

배추흰나비 (*Pieris rapae* L.)의 생식소에 관한 연구

Ⅲ. 前蛹에서 蛹으로 變態에 따른 精巢의 微細構造에 관하여

李根玉 · 金昌煥 · 金宇甲

A study on the Gonad in *Pieris rapae* L.

Ⅲ. Ultrastructural study on the testis during the metamorphosis from prepupa to pupa.

Lee K.O., C.W. Kim, W.K. Kim

Abstract

Ultrastructural changes of the testis in *Pieris rapae* L. observed under the electron microscope during the metamorphosis from prepupa to pupa.

The peritoneal sheath, epithelium of the follicle and cuticle have the maximum thickness at prepupa stage and afterthen gradually they began to degenerate.

The epithelium of the follicle which formed by invagination of the peritoneal sheath is differently differentiated from the peritoneal sheath and it is similar to the adult's from the pupa 2 days.

The cell organelles begin to increase in the cytoplasm of the cyst cell enclosed the sperm bundles at pupa 3 hrs.

The electron densed granules which observed in the peritoneal sheath and epithelium of the follicle at prepupa seem to be related with fusion of the testis.

서 론

곤충의 정소의 미세구조에 관하여는 Menon(1969)이 *Tenebris molitor*와 *Zophobas rugipes*로, Szöllösi 등(1979)은 locust를 재료로 apical cell을, Hardy 등(1979)은 *Drosophila melanogaster*로 germinal proliferation을 중점적으로 연구 보고하였고, Vitomska(1967)는 *Hypoderma bovis*의 생식세포의 발생과정을 연구 보고한 바 있다. 또한 Lee 등(1980)은 소금쟁이의 精子形成에 관한 연구를 한 바 있다. Lepidoptera의 경우는 Ruckes(1919)가 male genital system을 연구 보고한 이래 여러 종류의 Lepidoptera의 생식계의 형태학적 보고가 있다. Norris(1932)는 *Ephestias*와 *Plodia*의

생식계의 형태에 관하여, 또한 Williams(1940)는 5 종류의 lasiocampid moth의 내부 생식계에 대해 보고한 바 있으며, Phillips(1971)는 Lepidoptera의 정자에서 laciniate appendage의 형태형성에 대한 연구를 한 바 있고 Kim 등(1980, 1982)은 *Pieris rapae* 성충의 정소에 대한 微細構造와 幼虫期の 精巢에 관해 연구 보고한 바 있다. 또한 여러가지 昆虫의 精子의 構造 및 그 形態形成에 對하여 電子顯微鏡的으로 비교 관찰 되어 왔다(Phillips 1970, Warner 1971, Baccetti 등 1974, Tokuyasu 1974). 이와 같이 昆虫 精巢의 부분적인 微細構造와 精子形態形成 과정에 관하여는 많은 보고가 있다. 이에 본 실험은 배추흰나비의 변태기에 따른 精巢의 微細構造의 차이를 관찰하였기에 보고하

고자 한다.

재료 및 방법

비닐하우스에서 사육중인 배추흰나비(*Pieris rapae*)의 幼虫을 실험실로 옮겨서 前蛹期, 蛹期の 것을 실험 재료로 사용하였다. 해부 현미경下에서 精巢를 적출하여 paraformaldehyde-glutaraldehyde에 前固定한 후 Millonig's phosphate buffer(pH7.3)에서 수회 수세한 후 1% OsO₄에 後固定하여 同 완충용액으로 수세한 후 acetone 농도 상승 순으로 脫水하여 Epon-Araldite mixture에 포매하였다. 포매된 재료는 Sorvall MT-2 Ultramicrotome으로 Semi-section하여 1% toluidine blue-borax solution으로 염색하여 부위확인 후에 은색 절편을 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 후 Hitachi HS-7S形(50kv) 電子顯微鏡으로 관찰하였다.

결 과

前蛹 直後の 精巢는 제 6~7번째 복부마디의 등쪽에 위치하고 있었으며 큐티클이 약 4 μ m로 비후되어 있었고(Fig. 1), 精巢를 둘러싸고 있는 腹膜鞘는 그 두께가 약 47 μ m이었다. 이러한 복막초는 전자밀도가 높은층과 낮은층으로 관찰되었으며 액포가 고르게 분산되어 분포하고 있었다. 또한 미토콘드리아는 전자밀도가 비교적 높았으며 filament形이었다. 핵은 구형으로 관찰되었고 글리코겐은 전체적으로 흩어져 분포하고 있었다.

蛹 3時間(Fig. 2)에는 精巢가 서로 융합되어 있었고 큐티클은 약 2 μ m이었으며 복막초는 약 36 μ m이었다. 電子密度가 전체적으로 높고 액포가 크고 많으며 filament가 없는 층(a), 또한 전자밀도는 높으나 액포의 수가 적으며 filament가 있는 층(c), 그리고 전자밀도가 낮은 층(b) 등으로 구분되어 관찰되었으며 미토콘드리아는 구형이었다.

蛹 1日이 되면(Fig. 3), 복막초는 그 두께가 약 35 μ m이었고 큐티클은 약 1.5 μ m이었으며 액포는 매우 조밀하게 밀착되어 분산되어 있었다. 또한 被囊細胞와 인접한 쪽의 전자밀도가 높은 세포층은(화살표) 다른 층보다 글리코겐이 다수 분포하고 있었고 침상형의 구조물이 다수 관찰되었다. 蛹 2日(Fig. 4)에는 복막초의 두께가 약 31.8 μ m이었고 전체적으로 電子密度가 고르게 나타났다. 핵은 길게 신장되어 있었고 고형화 되어 있었다.

臚胞上皮는 精巢內部로 깊숙히 뻗어 들어가 여포를 둘러싸고 있는데 前蛹 直後에는 그 두께가 약 36 μ m이었고 전자밀도가 높은 과립이 다수 出現하였고 RER이

관찰되었으며 氣管이 다수 분포하고 있었으며 글리코겐이 고르게 산재하고 있었다. 蛹 3時間에는 그 두께가 26 μ m이었고(Fig. 6), 전자밀도가 높은 과립은 그 수가 현저히 감소하였다. RER이 매우 잘 발달되어 있었고 구형의 미토콘드리아가 다수 관찰되었다. 글리코겐은 전체적으로 신재하고 있었으며 氣管이 다수 관찰되었다. 蛹 1日(Fig. 7)에 여포상피는 전체적으로 전자밀도가 높게 관찰되었다. 침상형의 구조물이 다수 출현하였으며 다수의 글리코겐이 전체적으로 산재하고 있었고 구형의 액포도 다수 관찰되었다. 蛹 2日(Fig. 8)에 여포상피는 그 두께가 약 6.3 μ m이었고 핵은 길게 신장되어 있었으며 氣管이 관찰되었다.

정자다발은 被囊細胞에 의해서 둘러 싸여져 있는 데 前蛹 直後에는(Fig. 9), 정자가 점차 성숙함에 따라서 피낭세포는 그 細胞質은 신장되고 核과 細胞質의 電子密度가 전체적으로 주위보다 낮게 관찰되었으며 세포질내에는 구형의 미토콘드리아와 RER이 관찰되었고 글리코겐이 다수 관찰되었다. 蛹 3時間에는 핵이 팽대되기 시작하였으며, 미토콘드리아는 filament形으로 관찰되었고 피낭세포의 세포질에 형태 형성 중인 정자의 두부가 묻혀 있는 것이 관찰되었다(Fig. 10), 蛹 1日에는(Fig. 11), 핵은 더욱 더 팽대되고 RER이 잘 발달되어 있었고 전자밀도가 비교적 높은 구형의 미토콘드리아가 소수 존재하고 있었다. 蛹 2日에는(Fig. 12) 핵이 細胞質에 비해 현저히 컸으며 세포질내에는 작은 액포가 형성되어 있었으며 RER과 미토콘드리아가 관찰되었다.

고 찰

배추흰나비(*Pieris rapae* L.)의 유충의 精巢는 1쌍이었고 장타원형이었고 제 6~7번째 복부마디의 등쪽에 위치하고 있으며(Kim 등., 1982), 成虫에서는 1개이었고 난형이었고 유충시기와 같은 위치에서 관찰되었다고 보고된 바 있다(Kim 등., 1980).

반면에 前蛹 直後에 1쌍이었던 精巢가 蛹 3시간에는 융합되어 1개로 관찰되었는데 이는 前蛹期에 융합되는 것으로 사료된다. 또한 前蛹期에 큐티클層, 복막초 여포상피가 가장 비후되었다가 점차로 성숙되어감에 따라서 그 두께가 감소함을 알 수 있는 데 이는 정소가 점차로 커짐에 따라서 모든 것이 신장되면서 핵을 비롯한 세포내 기관들이 고형화 되고 또한 精巢 전체가 고형화 되는 것으로 사료된다. 또한 복막초를 이루고 있는 여러 세포층의 일부가 안쪽으로 밀려 들어가 여포상피를 형성하게 되는 데(Kim 등., 1982), 이들

은 蛹 1일부터는 서로 다르게 분화되는 것으로 사료되며 2일에는 부막초를 이루고 있던 전자밀도가 높고 글리코겐이 많으며, 침상형의 구조물이 관찰되던 층은 관찰되지 않으며 成虫에서와 마찬가지로(Kim 등., 1980) 전체적으로 전자밀도가 고르게 관찰되는 것으로 보아 이는 精子成形 및 성숙에 필요한 영양물질 공급과 어떠한 관계가 있는 것으로 추정된다.

여포상피 역시 蛹 2일부터는 부막초와는 형태적으로 전혀 다르게 분화되는 것으로 사료되며 또한 이 시기부터 成虫의 것과 매우 유사함을 알 수 있었다(Kim 등., 1980). 그러나 locusta에 있어서는 여포의 수가 150~200여개 정도였다고 이들이 ductuli efferentes를 지나서 평행한 2개의 ventral spermiduct로 열리며 각 여포는 club 모양이며 연속적인 膜(continuous envelop)에 의해서 둘러 싸여져 있다고 보고하였으며, 또한 精巢는 perifollicular envelop에 의해 둘러 싸여져 있는데 이는 external lamella와 internal lamella 사이를 둘러싸고 있는 세포층이며 탄수화물과 collagen 섬유로 구성되어 있다고 보고하였는데(Szöllösi와 Marcaillou, 1979), 본종에 있어서는 정소는 부막초로 둘러싸여 있고 여포의 수는 유충 시기에는 각 정소에 각 4개씩 있었다. 그러나 Ruckes(1919)는 Lepidoptera에 있어서 testicular compartment로 구획지워져 있고 이는 결합조직양상을 띠고 있으며 저장물질의 축적 역할을 하며 때로는 지방을 함유하고 있다고 보고한 바 있다.

정자다발을 둘러싸고 있는 피낭세포는 정자의 수가 증가함에 따라서 그 세포질은 신장되나 蛹 3시간부터 細胞内の 다른 器官이 현저히 증가하는 것으로 보아 이는 精子의 성숙과 보존에 관여하리라 사료된다. *Popillia* 경우는 피낭세포는 암컷의 활액낭(bursa)속에서 파괴되고 정자를 유지하는데 글리코겐을 방출한다고 하였으며(Anderson, 1950), *Prionoplus*에서는 피낭세포가 정소 속에서 파괴된다고 보고한 바 있다(Edward, 1961). Phillips(1970)는 피낭세포가 정원세포, 정세포, 정자 등을 둘러싸고 있는데 이는 보편적으로 구형이나 다면형을 하고 있으며 생식세포가 성숙함에 따라 피낭세포는 신장되며 또 거의 성숙된 정세포의 두부 부위가 cyst wall의 polyvalent cell에 묻혀 있다는 보고와 일치하였다.

前蛹 直後의 腹膜鞘와 濾胞上皮에서 관찰되었던 電子密度가 높은 과립은 점차로 감소하여 정소가 완전히 1개로 융합된 蛹 2일에는 전혀 관찰되지 않는 것으로 보아 이는 정소의 융합에 관여하는 물질로 사료된다.

결론

前蛹期으로 부터 蛹으로 변태함에 따른 배추흰나비(*Pieris rapae*)의 精巢의 微細構造的 변화를 電子顯微鏡으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

腹膜鞘, 濾胞上皮, 큐티클 등의 두께는 前蛹 直後에 최대로 달하였다가 점차 고형화되기 시작하였으며, 腹膜鞘의 일부가 밀려 들어가 형성된 여포상피는 서로 달리 分化되기 시작되어 蛹 2일 부터는 成虫의 것과 유사하게 관찰되었다. 정자다발을 둘러싸고 있는 被囊細胞는 蛹 3시간 부터 細胞內器官이 현저히 증가하기 시작하며 前蛹期 때 腹膜鞘와 濾胞上皮에 출현하였던 電子密度가 높은 과립은 精巢의 융합에 관여하는 물질로 사료된다.

참고문헌

- Anderson, J.M. 1950. A cytological and histological study of the testicular cyst-cells in the Japanese beetle. *Physiol. Zool.* 23 : 308~316.
- Baccetti, B., R. Dallai, F. Giusti and F. Bernini. 1974. The Spermatozoon of Arthropoda. XXIII. The "9-9-3" spermatozoon of Simuliid Diptera. *J. Ultrastruct. Res.* 46 : 427~440.
- Edwards, J.S. 1961. On the reproduction of *Prionoplus reticulajaris*(Coleoptera, Cerambycidae), with general remarks on reproduction in the Cerambycidae. *Q. Jl. microsc. Sci.* 102 : 519~529.
- Hardy, R.W., K.T. Tokuyasu, D.L. Lindsley, and M. Garavito. 1979. The germinal proliferation center in the testis of *Drosophila melanogaster*. *J. Ultrastruct. Res.* 69 : 180~190.
- Kim, C.H., W.K. Kim., S.S. Han. and K.O. Lee. 1980. A study on Gonad in *Pieris rapae* L. I. An electron Microscopical observations on testis. *Kor. Jour. Electron Microscopy.* 11. No. 1 : 11~20.
- Kim, C.H., W.K. Kim., and K.O. Lee. 1982. A study on Gonad in *Pieris rapae* L. II. Ultrastructural studies on the testis during larval stages. In Press.
- Lee, Y.H. and C.E. Lee. 1980. Observation on Spermatogenesis in *Gerris paludum*(Heteroptera). *Kor. J. of Zool.* 23. No. 1 : 13~23.
- Menon. M. 1969. Structure of the Apical Cells of the Testis of the Tenebrionid Beetles: *Tenebrio molitor* and *Zophobas rugipes*. *J. Morph.* 127 : 409

~430.

- Norris, M.J. 1932. Contributions toward the study of insect fertility. I. The structure and operation of the reproductive organs of the genera *Ephestia* and *Plodia* (Lepidoptera, Phycitidae). Proc. Zool. Soc. London. 1932 : 595~611.
- Phillips, D.M. 1970. Insect sperm: Their structure and Morphogeneses. J. Cell Bio. 44 : 243~277.
- Phillips, D.M., 1971. Morphogenesis of the Lacinate Appendages of Lepidopteran Spermatozoa. J. Ultrastruct. Res. 34 : 567~585.
- Ruckes, H. 1919. Notes on the male genital system in Certain Lepidoptera. Ann. Ent. Soc. America. 12 : 192~209.
- Szöllösi, A. and Marcaillou, C., 1977. Electron Microscope Study of the Blood-Testis Barrier in an insect: *Locust migratoria*. J. Ultrastruct. Res. 59 : 158~172.
- Szöllösi, A. and Marcaillou, C. 1979. The Apcal cell of the Locust Testis: An Ultrastructural study. J. Ultrastruct. Res. 69 : 331~342.
- Tokuyasu, K.T. 1974. Dynamics of Spermiogenesis in *Drosophila melanogaster*. IV. Nuclear Transformation. J. Ultrastruct. Res. 48 : 284~303.
- Vitomaska, R. 1957. Developmental process of the reproductive cells in the bomb fly (*Hypodermel bovis*) IZa Akod. Nauk. Latv. Ssr. 7 : 100~103.
- Warner, F.D. 1971. Spermatid Differentiation in the Blowfly *Sarcophaga bullate* with particular referenca to Flagella Morphogenesis. J. Ultrastruct. Res. 35 : 210~232.
- Williams, T.L. 1940. The anatomy of the internal genitalia and the mating behavior of some lasiocampid moths. J. Morph. 67 : 411~438.

Figure Legends

Fig. 1~Fig. 4. Electron micrographs of the peritoneal sheath.

Fig.1. At prepupa stage.

The peritoneal sheath is composed of several cell layers whose cytoplasm has high and low electron density. A lot of vacuoles and glycogens are scattered in the cytoplasm. Oval shaped nucleus(N) and filament shaped mitochondria(M) with high electron density are observed. Cu; cuticle. $\times 3,200$

Fig.2. At pupa 3hr stage.

High electron densed cell layer(a) which has a lot of vacuoles and low electron densed cell layer(b), an high electron densed cell layer(c) which has a lot of glycogens and filaments. Spherical shaped mitochondria(M) are scattered throughly in the cytoplasm. $\times 3,500$

Fig. 3. At pupa 1 day stage.

Glycogens and needle shaped structures are increased in the electron densed cell layer(arrow). $\times 3,000$

Fig. 4. At pupa 2day stage.

Nucleus(N) is elongated and vacuoles are abundant. The cell layer contained the needle shaped structures is not observed. $\times 3,500$

Fig. 5~Fig. 8. Electron micrographs of the epithelium of the follicle.

Fig. 5. At just prepupa stage.

High electron densed granules(G) are abundantly scattered in the cytoplasm. A lot of glycogens and tracheoles(T) are appeared. Rough endoplasmic reticulum(RER) is well developed. $\times 3,000$

Fig. 6. At pupa 3 hrs stage.

High electron densed granules(G) are decreased greatly and rough endoplasmic reticulum(RER) are well developed and tracheoles are appeared. $\times 3,000$

Fig. 7. At pupa 1day stage.

Glycogens and needle shaped structures increased remarkably. Small vacuoles also increased. $\times 3,000$

Fig. 8. At pupa 2 day stage.

Nucleus(N) is elongated and various shaped mitochondria(M) are observed. $\times 4,800$

Fig. 9~Fig. 12. Electron micrographs of the cyst cell. Cyst cell is enclosed the sperm bundles(SB) and has lower electron density than the sperm.

Fig. 9. At just prepupa stage.

Nucleus(N) and rough endoplasmic reticulum(RER) are observed. Glycogens are scattered in the cytoplasm. $\times 9,000$

Fig. 10. At pupa 3 hr stage.

Mitochondria(M) are remarkably increased and rough endoplasmic reticulum is well observed. A lot of spermatids(S) are embedded in the cytoplasm of the cyst cell(CC). $\times 3,500$

Fig. 11. At pupa 1day stage.

Glycogens are scattered in the cytoplasm and rough endoplasmic reticulum(RER) is well developed. $\times 4,500$

Fig. 12. At pupa 2 day stage.

A lot of vesicles are formed in the cytoplasm.

N; nucleus, E; epithelium of the follicle, SB; sperm bundle. $\times 4,500$





