

미세조류 3종에 따른 피조개 *Scapharca broughtonii*의 생식소 발달과 성숙

민병희, 김병학¹, 김성연², 신윤경³, 허성범⁴

부산광역시 수산자원연구소, ¹국립수산과학원 남동해수산연구소, ²국립수산과학원 연구기획과, ³국립수산과학원 전략양식연구소, ⁴부경대학교 해양바이오신소재학과

Effect of Three Microalgal Species on Gonadal Development and Sex Maturation of Ark Shell, *Scapharca broughtonii*

Byeong-Hee Min, Byeong-Hak Kim¹, Sung Yeon Kim², Yun Kyung Shin³ and Sung Bum Hur⁴

Busan Marine Fisheries Resources Research Institute, Busan 618-814, Korea

¹Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Tongyeong 650-743, Korea

²Research and Development Planning Division, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

³Aquaculture Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

⁴Department of Marine Bio-materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

ABSTRACT

Even though ark shell, *Scapharca broughtonii* is commercially important species, its artificial seed production is not yet fully developed. This study was carried out to understand the effect of three microalgal species on gonadal development and sex maturation of *S. broughtonii* in terms of broodstock management and food organism. *Isochrysis galbana*, *Phaeodactylum tricornutum* and *Tetraselmis tetraathele* were supplied to *S. broughtonii* broodstock in single or mixed. And condition index, gonadal development, sexual maturation and survival of the broodstock were analysed. After 45 rearing days, frequency of ripe stage of gonadal phases, rate of induced sexual maturation and survival of *S. broughtonii* broodstock fed mixed diet with 3 microalgal species or single diet of *T. tetraathele* were the highest.

Key words: Ark Shell, *Scapharca broughtonii*, Microalgal Species, Gonadal Development, Sex Maturation

서론

한국의 피조개 *Scapharca broughtonii*는 질적으로 우수하나 자연채묘의 부진과 양식장 환경악화 등으로 양식 생산량은 1990년 17,758톤에서 2009년 1,714톤으로 급격히 감소하고 있다. 따라서 인공종묘생산 기술개발이 시급하다. 인공종묘생산은 1991년부터 남해수산종묘배양장을 중심으로 기술개발에 착수하였으나 아직 대량 생산 체제가 확립되지 못한 실정이다. 안정적인 인공종묘생산을 위하여 어미의 성 성숙을 보다 체계적으로 파악하여 성숙 촉진 및 억제에 의한 성숙관리 기법

개발이 필요하다.

피조개의 성숙에 관한 연구로는 일본산 피조개의 연령별 생식세포 발달과정과 산란시기의 차이가 보고된 바 있다 (Numaguchi, 1996). 한국에서는 서식환경의 차이에 따른 피조개의 성장과 산란시기의 차이 (Park et al., 1998, 2001) 및 수온조절에 의한 피조개의 인위적인 성 성숙 유도 (Kim et al., 2006) 가 보고된 바 있으나, 인공종묘생산을 위한 성숙 촉진 및 억제에 관련된 보고는 미흡한 실정이다.

본 연구는 양질의 피조개 수정란 확보와 안정적 종묘생산을 위하여 피조개 모패의 먹이생물로 미세조류 3종을 공급하여 먹이생물에 따른 피조개 모패의 비만도, 생식소발달, 성숙유도율 및 생존율 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 어미관리

실험에 사용한 피조개 어미는 경남 진해만산 1,200마리 (평

Received June 5 30, 2011 ; Accepted June 26, 2011
Corresponding author: Hur, Sung Bum
Tel: +82 (51) 629-5911 e-mail: hurs@pknu.ac.kr
1225-3480/24388

미세조류 3종에 따른 피조개의 생식소 발달과 성숙

군 각장 65.3 ± 3.61 mm) 를 2007년 4월 30일 실내수조로 수송하여 5월 3일부터 자연수온 (14.5℃) 에서 매일 0.5-0.7℃씩 수온을 서서히 상승시켜 20℃의 설정수온까지 이르게 하였다.

실험 기간은 2007년 5월 10일부터 6월 26일까지 45일간이었고, 사육방법은 FRP 사각수조 (용량: 1.5 m³) 에 사각형 플라스틱 바구니 (크기: 80 × 60 × 60 cm) 3개를 띄워서 각각 100마리씩 총 300마리 수용하였다. 수온조절은 생물환경 조절장치 (Aquatron YW-0275675, Yoowon Electronic) 를 사용하였다. 실내 조도는 자연 채광으로 낮에는 100 lux 이하로 조절하였으며, 사육수조의 유수량은 1일 4-5회전 되게 조절하였다.

먹이생물은 한국해양미세조류은행 (KMMCC) 에서 분양받아 배양한 *Isochrysis galbana* (KMMCC H-2), *Tetraselmis tetrathele* (KMMCC P-2), *Phaeodactylum tricornutum* (CCMP 1327) 의 3종류로 먹이생물의 배양은 500 ml 삼각 플라스크에 원종을 보존하였고, 5 l 아크릴수조에 원종을 접종 배양 후 이를 30 l 투명용기에 재접종하였다. 대량배양은 500 l 아크릴수조에서 실내 배양한 후 5톤 FRP 수조에서 배양하였다. 30 l 규모의 배양까지는 121℃, 1.5기압에서 15분간 고압멸균한 해수를 사용하였고, 500 l 이상에서 여과해수는 차아염소산나트륨 (NaClO, sodium hypochloride) 을 해수 m³ 당 100 ppm으로 처리한 뒤 24시간 후에 티오황산나트륨용액 (Na₂S₂O₃·5H₂O, sodium thiosulphate) 으로 중화 처리하여 사용하였다.

30 l 규모의 배양까지는 Conwy 배지 (Walne, 1974) 를 사용하였으며, 500 l 이상의 대량배양에서는 이용성 및 비용 절감 면에서 농업용 비료를 해수 1톤 당 복합비료 (N:P:K = 21%:17%:17%, 남해화학) 40 g, 요소비료 (N = 46%, 남해화학) 60 g를 용해하여 이용하였고, 규조류 배양 시에는 규산 나트륨용액 (Na₂SiO₃·6H₂O; 증류수 1 l 에 100 g 용해) 을 배양수 1 l 당 1 ml 첨가하였다.

먹이공급은 각 미세조류를 단독 또는 혼합 (동일 비율로 혼합) 하여 20×10^4 세포/ml의 먹이농도가 유지될 수 있도록 자동공급장치로 조절하여 공급하였다.

2. 비만도

성숙 유도중인 피조개 어미의 성숙과 관련한 부위별 크기 변화를 조사하기 위하여, 15일 간격으로 30마리씩 채취하여 각장 (shell length, SL), 각고 (shell height, SH) 및 각폭 (shell breadth, SB) 은 vernier caliper로 0.1 mm까지 측정하였고, 전중 (total weight, TW), 육중 (flesh weight, FW) 및 각중 (shell weight, SW) 은 전자저울로 0.01 g까지 측정하였다.

비만도 조사는 Akashige and Fushimi (1992) 의 방법에

따라, 아래와 같이 연체부지수 (flesh weight index) 와 각부용적지수 (volumetric index) 의 공식을 사용하여 측정하였다.

$$\text{Flesh weight index} = \frac{\text{FW (g)}}{\text{SW (g)} + \text{FW (g)}} \times 100$$

$$\text{Volumetric index} = \frac{\text{FW (g)}}{\text{SL (mm)} \times \text{SH (mm)} \times \text{SB (mm)}} \times 1,000$$

3. 생식소 발달

성숙 유도중인 피조개 어미의 조직학적 변화를 관찰하기 위하여, 15일 간격으로 30마리씩 paraffin 절편법에 의해 조직 표본을 제작하였다. Harris hematoxylin과 0.5% eosin으로 염색하여 암수 생식세포의 발달 및 성숙정도를 광학현미경으로 판정하였다. 어미의 생식소 발달단계는 초기활성기, 후기활성기, 완숙기, 부분산란기 및 퇴화/휴지기의 5단계로 구분하였다.

4. 성숙유도율

생존율은 매일 오전 10시에 폐사된 개체수를 계수하여 환산하였고, 시험 시작일부터 자연 방정·방란 일까지를 성숙소요일로 하였으며, 반응 개체수를 계수하여 성숙 유도율을 조사하였다.

모든 실험은 3회 반복하였고, 결과는 one-way ANOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955) 를 실시하여 평균 간의 유의성 (P < 0.05) 을 SPSS program (Ver. 10.1) 으로 검정하였다.

결 과

1. 비만도

미세조류별 피조개 어미의 연체부지수는 사육초기에는 변화가 없었으나, 사육 15일째 3종 미세조류의 혼합공급구 (I + P + T: *I. galbana* + *P. tricornutum* + *T. tetrathele*) 의 연체부지수가 58.49로 다른 먹이 단독공급구에 비해 높게 나타났다. 사육 30일째 연체부지수는 혼합공급구에서 64.17로 가장 높았다. 사육 45일째 연체부지수는 급격히 증가하는 경향을 보여 혼합공급구에서 67.58로 *P. tricornutum* 또는 *I. galbana* 단독공급구 보다 유의하게 높았으나 (P < 0.05), *T. tetrathele* 단독공급구 (64.05) 와는 유의한 차이가 없었다. 각부용적지수는 실험구 간에 유의한 차이가 없었다 (Fig. 1).

2. 피조개의 생식소 발달

피조개 어미의 생식소 발달단계는 생식세포의 형태, 크기 및

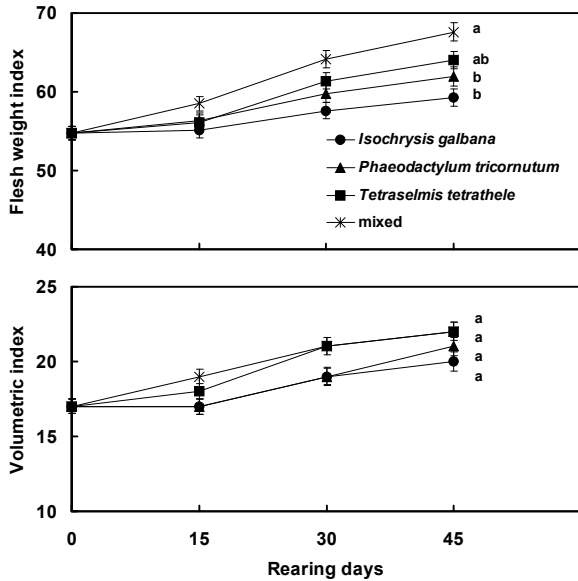


Fig. 1. Flesh weight index (up) and volumetric index (bottom) of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species. Values on the final rearing day not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$, mixed : *Isochrysis galbana* + *Phaeodactylum tricoratum* + *Tetraselmis tetrathele*).

분화의 조직학적 특징을 토대로 초기활성기, 후기활성기, 완숙기 및 부분산란기의 4단계로 구분할 수 있었다.

1) 생식소 발달단계

암컷의 경우, 초기활성기 (early active stage) 에 난소는 크고 작은 수많은 원형 또는 타원형의 난자형성소낭 (oogenic follicle) 으로 구성되어 있으며, 초기 난모세포들의 난경은 15 μm 내외로 호염기성의 세포질 내에 뚜렷한 인을 가진 핵이 대부분을 차지하였고, 소낭의 벽에서 활발히 증식되고 있었다 (Fig. 2A). 후기활성기 (late active stage) 에 난자형성소낭 벽은 초기활성기에 비해서 얇아져 있었으며, 소낭의 면적은 증가되었다. 이 시기에는 주로 직경 크기가 40 μm 내외인 호산성의 세포질을 가지는 난모세포들이 난병으로 연결되어 내강 쪽으로 발달된 양상을 보였다 (Fig. 2B).

완숙기 (ripe stage) 에 호산성의 미세한 난황과립으로 채워진 난모세포들이 난병에서 분리되어 소낭 안쪽까지 분포하며, 소낭 내강에는 난경이 60 μm 내외인 완숙난모세포로 가득 채워져 최대로 비후해 있었다. 이들 완숙난모세포들의 핵은 세포질의 절반을 차지하고 있었다 (Fig. 2C). 부분산란기 (partially spawned stage) 에 난소에서는 산란기에 이르러 난소소낭의 내강중앙에 자리 잡고 있던 완숙난모세포들이 방출되므로 소낭의 내강은 거의 빈 공간으로 되고, 일부 방출 중

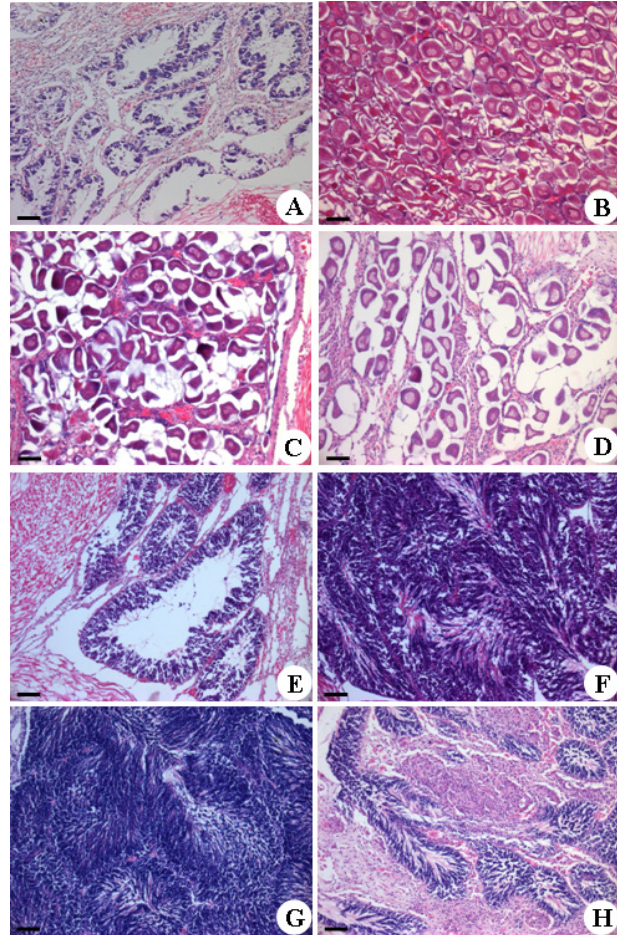


Fig. 2. Photomicrographs of gonadal phases of the female (A-D) and male (E-H) of *Scapharca broughtonii*. **A**, section of oogenic follicles in the early active stage; **B**, section of the ovarian sacs in the late active stage; **C**, section of the ovarian sacs in the ripe stage; **D**, section of the ovarian sacs in the partially spawned stage; **E**, section of testicular tubules in the early active stage; **F**, section of the tubules in the late active stage; **G**, section of the tubules in the ripe stage; **H**, section of the tubules in the partially spawned stage. Scale bar = 50 μm .

인 난모세포가 나타났다 (Fig. 2D).

수컷의 경우, 초기활성기에 정소에는 새로운 세관이 형성되고, 이들의 생식상피 위에서 정원세포가 활발히 분열하여 그 수가 증가하며, 정자형성소낭 (spermatogenic follicle) 벽에서 대부분의 정원세포들과 일부 정모세포들의 불규칙한 배열상을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2E). 후기활성기에 정자형성소낭은 난소에서와 같이 얇아진 상태였으며, 소낭벽 근처에서는 일부 정원세포들이 관찰되었고, 소낭의 내강 쪽은 대부분 정원세포보다 크기가 큰 작은 호염기성의 정모세포들이 차지하고 있었다 (Fig. 2F).

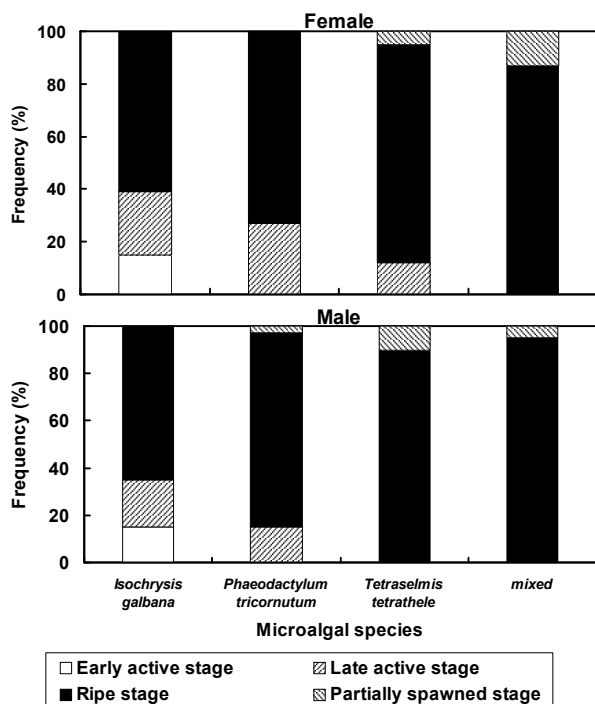


Fig. 3. Frequency of gonadal phases of *Scapharca broughtonii* fed different microalgal species during 45 days (mixed : *Isochrysis galbana* + *Phaeodactylum tricornutum* + *Tetraselmis tetrahele*).

완숙기에 성숙분열을 마친 정세포가 생식상피 주변에 층만 되었고, 성숙 변태한 정자들이 세정관을 채움으로써 물결모양의 흐름을 이루었다. 성숙한 정자의 두부는 강한 염기성 반응을 나타내었으며, 소낭의 벽쪽을 향하고 있었고, 산성 색소에 염색되는 미부는 중앙내강을 향하고 있었다 (Fig. 2G). 부분산란기에 정소에서는 정자의 방출이 일어나면서 물결모양의 정자배열은 없어지고 세관 내에 빈 곳이 생겨났으며, 일부 방출 중인 정자가 관찰되는 방정기의 조직상을 보였다. 이 시기에 정자형성소낭벽 근처에서는 다수의 정원세포와 정모세포들을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2H).

2) 미세조류 종류에 따른 생식소 발달단계별 출현율

미세조류 종류에 따른 초기활성기 출현율은 암컷과 수컷의 경우 사육 45일 경과 후 *I. galbana* 단독공급구에서만 15%로 나타났다. 암컷의 경우, 사육 45일 경과 후 *P. tricornutum* 단독공급구에서 후기활성기 출현율은 27%로 가장 높게 나타났으나 *I. galbana* 단독공급구의 24%와 유의한 차이가 없었고, *T. tetrahele* 단독공급구에서는 12%로 유의하게 낮게 나타났다 ($P < 0.05$). 혼합공급구에서는 후기활성기가 관찰되지 않았다. 혼합공급구에서 완숙기 출현율이 87%로 유의하게 가장 높았고 ($P < 0.05$), *T. tetrahele* 단

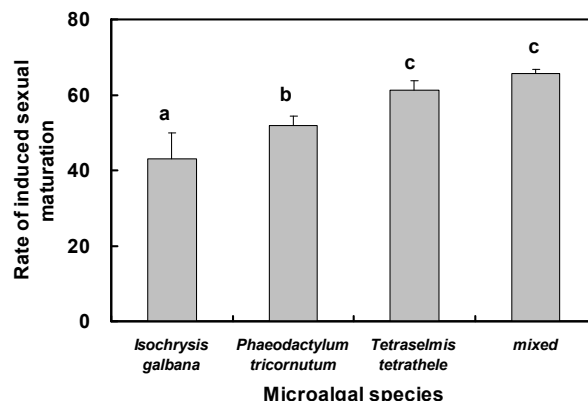


Fig. 4. Rate of induced sexual maturation of *Scapharca broughtonii* broodstock fed single and mixed microalgae during 45 days. Values (three replication) on the bar not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$, mixed : *Isochrysis galbana* + *Phaeodactylum tricornutum* + *Tetraselmis tetrahele*).

독공급구는 83%로 혼합공급구와 유의한 차이가 없었으며, *P. tricornutum* 단독공급구에서 73%였으며, *I. galbana* 단독공급구의 완숙기 출현율은 61%로 유의하게 낮게 나타났다 ($P < 0.05$). 혼합공급구에서 부분산란기 출현율이 13%로 *T. tetrahele* 단독공급구의 5% 보다 유의하게 높게 나타났다 ($P < 0.05$, Fig. 3).

수컷의 경우, 후기활성기 출현율은 *I. galbana* 단독공급구에서 20%로 가장 높았고, *P. tricornutum*는 15%로 *I. galbana* 단독공급구와 유의한 차이가 없었다. 혼합공급구에서 완숙기 출현율이 95%로 유의하게 가장 높았고 ($P < 0.05$), *T. tetrahele* 단독공급구는 90%로 혼합공급구와 유의한 차이가 없었으며, *P. tricornutum* 단독공급구에서 82%였으며, *I. galbana* 단독공급구의 완숙기 출현율은 65%로 유의하게 낮게 나타났다 ($P < 0.05$). *T. tetrahele* 단독공급구의 부분산란기 출현율이 10%로 유의하게 가장 높았고 ($P < 0.05$), *I. galbana* 단독공급구에서는 부분산란기가 관찰되지 않았다 (Fig. 3).

3. 미세조류의 종류에 따른 성 성숙유도율과 생존율

미세조류의 종류에 따른 피조개 어미의 성 성숙유도율은 자연 방란·방정 후 조사한 결과, 3종의 미세조류를 혼합한 혼합공급구 (65.6%) 와 *T. tetrahele* 단독공급구가 61.1%로 *I. galbana*나 *P. tricornutum*를 단독으로 공급한 것 보다 유의하게 높았다 ($P < 0.05$, Fig. 4).

피조개 어미의 생존율은 사육기간 동안 혼합공급구 (88.3%) 와 *T. tetrahele* 단독공급구에서 83.3%로 다른 실험구 보다 유의하게 높았다 ($P < 0.05$). *I. galbana* 단독공

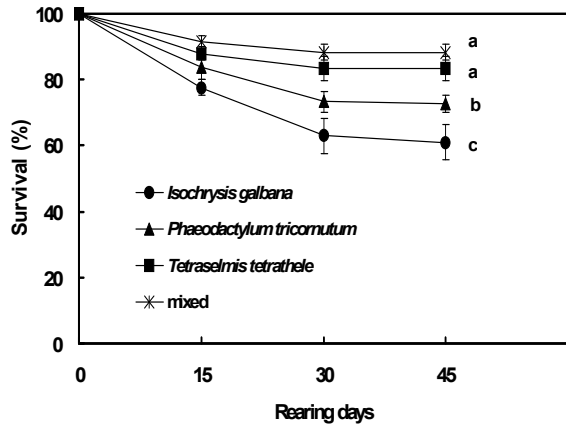


Fig. 5. Survival (%) of *Scapharca broughtonii* broodstock fed single and mixed microalgal species during 45 days. Values on the final rearing day not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$, mixed : *Isochrysis galbana* + *Phaeodactylum tricornutum* + *Tetraselmis tetrahele*).

급구는 61.0%로 유의하게 가장 낮았다 (Fig. 5).

고찰

조개류에서 생식주기 및 성 성숙은 외인성 요인 (exogenous factor) 과 내인성 요인 (endogenous factor) 의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 외인성 요인으로는 수온, 빛, 조석주기, 수심, 먹이, 밀도, 질병, 염분 및 기질 등이 있으며, 내인성 요인으로는 유전학적 요인과 내분비성 요인 등을 들 수 있는데, 수온은 이러한 여러 요인들 가운데 가장 중요하게 작용하는 요인이다 (Mackie, 1984). 본 연구에서는 수온 20°C에서 피조개 모패를 수용하여 먹이생물로서 공급한 미세조류의 종류에 따른 성 성숙을 조사하였다.

조개류에서 생식주기는 주로 생식소지수, 비만도 및 생식소 발달단계 빈도의 월 변화 등으로 구분되어 왔다 (García-Domínguez *et al.*, 1994; Marsden, 1999; Park *et al.*, 2003).

조개류의 비만도는 생식소의 발달과 함께 증가하며, 생식세포의 방출 후에는 감소한다 (Chang and Lee, 1982; Lee *et al.*, 1997). 본 연구에서 피조개 모패의 연체부지수와 각부용적지수는 사육초기에는 변화가 없었으나, 사육 15일부터 전 실험구에서 먹이생물을 활발히 섭취하여 실험 종료 시에는 연체부지수가 급격히 증가하였다.

피조개의 생식주기는 생식소지수의 월 변화와 생식소 발달단계 빈도의 월 변화를 기초로 11-3월의 비활성기, 3-5월의 초기활성기, 5-7월의 후기활성기, 6-8월의 완숙기, 8-10월의 방출 및 퇴화기로 구분할 수 있으며, 산란 및 방정은 주로 6-8

월에 일어난다 (Cheong *et al.*, 1982; Park *et al.*, 2001).

본 연구에서 서로 다른 미세조류를 단일 또는 혼합 공급한 피조개 어미의 생식소 발달단계는 생식세포의 형태, 크기 및 분화의 조직학적 특징을 볼 때 초기활성기, 후기활성기, 완숙기 및 부분산란기의 4단계로 관찰할 수 있었다. *T. tetrahele* 단일 또는 3종의 먹이생물을 혼합 공급할 경우 45일 경과 후 암컷은 83%, 수컷은 90%이상의 완숙기를 보였다.

피조개 어미의 성 성숙은 Kim *et al.* (2006) 의 수온에 의한 성숙유도에 관한 연구가 있을 뿐 먹이생물별 성숙유도에 관한 연구가 미흡한 실정이다.

Moon *et al.* (2009) 은 미세조류 3종 (*Chlorella ellipsoidea*, *T. tetrahele*, *P. tricornutum*) 을 단독 또는 혼합 공급하여 키조개 어미 성숙을 조사한 결과, 실험 종료 시 성숙유도율이 *T. tetrahele* 단독공급구에서 82.0%로 가장 높았고, *C. ellipsoidea* 공급구에서 72.0% 및 혼합공급구에서 58.0%로 나타났다. 또 키조개 어미의 생존율은 혼합공급구에서 94.4%로 가장 높게 나타났고, *P. tricornutum* 단독공급구에서 90.0%, *T. tetrahele* 단독공급구에서 83.1% 및 *C. ellipsoidea* 단독공급구에서 78.8% 순으로 나타났다 (Moon *et al.*, 2009).

그러나 본 연구에서는 미세조류 3종 (*I. galbana*, *T. tetrahele*, *P. tricornutum*) 을 단독 또는 혼합 공급하여 피조개 어미성숙을 조사한 결과, 성숙유도율은 혼합공급구에서 65.6%로 가장 높게 나타났고, 어미의 생존율도 혼합공급구에서 88.3%로 가장 높았다. 그러나 *T. tetrahele* 단독공급구는 혼합 먹이공급구와 유의한 차이가 없을 정도의 좋은 먹이효율을 보였다. 본 연구에서 일반적으로 조개류 먹이생물로 양호한 종으로 널리 알려진 *I. galbana*가 낮은 성 성숙유도율과 생존율을 보인 결과가 특이하였다.

이와 같은 결과로 보아 체란을 위한 피조개 어미의 사육은 *T. tetrahele* 단독공급 또는 *T. tetrahele*를 포함한 2-3종을 혼합하여 공급하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

요약

본 연구는 양질의 피조개 수정란 확보와 안정적 종묘생산을 위하여 피조개 모패의 먹이생물로 미세조류 3종 (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis tetrahele*, *Phaeodactylum tricornutum*) 을 단독 또는 혼합 공급하여 먹이생물에 따른 피조개 모패의 비만도, 생식소발달, 성숙유도율 및 생존율을 조사하였다. 사육 45일 경과 후 피조개 모패의 완숙기 출현율, 성숙유도율 및 생존율은 3종의 미세조류를 혼합 공급하거나 *T. tetrahele*를 단독공급한 실험구에서 가장 높았다.

REFERENCES

- Akashige, S. and Fushimi, T. (1992) Growth, survival and glycerol content of triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the waters of Hiroshima, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**: 1063-1071.
- Chang, Y.J. and Lee, T.Y. (1982) Gametogenesis and reproductive cycle of the cockle, *Fulvia mutica* (Reeve). *J. Kor. Fish. Soc.*, **15**: 241-253.
- Cheong, S.C., Kang, H.W. and Lee, J.M. (1982) Experiments on the early artificial seedling production of ark shell *Anadara broughtonii* (SCHRENCK). *Bull. Fish. Res. Dev. Agency*, **28**: 185-197.
- Duncan, D.B. (1955) Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, **11**: 1-42.
- García-Domínguez, F., García-Gasca, S.A. and Castro-Ortiz, J.L. (1994) Spawning cycle of the red clam, *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) (Veneridae) at Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, Mexico. *J. Shellfish Res.*, **13**: 417-423.
- Kim, B.H., Min, K.W., Lee, S.J., Park, K.Y., Ahn, C.M. and Min, B.H. (2006) Effect of temperature on induced sexual maturation of the ark shell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) broodstock. *Kor. J. Malacol.*, **22**: 175-182.
- Lee, J.Y., Chang, Y.J. and Lee, C.S. (1997) Reproductive cycle of surf clam, *Spisula sachalinensis*. *J. Kor. Fish. Soc.*, **30**: 132-138.
- Mackie, G.L. (1984) Bivalves. *In*: The Mollusca, Vol. 7. Reproduction, Tompa, A.S., Verdonk, N.H. and Van Den Biggelaar, J.A.M., eds. Academic Press, New York, 351-418.
- Marsden, I.D. (1999) Reproductive cycle of the surf beach clam, *Paphies donacina* (Spengler, 1973) from New Zealand. *J. Shellfish Res.*, **18**: 539-546.
- Moon, T.S., Jo, P.G., Kim, B.H., Park, K.Y., Ku, H.D., Shin, Y.K. and Lym, Y.S. (2009) Induction of sex maturation and growth in comb pen shells, *Atrina pectinata* per microalgae classes. *Kor J Malacol.*, **25**: 105-112.
- Numaguchi, K. (1996) Gonad development of the ark shell *Scapharca broughtonii*. (Schrenck) broodstock in farming groups of Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **62**: 384-392.
- Park, M.S., Lim, H.J. and Kim, P.J. (1998) Effect of environmental factors on the growth, glycogen and hemoglobin content of cultured askshell, *Scapharca broughtonii*. *J. Kor Fish Soc.*, **31**: 176-185.
- Park, M.S., Kang, C.K. and Lee, P.Y. (2001) Reproductive cycle and biochemical of the askshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) in a southern coastal bay of Korea. *J. Shellfish Res.*, **20**: 177-184.
- Park, J.J., Lee, J.Y. and Chang, Y.J. (2003) Gonadal development and gametogenic cycle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *J. Kor Fish Soc.*, **36**: 352-357.
- Walne, P.R. (1974) Culture of bivalve molluscs - 50 years experience at Conwy. The whitefriars press Ltd., London and Tondridge, 173pp.