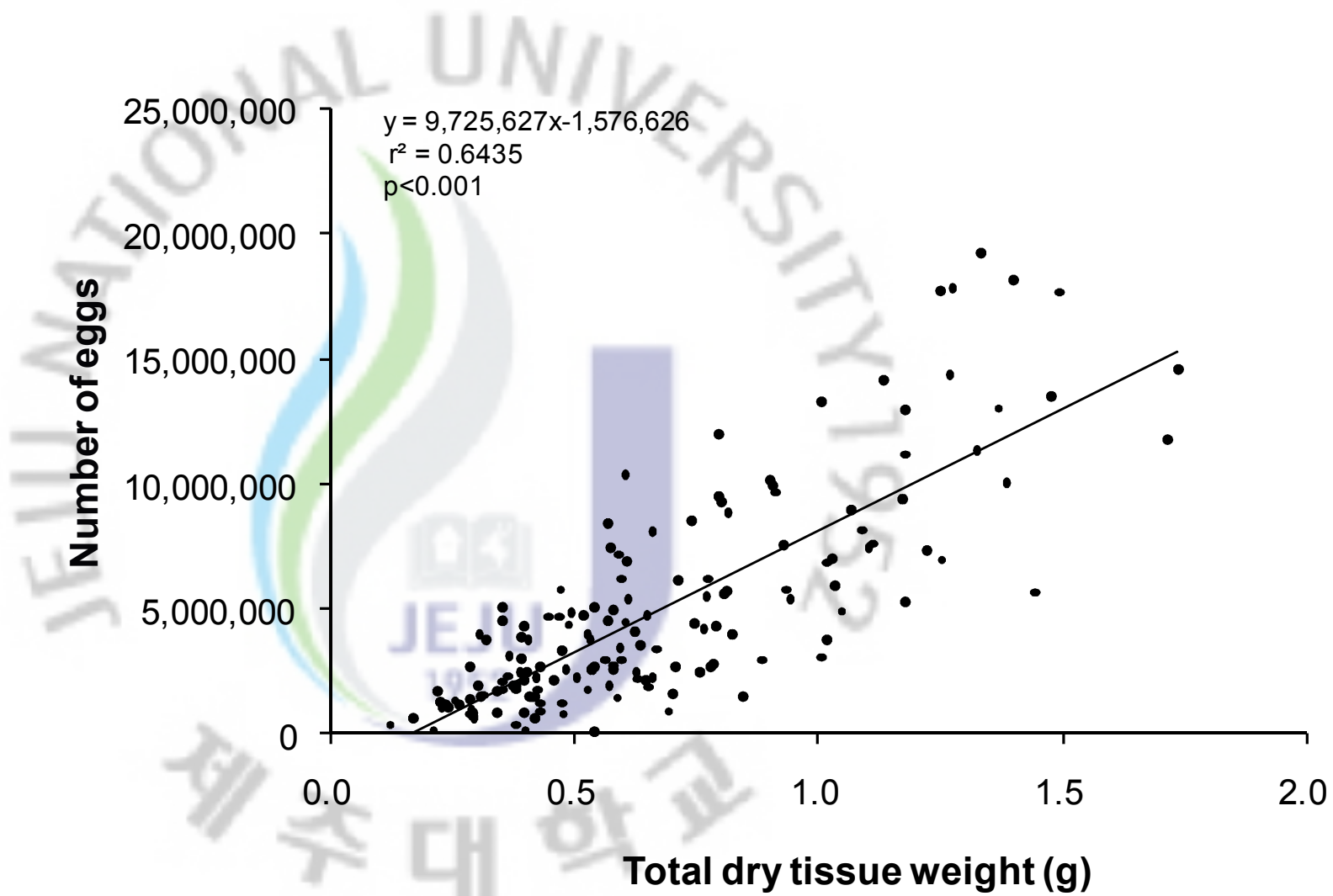


Fig. 3-8. Correlation between clam dry tissue weight and fecundity estimated from ELISA.

Table. 3-4. Concentration of chlorophyll-a in the water column reported from various locations in Korea.

Locality	Range ($\mu\text{g/L}$)	Peak ($\mu\text{g/L}$), Month	Author
Chonsu Bay (north), west coast of Korea	3.0-6.0	6.0, September	Shim and Yeo (1998)
Chonsu Bay (middle), west coast of Korea	3.5-15.5	15.5, March	
Chonsu Bay (south), west coast of Korea	3.0-10.5	10.5, March	
Josan, south coast of Korea	0.4-4.5	4.5, May	Kang et al. (2000)
Osu, south coast of Korea	0.4-2.8	2.8, April	
Gomso Bay, west coast of Korea	2.0-11.8	11.8, September	Park and Choi (2004)
Seonjaedo (east), west coast of Korea	0.9-4.5	4.5, April	Kim (2005)
Seonjaedo (west), west coast of Korea	1.0-8.5	8.5, April	
Seongsan, east coast of Jeju, Korea	0.5-2.6	2.6, August	Uddin (2008)

References

- Barber BJ and Blake NJ. 1991. Reproductive physiology. In: Shumway, S.E. (Ed.), *Scallops: Biology, ecology and aquaculture*. Elsevier pp. 1095.
- Bayne BL, Salkeld PN and Worrall CM. 1983. Reproductive effort and value in different populations of the marine mussel, *Mytilus edulis* L. *Oecologia* (Berlin) 59, 18-26.
- Berthelin C, Kellner K & Mathieu M. 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 125, 359-369.
- Brousseau DJ. 1978. Spawning cycle, fecundity and recruitment in a population of soft shelled clam, *Mya arenaria*, from Cape Ann, Massachusetts. *Fish Bull* 76, 155-166.
- Camacho AP, Delgado M, Fernandez-Reiriz MJ and Labarta U. 2003. Energy balance, gonad development and biochemical composition in the clam *Ruditapes decussates*. *Mar Ecol Prog Ser* 258, 133-145.
- Ceballos-Vazquez BP, Arellano-Martinez M, Garcia-Dominguez F and Villalejo-Fuerte M. 2000. Reproductive cycle of the rugose pen shell, *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Mollusca: bivalvia) from Bahia concepcion, Gulf of California and its relation to temperature and photoperiod. *J Shellfish Res* 19, 95-99.
- Choi KH, Park GM and Chung EY. 2005. Ovarian maturation in female *Ruditapes philippinarum* on the west coast of Korea. *Dev Reprod* 9(2), 123-134.
- Choi KS, Lewis DH, Powell EN and Ray SM. 1993. Quantitative measurement of reproductive output in the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin), using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Aquaculture and Fisheries Management* 24, 375-398.
- Choi KS, Park KI, Lee KW and Matsuoka K. 2002. Infection intensity, prevalence, and

- histopathology of *Perkinsus* sp. in the manila clam, *Ruditapes philippinarum*, in Isahaya Bay, Japan. J Shellfish Res 21(1), 119-125.
- Choi KS, Powell EN, Lewis DH and Ray SM. 1994. Instantaneous reproductive effort in female American oysters, *Crassostrea virginica*, measured by a new immunoprecipitation assay. Biol Bull 186, 41-61.
- Choi KS, Wilson EA, Lewis DH, Powell EN and Ray SM. 1989. The energetic cost of *Perkinsus marinus* parasitism in oysters: quantification of the thioglycollate method. J Shellfish Res 8, 125-131.
- Chu FLE. 1996. Laboratory investigations of susceptibility, infectivity, and transmission of *Perkinsus marinus* in oysters. J. Shellfish Res 15(1), 57-66
- Chung EY, Lee JS, Lee CH and Hur SB. 2002. Reproductive cycle of natural population and artificial control of gonadal development of *Ruditapes philippinarum* by the conditions of water temperature-feeding and starvation. Korea Journal of Malacology 18(2), 83-91.
- Chung EY, Rhu DK and Lee JH. 1994. Gonadal development, age and growth of the short-necked clam, *Ruditapes philippinarum* (Pelecypoda: Veneridae), on the coast of Kimje, Korea. J Malacol 10, 38-54.
- Chung EY, Hur YB, Shin MS and Kim YM. 2005. Reproductive biology of the female Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) on the west coast of Korea. Korea Journal of Malacology 21(1), 1-11.
- Chung EY, Hur SB, Hur YB and Lee JS. 2001. Gonadal maturation and artificial spawning of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), in Komso Bay, Korea. J Fish Sci Technol 4, 208-218.
- Crosby MP and Gale LD. 1990. A review and evaluation of bivalve condition index

- methodologies with a suggested standard method. *J Shellfish Res* 9, 233-237.
- Darriba S, Juan FS and Guerra A. 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Eusis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *J Exp Mar Biol Ecol* 311, 101-115.
- Deslous-Paoli JM and Heral M. 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the Bay of Marennes-Oleron. *Aquat Living Resour* 1, 239-249.
- Diggles BK, Cochenec-Laureau N and Hine PM. 2003. Comparison of diagnostic techniques for *Bonamia exitiosus* from flat oysters *Ostrea chilensis* in New Zealand. *Aquaculture* 220, 145-156.
- Dinamani P. 1987. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. *Aquaculture* 64, 65-76.
- Dittman DE. 1993. The quantitative effects of *Perkinsus marinus* on reproduction and condition in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J Shellfish Res* 12, 127.
- Dittman DE, Ford SE and Padilla DK. 2001. Effects of *Perkinsus marinus* on reproduction and condition of the eastern oyster *Crassostrea virginica*, depend on timing. *J Shellfish Res* 20, 1025-1034.
- Dridi S, Romdhane MS & Elcafsi M. 2007. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. *Aquaculture* 263, 238-248.
- Drummond L, Mulcahy M and Culloty S. 2006. The reproductive biology of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from the North-West of Ireland. *Aquaculture* 254, 326-340.
- Dungan CF and Reece KS. 2006. In vitro propagation of two *Perkinsus* spp. Parasites from

- Japanese Manila clams *Venerupis philippinarum* and description of *Perkinsus honshuensis* n. sp. J Eukaryot Microbiol 53(5), 316-326.
- Eversole AG, Michener WK and Eldridge PJ. 1980. Gametogenesis and spawning in North American clam populations: implications for culture. Vol. 19. Pp. 111-125. In: Developments in aquaculture and fisheries Science, Clam mariculture in North America. J.J. Manzi and M. Castagna (eds.). Elsevier, Amsterdam.
- FAO. 1990. Artificial propagation of bivalves: Techniques and methods. FAO Fisheries Report, 69262, 1-57.
- FAO. 2010. FAO Fishery Statistic. Retrieved from http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Ruditapes_philippinarum/en#tcNA00EA on May 10.
- Fisher WS and Oliver LM. 1996. A whole-oyster procedure for diagnosis of *Perkinsus marinus* disease using Ray's fluid thioglycollate culture medium. J Shellfish Res 15(1), 109-117.
- Galtsoff PS. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Fish Bull 64,1-479.
- Giese AC and Pearse JS. 1974. Introduction: general principles. Pages 1-49 in A.C. Giese and J.S. Pearse (eds.). Reproduction of Marine Invertebrates, Vol.1. Academic Press, New York.
- Grant A and Tyler PA. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II: The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. Int J Invertebr Reprod 6, 271-283.
- Grant CM and Creese RG. 1995. The reproductive cycle of the tuatua-*Paphies subtriangulata* (Wood, 1828), in New Zealand. J Shellfish Res 14, 287-292.
- Gosling EM. 2003. Bivalve molluscs: biology, ecology and culture. Fishing News Books,

- Oxford. 443 pp.
- Hadfield AJ and Anderson DT. 1988. Reproductive cycle of the bivalve mollusks *Anadara trapezia* (Deshayes), *Venerupis crenata* Lmark and *Anomia descripta* Iredale in the Sydney region. Aust J Freshwater Res 39, 649-660.
- Hamaguchi M, Suzuki N, Usuki H and Ishioka H. 1998. *Perkinsus* protozoan infection in short-necked clam *Tapes (=Ruditapes) philippinarum* in Japan. Fish Pathol 33, 473-480.
- Heffernan PB, Walker RL and Carr JL. 1989. Gametogenic cycles of three bivalves in Wassaw Sound, Georgia: I. *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). J Shellfish Res 8, 51-60.
- Hofmann EE, Powell EN, Klinck JM and Wilson EA. 1992. Modeling oyster populations III, Critical feeding periods, growth and reproduction. J Shellfish Res 11, 399-416.
- INNOVATIVE. 1993. Research & Publications. Retrieved from <http://www.innovativeaqua.com/> on May 10.
- Jasim MdU. 2008. Quantitative reproductive ecology of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Korean waters. Ph. D. Thesis, University of Jeju, Jeju, Korea.
- Jasim MdU. 2010. Seasonal changes in *Perkinsus olseni* infection and gametogenesis in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from Seonjaedo Island in Incheon, off the west coast of Korea. Journal of the World Aquaculture Society 41(1), 93-101.
- Jung YH. 2005. Ecological studies and spatial patterns of macrobenthos on tidal flat around Anmyon-do. MS. Thesis, University of Soonchunhyang, Asan, Chungnam, Korea.
- Kang CK, Kang YS, Choy EJ, Kim DS, Shim BT and Lee PY. 2007. Condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of the Manila clam, *Tapes philippinarum* in natural and newly created sandy habitats of the southern coast of

- Korea. J Shellfish Res 26(2), 401-412.
- Kang CK, Park MS, Lee PY, Choi WJ and Lee WC. 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. J Shellfish Res 19(2), 771-778.
- Kang DH, Ahn IY and Choi KS. 2003a. Quantitative assessment of reproductive condition of the Antarctic clam, *Laternula elliptica* (King & Broderip), using image analysis. Invertebr Reprod Dev 44, 71-78.
- Kang DH, Ngo TTT, Koh KJ and Choi KS. 2004. Seasonal changes in gonadal development of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* from Shi-Heung-Ri, Jeju, Korea. J of Aquaculture 17(1), 81-88.
- Kang DH, Park HS, Yi SK and Choi KS. 2005. Reproductive condition of the tropical Balcklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus 1758) from Chuuk lagoon, federated state of Micronesia during the summer months in 2003. Ocean and Polar Research 27(3), 351-358.
- Kang SG, Choi KS, Bulgakov AA, Kim Y and Kim SY. 2003b. Enzyne-linked immunosorbent assay (ELISA) used in quantification of reproductive output in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Korea. J Exp Mar Biol Ecol 282, 1-21.
- Kanti A, Heffernan PB and Walker RL. 1993. Gametogenic cycle of the southern surf clam, *Spisula solidissima* similes (Say, 1882) from St. Catherines Sound, Georgia. J Shellfish Res 12, 255-261.
- Kautsky N. 1982. Quantitative studies on gonad cycle, fecundity, reproductive output and recruitment in a Baltic *Mytilus edulis* population. Mar Biol 68, 143-160.
- Keck RT, Maurer D and Lind H. 1975. A comparative study of the hard clam gonad

- developmental cycle. Biol Bull (Woods Hole) 148, 243-258.
- Kennedy VS and Krantz LB. 1982. Comparative gametogenic and spawning patterns of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) in central Chesapeake Bay. J Shellfish Res 2, 133-140.
- Kennedy VS, Newell RIE and Eble. 1996. The eastern oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College Publication UM-SG-TS-TS-96-01. 734 pp.
- Kim HJ. 2005. A comparative study on the growth, spawning and recruitment of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* according to their environmental factors in Seonjaedo, Incheon, Korea. MS Thesis, University of Inha, Incheon, Korea.
- Lango-Reynoso F, Chávez-Villalba F, Cochard JC and Pennec ML. 2000. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture 190, 183-199.
- Lawrence DE and Scott GI. 1982. The determination and use of condition index of oysters. Estuaries 5, 23-27.
- Lee JY. 2010. Temporal variation of *Perkinsus olseni* infection among Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) transplanted from low infection area to high infection area on the western coast of Korea. MS. Thesis, University of Jeju, Jeju, Korea.
- Lee RF & Heffernan PB. 1991. Lipids and proteins in eggs of eastern oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin) and northern quahogs *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1785). J Shellfish Res 10, 203-206.
- Liang YB, Zhang XC, Wang LJ, Yang B, Zhang Y and Cai CL. 2002. Prevalence of *Perkinsus* sp. in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, along the northern coast of the Yellow sea in China. Oceanologica et Limnologia Sinica 32, 502-511 (in Chinese with English abstract).

- Loosanoff VL. 1942. Seasonal gonadal changes in the adult oysters, *Ostrea virginica*, of Long Island Sound. Biol Bull 82, 195-206.
- Lucas A. 1982. Evaluation of reproductive effort in bivalve molluscs. Malacologia 22, 183-187.
- Mackin JG and Ray SM. 1954. Studies on the effect of infection by *Dermocystidium marinum* on ciliary action in oysters (*Crassostrea virginica*). Proc Natl Shellfish Ass 45, 168-181.
- Marin MG, Moschino V, Deppieri M and Lucchetta L. 2003. Variations in gross biochemical composition, energy value and condition index of *T. philippinarum* from the Lagoon of Venice. Aquaculture 219, 859-871.
- Massapina C, Joaquim S, Matias D and Devauchelle N. 1999. Oocyte and embryo quality in *Crassostrea gigas* (Portuguese strain) during a spawning period in Algarve, South Portugal. Aquat Living Resour 12, 327-333.
- Ngo TTT and Choi KS. 2004. Seasonal changes of *Perkinsus* and *Cercaria* infections in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* from Jeju, Korea. Aquaculture 239, 57-68.
- Ojea J, Pazos AJ, Martinez D, Novoa S, Sanchez JL & Abad M. 2004. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. Aquaculture 238, 451-468.
- Park KI. 1999. Occurrence of *Perkinsus* sp. in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* and development of diagnostic methods. MS. Thesis, University of Jeju, Jeju, Korea.
- Park KI, Choi JW and Choi KS. 2003. Quantification of reproductive output of the Butter clam, *Saxidomus purpuratus* (Sowerby, 1852) using Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Ocean and Polar Research 25, 249-256.
- Park KI and Choi KS. 2001. Spatial distribution of the protozoan parasite *Perkinsus* sp. found

- in the Manila clams, *Ruditapes philippinarum*, in Korea. *Aquaculture* 203, 9-22.
- Park KI and Choi KS. 2004. Application of enzyme-linked immunosorbent assay for studying of reproduction in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia) I. Quantifying eggs. *Aquaculture* 241, 667-687.
- Park KI, Choi KS and Choi JW. 1999. Epizootiology of *Perkinsus* sp. found in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Komsoe Bay, Korea. *J Kor Fish Soc* 32, 303-309.
- Park KI, Figueras A and Choi KS. 2006. Application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the study of reproduction in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia): II. Impacts of *Perkinsus olseni* on clam reproduction. *Aquaculture* 251, 182-191.
- Park KI, Park JK, Lee J and Choi KS. 2005. Use of molecular markers for species identification of Korean *Perkinsus* sp. isolated from Manila clams *Ruditapes philippinarum*. *Dis Aquat Org* 66, 255-263.
- Park KI, Tautsumi H, Hong JS and Choi KS. 2008. Pathology survey of the short-neck clam *Ruditapes philippinarum* occurring on sandy tidal flats along the coast of Ariake Bay, Kyushu, Japan. *J Invert Pathol* 99, 212-219.
- Perdue JA and Erickson G. 1984. Acomparison of the gametogenic cycle between the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the Suminoe oyster *Crassostrea rivularis* in Washington State. *Aquaculture* 37, 231-237.
- Pouvreau S, Gangnery A, Tiapari J, Lagarde F, Garnier M and Bodoy A. 2000a. Gametogenic cycle and reproductive effort of the tropical blacklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Bivalvia: Pteriidae), cultivated in Takapoto Atoll (French Polynesia). *Aquat Living Resour* 13, 37-48.
- Pouvreau S, Bacher C and Héral. 2000b. Ecophysiological model of growth and reproduction

- of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera*: potential applications for pearl farming in French Polynesia. *Aquaculture*, 186, 117-144.
- Rainer JS and Mann R. 1992. A comparison of methods for calculating condition index in eastern Oysters, *Crassostrea virginica* (GMELIN, 1791). *J Shellfish Res* 11(1),55-58.
- Robert R, Trut G and Laborde JI. 1993. Growth, reproduction and gross biochemical composition of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in the Bay of Arcachon, France. *Mar Biol* 116, 291-299.
- Robinson AM and Breese WP. 1982. The spawning season of four species of clams in Oregon. *J Shellfish Res* 2, 55-57.
- Royer J, Segueineau C, Park KI, Pouvreau S, Choi KS and Costil K. 2008. Gametogenic cycle and reproductive effort assessed by two methods in 3 age classes of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, reared in Normandy. *Aquaculture* 277, 3136-320.
- Sastry AN. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: A.C. Giese & J.S. Pearse, editors. *Reproduction of marine invertebrates. Vol. V. Molluscs: pelecypods and lesser classes.* New York: Academic Press. p. 131.
- Shim JH and Yeo HG. 1988. Spatial and temporal variations of phytoplankton in Chonsu Bay. *The Journal of the Oceanological Society of Korea* 23(3), 130-145.
- Shin SH. 1996. Growth and production of short-necked clam (*Tapes philippinarum*: Bivalvia) in Kwangyang Bay. MS. Thesis, Yosu National Fisheries University, Yosu, Korea, 118 pp.
- Son PW and Kim EJ. 2006. Oogenesis and reproductive cycle in *Ruditapes philippinarum* on the west coast of Korea. *Korea Journal of Malacology* 22(1), 51-61.
- Soniat TM 1996. Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of eastern oysters in the Gulf of Mexico. *J Shellfish Res* 15(1), 35-43.

- Starr M, Himmelman JH and Therriault JC. 1990. Direct coupling of marine Invertebrate spawning with phytoplankton blooms. *Science* 247, 1071-1074.
- Takahashi M, Yoshinaga T, Waki T, Shimokawa J and Ogawa K. 2009. Development of a PCR-RFLP method for differentiation of *Perkinsus olseni* and *P. honsuensis* in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Fish Pathology* 44(4), 185-188.
- Tirado C and Salas C. 1998. Reproduction and fecundity of *Donax trunculus* L., 1758 (Bivalvia: Donacidae) in the littoral of Malaga (Southern Spain). *J Shellfish Res* 17, 169-176.
- Toba M and Miyama Y. 1991. Gonadal development and spawning induction in artificially conditioned Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57, 1269-1275.
- Toba M and Miyama Y. 1994. Relationship of size to gonadal maturation and spawning in artificially conditioned Manila clams. *Nippon Suisan Gakkaishi* 60(2), 173-178.
- Thompson RJ, Newell RIE, Kennedy VS and Mann R. 1996. Reproductive process and early development In: V.S. Kennedy, R.I.E. Newell and A.F. Eble, Editors, *The Eastern Oyster Crassostrea Virginica*, A Maryland Sea Grant Book, Maryland, USA (1996), pp. 335-370.
- Urrutia MB, Ibarrola I, Iglesias JIP and Navarro E. 1999. Energetics of growth and reproduction in a high-tidal population of the clam *Ruditaps decussates* from Urdaibai Estuary (Basque Country, N. Spain). *J Sea Res* 42, 35-48.
- Villalba AK, Reece K, Ordas MC, Casas SM and Figueras A. 2004. Perkinsosis in mollusks: a review. *Aquat Living Resour* 17, 411-432.
- Widdows J. 1985. Physiological Measurements. In: B. L. Bayne, editor. *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. New York: Praeger Scientific. Pp. 3-45.

Won MS. 1994. Seed production and environmental influence on productivity of the shortnecked clam, *Ruditapes philippinarum*. Ph. D. thesis, Busan National Fisheries University, Busan. Korea, 220 pp.

Yang HS, Kang DH, Park HS and Choi KS. 2011. Seasonal changes in reproduction and biochemical composition of the cockle, *Fulvia mutica* Reeve (1884), in Cheonsu Bay off the west coast of Korea. J Shellfish Res 30(1), 95-101.

Yang HS, Park KJ and Choi KS. 2010. Pathologic survey on the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve 1850) from Haeju off the western coastal yellow sea. Ocean Science Journal 45(2), 93-100.

Zhang G and Yan X. 2006. A new three-phase culture method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in northern China. Aquaculture 258, 452-461.

감사의 글

많은 분들의 도움과 조언을 통해 대학원 박사 과정을 통과하였습니다. 이에 이번 졸업 논문을 통해서 감사의 인사를 드리고자 합니다.

먼저, 지도교수님이신 최광식 교수님께 깊은 감사의 인사를 드립니다. 최광식 교수님께서서는 저의 석사과정과 박사과정 동안 따끔한 충고와 가르침을 통해 너무나 부족했던 제가 여기까지 올 수 있게 해주셨습니다. 교수님의 이러한 지도로 인해 현재의 제가 이 자리에 설 수 있는 것이라 생각합니다. 또한, 학위 논문 심사위원장 이신 미국 Rutgers University에 계신 Susan E. Ford 교수님, 부위원장 이신 군산대학교 박경일 교수님 그리고 제주대학교 이경준 교수님과 김기영 교수님께도 깊은 감사를 드립니다. 이 밖에 박사학위 과정동안 수업 및 세미나를 통해 많은 가르침을 전해주시는 이기완, 송춘복, 전유진, 이제희, 여인규, 허문수, 정준범 교수님들께도 진심으로 감사를 전하는 바입니다.

제가 제주대학교에 오게된 계기를 마련해준 한국해양연구원 박흥식 박사님께도 깊은 감사의 인사를 드립니다. 그리고 학부과정 중 짧은 연구원 생활이었지만 도움을 주신 노충환, 명정구, 강래선, 장요순, 오승용, 백상규 박사님들께도 감사드리며 안면도 바지락 현장 채집을 도맡아 해준 정윤환, 윤병선 친구들에게도 고마운 마음을 전합니다.

국립수산과학원 갯벌연구소에 계신 박광재 박사님께도 감사의 인사를 전합니다. 박사학위 과정 주 테마가 되었던 경기도와 안면도 바지락을 4년동안 매달 채집해 주신 노력으로 인해 학위 논문을 작성할 수 있었습니다. 앞으로 학위논문과

관련된 논문 투고를 통해 고마움을 보답하고자 하니 많은 관심 부탁드립니다.

학위논문 작성에 많은 분석이 필요하였습니다. 실험실 동료들이 없었다면 혼자 이뤄내기 힘들었을거라 생각이 듭니다. 실험 분석에 도움을 준 켄, 모스타피주, 이지연, 강경표, 홍현기, 정희도, 이희중, 박아름이, 레탄크영, 김영민, 박천만 및 멀리 하늘에서 응원해준 김봉규 군에게도 깊은 감사 드립니다. 실험실 선배님인 한국해양연구원 강도형 박사님과 친구 강현실 박사의 진심어린 조언 또한 저를 힘내게 하였습니다.

저 혼자 멀리 제주까지 보내시고 걱정 많으셨던 아버지와 어머니께도 소중한 결실로 보답하고자 합니다. 부모님의 큰 사랑으로 제가 여기까지 올 수 있었습니다. 언제 어디서나 자랑스럽고 떳떳한 큰아들이 되겠습니다.

마지막으로 3년 동안 열심히 옆에서 자리를 함께 해준 안나에게도 고마움을 전합니다.

이제 사회로 나갈 수 있는 한발을 내딛었습니다. 앞으로 더 큰 사람이 되기 위해 열심히 노력하겠습니다. 항상 따끔한 충고와 조언 부탁드립니다.