

한국산 플라나리아 *Phagocata vivida* 咽頭에서 형성되는 점액과립

장남섭

목원대학교 이공대학 생물학과

한국산 플라나리아 *Phagocata vivida*의 인두에서 다음과 같은 점액과립들을 관찰하였는데 그 결과는 다음과 같다.

인두외강의 인두측 상피조직과 내측부의 유조직에서 조직화학적 및 미세구조적 특징에 따라 5종류의 점액과립(G1형, G2형, G3형, G4형 및 G5형)이 관찰되었다. methylene blue-basic fuchsin 이중염색을 시행한 결과 G1형, G3형 및 G4형 과립은 methylene blue에만 양성반응을 보인데 비해, G2형 및 G5형 과립은 두 염색액에 모두 양성반응을 보였다.

G1형과 G3형 과립은 그 크기가 0.5 μ m정도이고, 전자밀도가 매우 높게 나타났으며, 특히 G1형 과립에서는 흰 반점과 줄무늬가 관찰되었다. G2형 과립은 그 크기가 0.75 μ m정도이고, 전자밀도는 G3형 과립에 비해 약간 낮았다. G4형 과립은 그 크기가 0.3 μ m정도로 매우 작고, 전자밀도는 낮아서 밝게 보였다. G5형 과립은 그 크기가 0.4 \times 0.3 μ m정도이고, 전자밀도가 낮게 나타났으며 배상세포 형태를 하고 있었다.

KEY WORDS: Korean planaria, Pharynx, Mucous granules. Histochemical and ultrastructural differentiation.

扁形動物, 三枝腸目に 속하는 플라나리아의 소화기관인咽頭に 관한 연구는 Wilhelmi (1909)에 의해 시작된 이래 많은 연구(Westblad, 1929; Hyman, 1951; Sengel, 1951, 1953; Jennings, 1957; Kido, 1961; Ishii, 1963, 1964, 1966; MacRae, 1963; Pascolini, 1967; Ziller-Sengel, 1967a, b)가 보고 되었다.

특히 Skaer(1961)는 *Polycelis nigra*의 인두에서 조직화학적 방법을 이용하여 好靑性 점액과립과 好酸性 점액과립 등 두종류에 속하는 과립들을 관찰한바 있으며, Ishii(1963, 1964)는 육생 플라나리아 *Bdellocephala brunnea*의 인두에서 7종류의 점액과립들의 존재를 확인한 바 있다.

Farnesi 와 Pascolini(1973)은 *Dugesia lugubris*의 인두에서 G1형, G2형, G3형 및

G4형등 4종류의 점액과립들을 관찰한바 있어, 종에 따라서는 인두내 점액과립의 형성이 서로 각각 다르게 나타났다.

이에 본 실험에서는 한국산 플라나리아 *Phagocata vivida*의 인두를 재료로 하여 조직화학적 및 미세구조적으로 연구한 결과 5종류의 점액과립들이 관찰되었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

2월경 대전 근교의 비봉산과 보문산 골짜기에서 한국산플라나리아(*Phagocata vivida*)를 채집하였고 실험실로 운반한후 7일간 빛을 차단하고 단식을시킨 상태로 사육한뒤 실험재료로 사용

하였다.

실험방법

관찰대상 부위인 인두를 소편의 조직으로 절단한 후 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde(phosphate buffer, pH7.3) 용액에 2시간 전고정을 하고 이어서 phosphate buffer, pH7.3 으로 매회 5분씩 3회 세척을 하였다. 역시 1% OsO₄(phosphate buffer, pH7.3)에 2시간 후고정을 하고 단계적으로 acetone 으로 탈수한 다음 epon 812에 포매하였다. 이어 초박절편기(LKB-V ultramicrotome)을 사용하여 1 μ m 두께의 박절편을 만들고 이를 toluidine blue로 단일염색한 후 광학현미경에서 정확한 부위를 확인한 다음 초박절편을 만들었다. 또한 과립의 호염성을 확인키 위하여 methylene blue-basic fuchsin 이중염색(이하 m-b 이중염색이라고 칭함)을, 점액 다당류를 확인키 위해서는 PAS-alcian Blue(pH2.5) 반응을 수행하였다. 또한 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 다음 투과전자현미경 JEM 100CX-11(80KV)으로 관찰하였다.

결과

1. 광학현미경 관찰

인두의 단면을 광학현미경으로 관찰한 결과 doughnut형태의 구조를 보이고 있고 인두외강측 상피조직은 치밀하게 발생한 미세융모로 덮혀져 있었다. 미세융모를 가진 상피조직말에는 종주근층, 유조직층, 종주근층 그리고 환상근층 순으로 근육들이 두텁게 인두를 형성하고 있었다(Pl. 1: Figs. 1, 2).

인두의 내강은 직경이 약 140 μ m정도이고 세포질이 매우 불규칙하게 돌기를 이루는 많은 내강 상피조직으로 둘러싸여 있었다(Pl. 1: Fig. 2).

인두의 단면에서 유조직층은 두 종주근층 사이 중앙에 위치하고 있으며, m-b이중염색을 실시한 결과 methyleneophilia를 나타내는 3종류의

과립 G1형, G3형, G4형과 m-b 두 염색액에 모두 양성반응을 보이는 2종류의 과립 G2형, G5형등 모두 5종류의 과립들이 관찰되었다(Pl. 1: Figs. 1, 2). G1형, G2형, G3형 및 G5형 과립들은 PAS-alcian blue 반응에서 PAS에 강한 양성반응을 보이는데 비해, G4형 과립은 alcian blue(pH2.5)에만 반응을 나타내어 중성점액 및 산성 점액 다당류로 각각 확인되었다.

2. 전자현미경 관찰

전자현미경 관찰에서 인두의 내강 상피세포 및 외강 상피세포들은 모두 미세융모로 치밀하게 덮혀져 있고, 특히 내강을 둘러싸고있는 상피세포는 불규칙한 돌기형태의 세포질을 갖고있으며 이들은 이질염색질이 발달한 긴 핵을 소지하고 있었다(Pl. 1: Fig. 4).

인두의 내강을 둘러싸는 상피세포의 하층에는 환상근층과 종주근층의 발달이 현저하였고(Pl. 2: Fig. 2), 그 바깥으로는 유조직층과 종주근층 그리고 인두외강측 상피조직순으로 발달하였다.

인두외강측 상피조직내 세포질은 전자밀도가 높아서 어렵게 관찰되었다. 이들 세포질속에는 크기가 0.3 \times 0.4 μ m정도인 타원형이거나 약간은 불규칙한 많은수의 사립체가 분산되어 나타났으며, 중등도의 전자밀도인 점액질을 분비하는 배상형의 점액성 과립들이 다수 내강쪽으로 분비되고 있었다(Pl. 1: Fig. 3).

인두외강측의 상피조직하층에는 단면이 2 \times 7 μ m정도인 긴 타원형의 종주근 다발들이 규칙적으로 배열되어 있었다. 이 근육다발들은 근형질막으로 둘러싸여 있고 이막과 근섬유 사이에는 타원형 또는 불규칙한 형태의 사립체들(0.4 \times 0.9 μ m)이 2-3개씩 모여 있었다(Pl. 2: Fig. 1). 이들 종주근층 밑에는 4종류의 점액 과립(G1형, G2형, G3형 및 G4형)을 포함하는 두터운 유조직층이 존재하였지만 유조직층에는 과립들 사이로 신경섬유들도 보였다(Pl. 3: Figs. 1, 2).

G1형 과립은 전자현미경 관찰에서 그 형태가 난원형이거나 약간은 불규칙한 형태였고 크기는 0.5 μ m로 전자밀도가 매우 높게 나타났다. 이들

과립은 내부에 원형의 흰반점과 5-6개의 줄무늬가 보이는 과립들로 집단을 이루면서 존재하는 경우가 많았다(Pl. 2; Fig. 4).

이 과립을 형성하는 세포는 그 형태가 방추형으로 핵은 세포질에 비해 컸으며 불규칙한 핵막으로 둘러싸여 있었다. 이 세포의 세포질은 잘 발달된 소포체로 점유되어 있었다(Pl. 3; Fig. 4).

G2형 과립은 그 형태가 거의 난원형이거나 또는 불규칙한 형태이고 크기는 $0.75 \mu\text{m}$ 정도로 G1형 과립보다 컸다. 이 과립은 전자밀도가 G1형 과립보다 낮고 줄무늬나 흰반점도 관찰되지 않았다. 이 과립의 분포양상은 G1형 과립의 분포부위와 일치하였으나 G1형 과립에 비해 비교적 출현률은 낮았다(Pl. 3; Fig. 2).

G3형 과립 또한 형태와 크기(직경 $0.55 \mu\text{m}$), 전자밀도 그리고 분포양상이 G1형 과립과 거의 유사하지만 과립내 흰반점과 줄무늬가 없는 것이 특징이며 G1형 및 G2형 과립과 혼재되어 나타나는 경우가 많았다(Pl. 3; Fig. 1).

G4형 점액 과립 형성세포는 핵과 세포의 형태가 모두 불규칙하였고 핵질내에는 이질염색질이 발달하였다. 이들 세포가 소지한 과립은 $0.3 \mu\text{m}$ 로 매우 작고 밀집되어 나타났으며 전자밀도는 중등도로 관찰되었다(Pl. 3; Fig. 3).

G1형, G2형, G3형 및 G4형 과립들이 모두 인두의 유조직에서 관찰된데 비해 G5형 과립은 인두의 외강 상피세포에서 관찰되었고, 그 크기는 $0.3 \times 0.4 \mu\text{m}$ 정도로 배상형 형태였다. 이들의 전자밀도는 중등도를 나타내었으며 미세융모 사리로 분비되었다(Pl. 1; Fig. 3).

또한 인두의 유조직을 형성하고 있는 세포들은 대개가 긴 방추형으로 서로 밀집되어 나타나는 경우도 있었다. 이 세포들은 긴 타원형의 핵을 소지하고 있고 핵질내에는 이질염색질이 발달하였으며 여러개의 지방과립들이 공통적으로 관찰될뿐 다른 세포소기관은 거의 관찰되지 않아서 비교적 단순하게 나타났다(Pl. 2; Fig. 3).

Explanation of Plates

Plate 1.

Fig. 1. Light micrograph showing the cross sectioned pharynx. Open arrow, microvilli; Ca, cavity; Mu, muscle; Pa, parenchyma. Methylene blue-basic fuchsin double staining. $\times 1000$.

Fig. 2. Cross sectioned pharynx of planaria. The muscular bundles in the middle and inner pharyngeal lumen in the low part are seen. Mu, muscle; In, epithelium of pharyngeal lumen (Lu) Methylene blue-basic fuchsin double staining. $\times 1000$.

Fig. 3. Electron micrograph showing the pharyngeal epithelium of pharyngeal outer cavity. Mu, muscle; OU, pharyngeal epithelium of pharyngeal outer cavity. arrow, type G5 granule; open arrow, secreting granule; Ca, cavity. $\times 12000$.

Fig. 4. Section through the epithelium of pharyngeal lumen. Lu, lumen; In, epithelium of pharyngeal lumen; N, nucleus. $\times 6000$.

Plate 2.

Fig. 1. Section through the well-arranged muscular bundles in the middle part of pharynx. Mu, muscle; M, mitochondria. $\times 12000$.

Fig. 2. Cross section through the circular muscle layer: Mu1, longitudinal muscle layer; Mu2, circular muscle layer; M, mitochondria; Pa, parenchyma. $\times 7950$.

Fig. 3. Electron micrograph showing the well-arranged parenchymal cell of pharynx. L, lipid droplet; ch, chromatin; N, nucleus. $\times 6000$.

Fig. 4. Electron micrograph showing the type G1 mucous granule. $\times 15000$.

Plate 3.

Figs. 1, 2, 3. Various types of the G1, G2, G3 and G4 granules in parenchyma of pharynx are seen. N, nucleus; Ne, nerve; Mu, muscle. Figs. 9 and 10, $\times 12000$; Fig. 11, $\times 3000$.

Fig. 4. Electron micrograph showing the type G1 granule-forming cell in the parenchyma of pharynx. Ne, nerve; N, nucleus. $\times 7950$.

PLATE 1

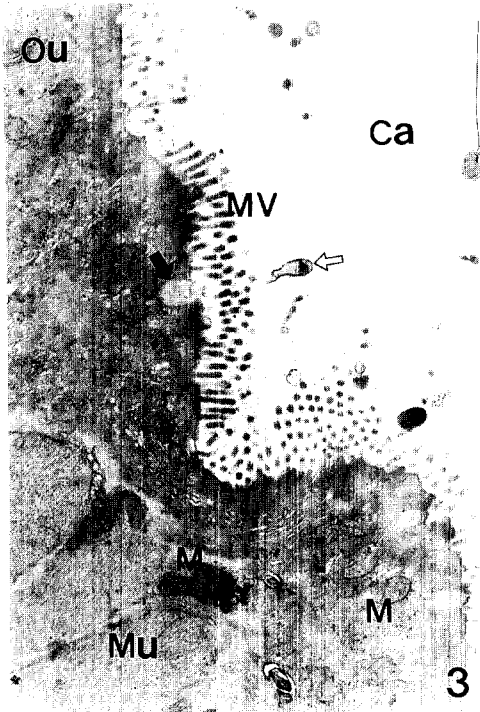
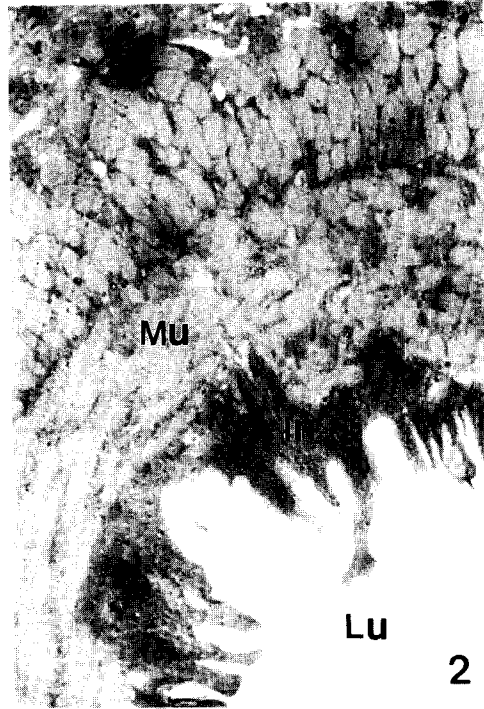
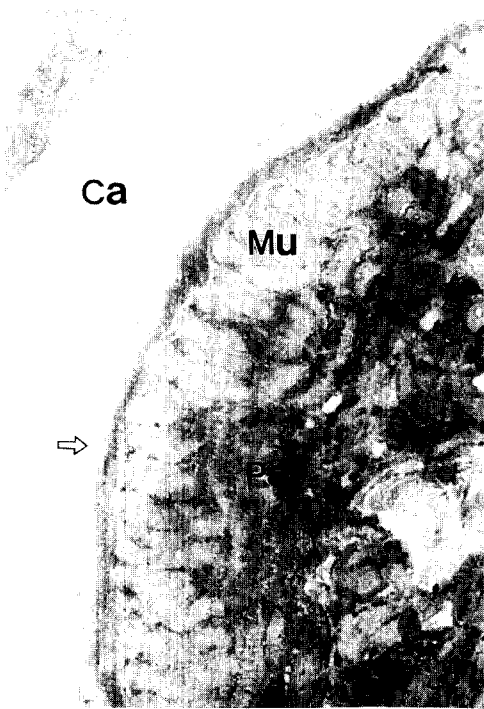


PLATE 2

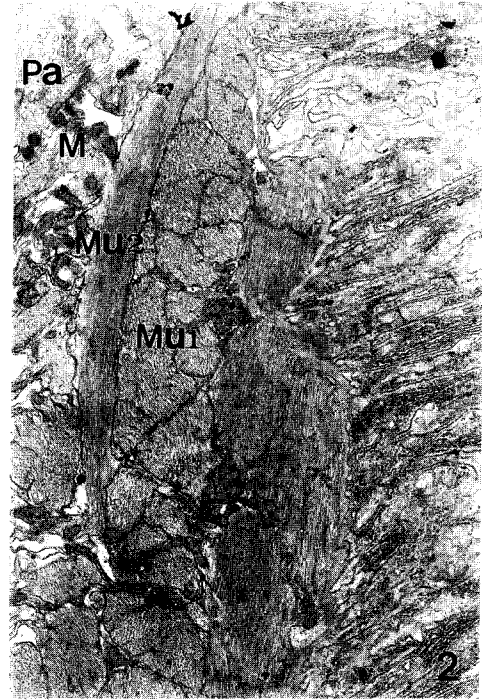
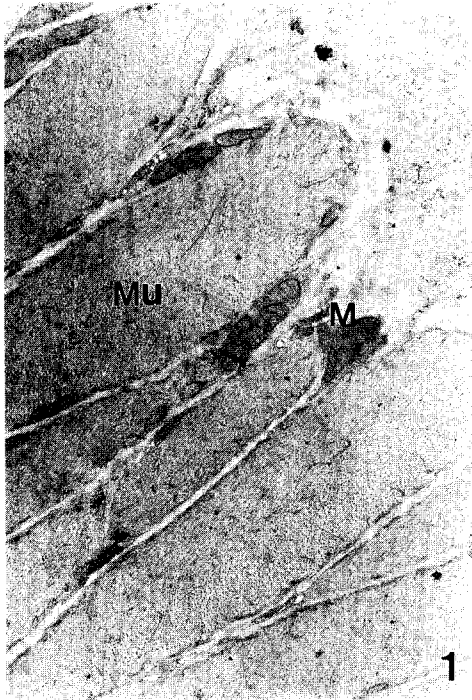
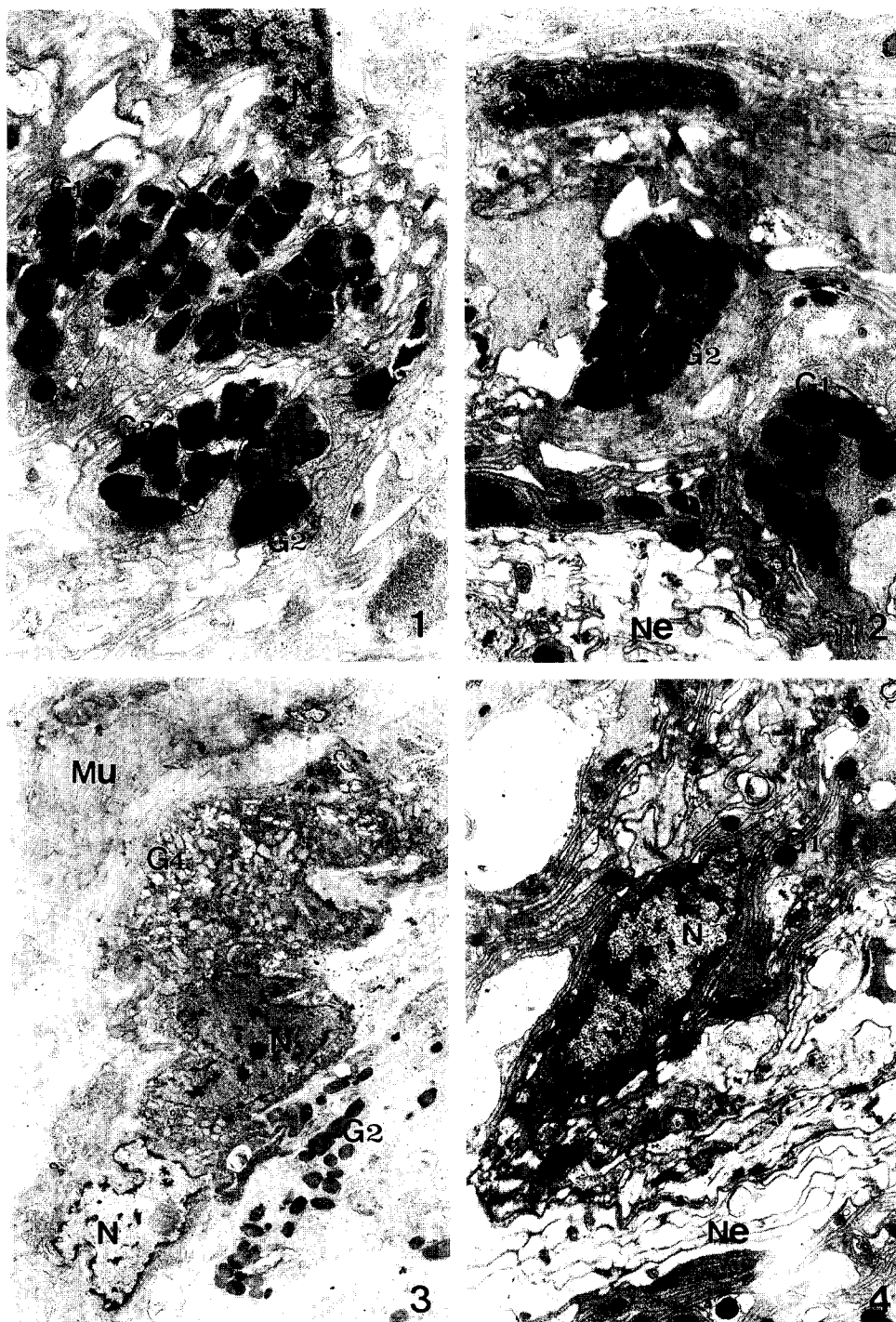


PLATE 3



고찰

편형동물의 인두기관에 대한 연구는 Wilhelmi(1909)에 의해 연구가 시작된 이래, 최근에는 Skaer(1961)의 *Polycelis nigra*를 재료로 한 인두내 분비선에 관한 연구도 있다. Skaer는 이 연구에서 2종류의 분비과립을 확인하였던바, 好靑性과립과 好酸性과립들이었다.

Farnesi와 Pascolini(1973)는 *Dugesia lugubris*의 인두를 조직화학 및 미세구조적으로 관찰하고, G1형 과립은 Skaer(1961)가 이미 언급한 호청성과 같고, G2형 과립은 호산성과 합치되는 점이 많다고 하였다.

또한 Ishii(1963)는 *Bdellocephala brunea*에서 7종류의 분비과립이 관찰된다고 보고하고 이들은 각각 2종류의 호청성 과립(G6형 및 G7형)과 5종류의 호산성과립(G1형, G2형, G3형, G4형 및 G5형)이라고 언급하였으나 이들의 미세구조적 특징은 서술한바 없다.

특히 Farnesi와 Pascolini(1973)는 *Dugesia lugubris*에서 4종류의 과립(G1형, G2형, G3형 및 G4형)을 관찰하고 이중 G1형 과립은 인두의 외측부에만 존재하고, G3형 및 G4형 과립은 내측부에만, 그리고 G2형 과립은 외측 및 내측부에서 공히 관찰된다고 하였다.

그러나 *Phagocata vivida*를 재료로 한 본 실험에서 관찰된 점액과립은 5종류(G1형, G2형, G3형, G4형 및 G5형)로 확인되었으며 이들은 인두외강의 인두측 상피조직인 외측부에서 1종류(G5형), 인두의 유조직인 내측부에서 4종류(G1형, G2형, G3형 및 G4형)가 각각 관찰되어 종에 따라서 과립의 분포양상이 다르게 나타났다.

특히 인두의 유조직층내에서 형성되는 과립의 종류에 있어서는 *Bdellocephala brunna* (Ishii, 1963)의 7종류와 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)의 4종류를, *Phagocata vivida*를 재료로 한 본 실험에서 확인된 5종류와 서로비교할때, *Dugesia lugubris*

(Farnesi and Pascolini, 1973)와 *Phagocata vivida* 사이에는 비슷한 공통점이 있음이 인정되었다. 이는 *Bdellocephala brunea* (Ishii, 1963)가 육생 플라나리아인데 비해 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)와 본실험의 *phagocata vivida*가 같은 수생 플라나리아 이기 때문인 것으로 간주된다.

본 실험의 *Phagocata vivida* 인두내에서 관찰된 5종류의 과립은 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)에서 관찰된 과립과 형태적으로 유사한 과립들이 많이 확인되었다. 즉 본 실험의 인두외강의 인두측 상피조직 외측부에서 관찰된 G5형 과립은 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973) 인두의 같은 부위에서 관찰된 G1형 과립과 비교할 때 전자밀도가 낮고 점액 분비물질인점은 같으나 과립의 크기에는 두종 사이에 현저한 차이가 인정되었다.

그러나 본 실험의 인두내측부 유조직에서 관찰된 G1형 과립은 전자밀도가 높고 흰 줄무늬와 반점이 있어 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)의 G4형 과립과 같은 종류의 과립으로 확인되었으며, 본 실험의 G2형 및 G3형 과립은 과립의 크기와 전자밀도에는 약간의 차이가 있지만 대부분 전자밀도가 높게 나타나서 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)의 G2형 과립과 매우 유사한 과립으로 인정되었다. 그러나 *Dugesia lugubris* (Farnesi and Pascolini, 1973)에서 관찰된 흰공간이 포함된 G3형 과립은 본 실험에서는 그 존재가 확인되지 않았다.

인두상피에 관한 연구에서 Hyman(1951)은 편형동물의 인두내강 상피의 하층에 기저막이 없으므로 인두에서 흡수한 먹이가 유조직내로 용이하게 운반이되고 분비물의 처리도 효과적으로 일어날것라고 주장한바 있는데, Chang 및 Kim(1985)은 *Dugesia japonica*의 인두에서, 그리고 *Phagocata vivida*의 인두를 재료로한 본 실험에서도 기저막이 없는 것으로 각각 확인되어 Hyman(1951)의 연구 결과가 입증되었다.

Skaer(1961)와 Chang 및 Kim(1985)은

Polycelis tigrina 와 *Dugesia japonica*의 인두내강을 감싸는 상피조직의 세포질에서 p-inocytic vesicle을 닮은 많은 수의 소포들이 관찰된다고 하여 공통된 견해를 밝히나 있으나 *Phagocata vivida*를 재료로한 본 실험에서는 그와같은 소포들이 거의 관찰되지 않아서 종에 따른 차이가 인정되었다.

인용문헌

- Chang, N.S. and W.K. Kim, 1985. A study on the ultrastructure of the digestive organ (Pharynx, Caeca) of Korean planaria (*Dugesia japonica* Ichikawa et KawaKatsu). *Korean J. Zool.* **38**: 211-226.
- Farnesi, R.M. and R. Pascolini, 1973. Investigations on the ultrastructure of the pharyngeal glands in *Dugesia lugubris*. *Boll.Zoll.* **40**: 137-147.
- Hyman, L.H., 1951. The vertebrates: *Platyhelminthes Rhyncocoela*. McGraw-Hill Book Co., New York. pp. 97-107.
- Ishii, S., 1963. Electron microscopic observations on the planarian tissues I. A survey of the pharynx. *Fukushima J. Med.Sci.* **10**: 51-73.
- Ishii, S., 1964. The ultrastructure of the outer epithelium of the planarian pharynx. *Fukushima, J. Med. Sci.* Vol11, Nos. 1-4.
- Ishii, S., 1966. The ultrastructure of the insunk epithelium lining the planarian pharyngeal cavity. *J. ultrastruct. Res.* **27**: 7-23.
- Jennings, J.B., 1957. Studies on feeding, digestion and food storage in free living flatworms (*Platyhelminthes: Turbellaria*). *Biol. Bull.* **112**: 63-80.
- Kido, T., 1961. Studies on pharynx regeneration in planarian *Dugesia gonocephala*. 1. Histological observation in the transected pieces. *Sci. Rep. Kanazawa Univ.* **7(2)**: 1-7.
- MacRae, E.K., 1963. Observation on the fine structure of pharyngeal muscle in the planarian *Dugesia tigrina*. *J. Cell. Biol.* **18**: 651-662.
- Pascolini, R., 1967. Osservazione ricerche sul faringe in *Dugesia lugubris*. *Riv. Biol. Lx*: 49-72.
- Sengel, P., 1951. Sur les conditions de la regeneration normale du pharynx chez la planarie *Dugesia lugubris* O. *Bull. Biol. France Belg.* **85**: 376-391.
- Sengel, P., 1953. Sur l'induction d'une Zone pharyngienne chez la planaire d'eau douce *Dugesia lugunbris* O. *Schm. Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl.* **42**: 57-66.
- Skaer, R.J., 1961. Some aspect of the cytology of *Polycelis nigra*. *Quart. J. Micros. Sci.* **102**: 295-317.
- Westblad, E., 1929. Zur physiologie der Turbellarien 111. *Acta Univ. Lundensis, N.S.* **18**: 1-212.
- Wilhelmi, J., 1909. Tricladen Fauna und Flora des Golfes von Neapal 32. Xii + 405 pp. R. Friedlander, Berlin.
- Ziller-Sengel, C., 1967a. Recherches Sur l'inhibition de la regeneration du pharynx chez les planaires. 1. Mise en evidence d'un facteur auto-inhibiteur de la regeneration du pharynx. *J. Embryol. Exptl. Morphol.* **18**: 91-105.
- Ziller-Sengel, C., 1967b. Recherches Sur l'inhibition de la regeneration du pharynx chez les planaires. 11. Variations d'intensite du facteur inhibiteur suivant les especes et les phases de la regeneration. *J. Embryol. Exptl. Morphol.* **18**: 107-117.

(Accepted August 15, 1993)

Mucous granules formed in the Pharynx of the Korean Planaria, *Phagocata vivida*

Nam-Sub Chang (Department of Biology, Mokwon University, Taejeon 301-729, Korea)

The mucous granules in the Pharynx of Korea Planaria, *Phagocata vivida* were histochemically and ultrastructurally found as follows.

In the pharyngeal epithelia of pharyngeal outer cavity and the parenchymal part of the pharynx, five types of mucous granules are observed, indicated as G1, G2, G3, G4 and G5.

In the methylene blue and basic fuchsin double stain of the pharyngeal granules, the G1, G3 and G4 granules positively react only to methylene blue but the G2 and G3 granules positively react to both methylene blue and basic fuchsin.

The types G1 and G3 granules are about $0.5\mu\text{m}$ in diameter, and high electron dense. Especially G1 granule has such characteristics as white spots and stripes. The type G2 granule is about $0.75\mu\text{m}$ in diameter, and that granule is lower electron dense than the type G3 granule. The type G4 granule (about $0.3\mu\text{m}$ in size) is much smaller, and lower electron dense than any other granule. The type G5 granule which appears to be goblet shaped is about $0.3 \times 0.4\mu\text{m}$ in size, and low electron dense.