

# 작은대칭이, *Anodonta arcaiformis flavotincta*의 유생 발생 중 숙주어류내에서 글로키디움 유생의 피낭 형성과정에 관한 연구

박 갑 만

강원대학교 자연과학대학 생물학과

## Studies on the Glochidial Encystment in Host Fish during the development of *Anodonta arcaiformis flavotincta*

Gab-Man Park

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**요 약 :** 한국산 작은대칭이 (*Anodonta arcaiformis flavotincta*)의 유생발생 중 유생 (glochidium)을 숙주어류인 붕어 (*Carassius auratus*)에 감염시켜 유생의 피낭형성과정 (부착부위, 부착후 탈락까지의 시기)을 알아보기 위해, 주사전자현미경을 이용하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 유생들은 30분내에 숙주어류의 지느러미, 구강 그리고 아가미에 부착되었다. 이 연구에서 유생이 부착된 숙주어류의 지느러미를 시간별로 관찰하였다. 유생의 부착률은 숙주어류의 가슴지느러미, 꼬리지느러미, 배지느러미에 각각 30%, 22%, 17%였다. 피낭형성과정은 천천히 진행되었다. 1차 피낭형성은 24시간에서 27시간만에 이루어졌고, 그리고 5일 내지 6일째 유생은 숙주조직의 상피세포로 완전히 덮였다, 유생의 탈락과정은 숙주에 감염시킨 후 8일 째에 관찰되었다. 유생의 대부분은 15일 이내에 숙주어류의 피낭으로부터 탈락되었다. 유생이 숙주에 부착되기 전과 숙주어류의 피낭으로부터 탈락된 유생의 크기는 변화가 없었다.

**ABSTRACT :** A scanning electron microscopic study on the glochidial encystment and excystment during the development of *Anodonta arcaiformis flavotincta* on *Carassius auratus*, a common natural host fish, was carried out. The glochidia were attached to the fins, buccal cavity and gills of the host fish within 30 minutes. In this study, the fins of host fish infected with the glochidia were examined in a time series. The attachment rates of the glochidia on the pectoral fins, caudal fin and pelvic fins of the host fish were 30%, 22%, and 17%, respectively. The glochidia which attached to the fish became encysted within 27 hrs. The process of encystment progressed slowly. It took 24 to 27 hours in the formation of the primary cyst, and after 5 to 6 days, the larvae was covered completely with the epithelial cells of the host tissues. The process of detachment of juvenile clam was observed on the 8th day after host infection. Most of the juvenile clams have sloughed from the cyst of the host within 15 days. No significant size difference was observed in the glochidia and the juvenile which were found before attachment and after detachment from the cyst of the host fish.

**Key words:** Glochidia, Encystment, Freshwater mussel, *Anodonta arcaiformis flavotincta*.

## 서 론

석패과 패류의 유생은 해산복족류나 부족류에서와 같이 모패에서 방출되어 자유 유영생활을 하는 답륜자, 피면자 시기를 거치지 않고 이에 해당되는 시기를 모패 내에서 보내게 되며 이후 glochidia라는 독특한 형태로 방출되어 이동성이 강한 물고기에 부착하는 기생생활을 거치게 된다. 이와 같은 현상은 담수에서는 유생이 부유생활을 하기에 적합하지 않기 때문에 이러한 독특한 방법으로 적응된 것으로 알려져 있다 (Barnes, 1974). 이때 바깥 아가미는 보육낭 (marsupium)으로 이용되어 이곳에서 배발생을 거치게 된다.

석패과 유생의 발생에 관한 연구는 Lefevre와 Curtis (19

12)의 연구가 있으며, 이들은 석패과 종 중 *Strophitus edentulus*는 물고기에 기생하지 않고 바로 변태한다고 보고하였으나, Surber (1912)는 담수산 패류의 생활사에서 기생생활은 필수적인 단계로 보고한 바 있다. 또한 실제 석패과 유생이 담수생물의 숙주에 부착하는 데는 선택적이지 못하다는 보고가 있다. Arey (1921)와 Coker 등 (1921) 및 Wood (1974a)는 종이조각, 나무, 플라스틱 조각에 유생이 부착하는 것을 관찰하고 이것은 곧 측각에 의한 자극이 부착을 유도하는데 충분하다고 보았다. 그러나 Arey (1921)는 어류에서 상피세포의 증식에 의해 숙주세포가 유생을 완전히 덮어 피낭을 형성할 때까지 부착을 유지하는데 화학적인 자극이 필요하다고 하였다. 한편 Ellis와 Ellis (1926)는 배양액에서 유생을 사육한 바 변태시기까지 인위적으로 배양할 수 있으며, 석패

과 유생의 기생생활은 반드시 필요하지는 않으며 기생은 단지 피낭형성에 의해 박테리아나 원생생물로부터 보호받기 위한 수단이라고 보고한 바 있다.

석패과 유생이 어류 숙주에 부착하여 탈락하는 기간은 약 18-30일로 보고되었다 (Tucker, 1927; Matteson, 1948; Choi et al., 1968; Fukuhara et al., 1986). Telda와 Fernando (1969)는 유생의 변태는 발생하는 동안에 종에 따라 차이가 나며 유생의 생존은 적당한 숙주가 없을 경우 수온에 의존하게 된다고 보고하였다. Mayr (1971)는 석패과 유생의 발달과 분산의 형태는 곧 종의 수명과 지리적 분산에 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다.

지금까지 한국산 석패과 종을 대상으로 한 연구는 발생시기 (Park & Kwon, 1995), 유생의 형태 (Kwon et al., 1987; Son & Park, 1995), 유생의 기생 및 피낭형성에 관한 연구 (Jeong, 1989; Jeong & Oh, 1991) 등이 단편적으로 보고되어 있을 뿐 좀더 상세한 관찰 및 연구가 필요하다. 따라서 본 연구는 작은 대칭이 (*A. arcaiformis flavotincta*) 유생을 이용 숙주어류의 부착 부위, 부착 후 탈락까지의 시기 및 부착 후 피낭형성 단계를 알아보기 위해 주사전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

## 재료 및 방법

실험 대상은 담수산 석패과의 작은 대칭이 (*A. arcaiformis flavotincta*)의 유생과 부착 숙주인 붕어 (*Carassius auratus*), 310마리를 이용하였으며, 사육수조의 수온은 16℃를 유지하였다.

먼저 패류의 보육탕 내에 들어 있는 유생을 채취한 다음 페트리접시에 옮기고 잘 저어 유생을 분리시킨 후 유생이 물고기의 지느러미에 부착된 것을 확인한 후 재감염을 방지하기 위하여 깨끗한 다른 수조로 옮겼다. 부착 후 30분, 2시간, 1일, 2일, 이후 1일 간격으로 매번 10마리씩을 수조에서 꺼내 멘틀로 마취 후 피낭이 형성된 부위를 해부현미경하에서 절취하였다. 유생이 붙어있는 조직은 2.5% glutaraldehyde로 1시간 30분 동안 전고정시키고 PBS 완충액 (pH 7.2)으로 수세하고 후고정으로 1% OsO<sub>4</sub>에서 2시간 고정하였다. PBS 완충액으로 세척한 시료는 알코올 탈수과정을 거쳐 완전히 탈수시킨 뒤 isoamyl acetate 용액을 넣고 임계점 건조기를 사용 건조하였다. 건조된 시료를 시료대에 붙인 다음 이온증착을 약 5분간 250 Å 두께로 처리한 후 주사전자현미경으로 촬영하였다.

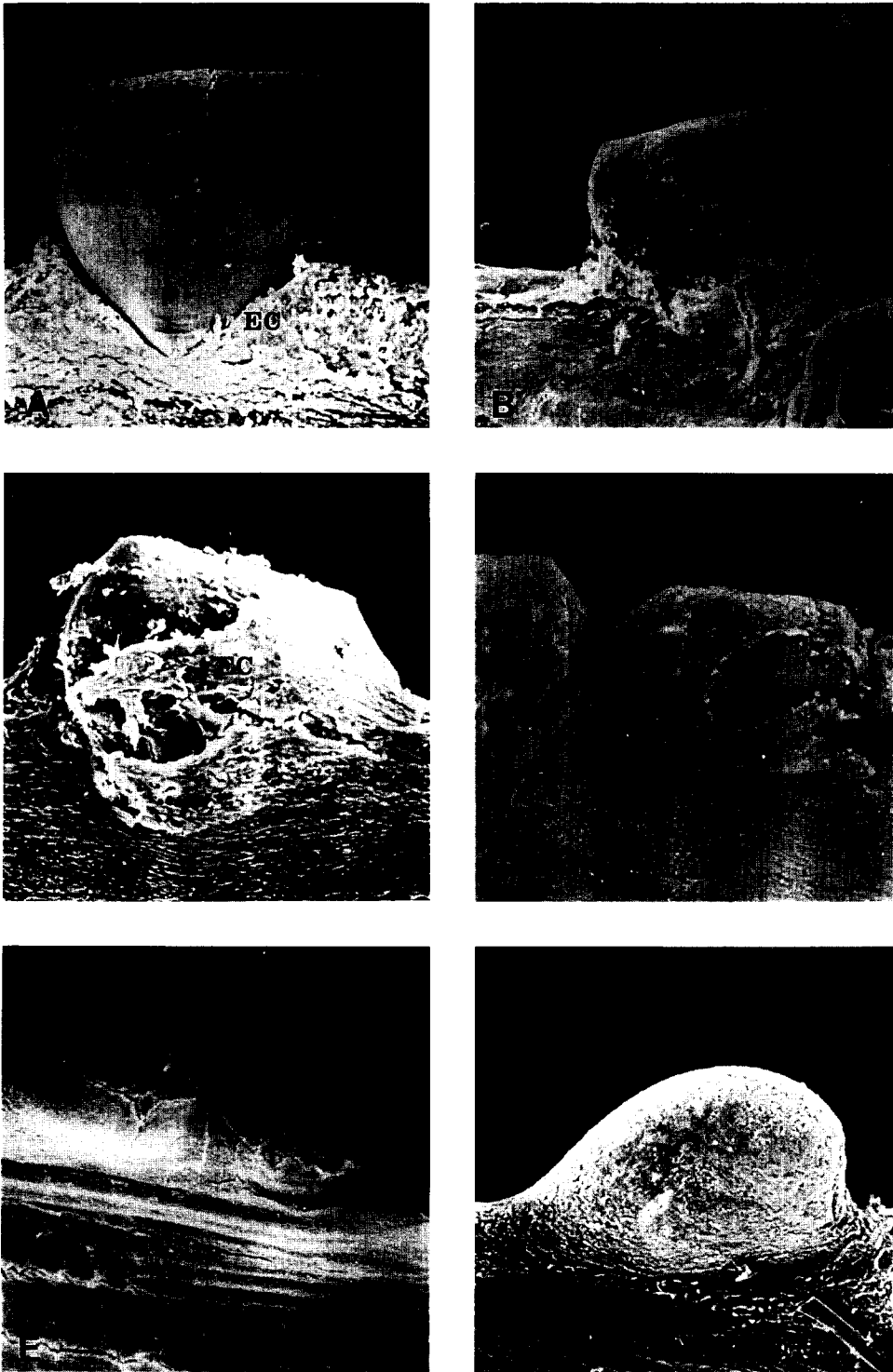
## 결 과

담수산 석패과 유생은 이동성이 강한 어류나 수서 동물에 부착하여 일정기간 기생생활을 거친 후 변태되어 유패로 성장하게 된다. 유생이 숙주에 부착하는 방법은 처음에는 점액성을 가진 유생사를 내어 물고기를 감게 되고 다음으로 두장의 유생 패각 가장자리 부근에 잘 발달된 갈고리를 이용하여 부착하게 된다. 부착하지 못한 유생의 생존시간은 16℃에서 48시간이었다. 본 실험을 통해 인위적으로 작은 대칭이의 유생을 붕어에 부착시켜 숙주어류 169마리에서 관찰된 유생의 부착 부위는 Table 1과 같다.

숙주에 부착된 유생의 총 수는 2,083개체로 이 중 30%인 628개체가 가슴지느러미에 부착하여 가장 높은 부착율을 보였으며, 꼬리지느러미에 22% (465개체), 배지느러미에 17% (359개체) 순으로 부착율을 보였다. 또한 아가미에도 12%인 252개체의 유생이 부착하였으며 비늘에도 약 8% 부착하였다. 붕어 한 마리에서 유생이 가장 많이 부착된 것은 28개체였다. 유생은 숙주에 노출된 후 30분만에 지느러미에 부착하였으며 (Fig. 1A), 어류 숙주의 상피조직이 부착된 유생을 둘러싸 일차적인 피낭을 형성하는 데는 24-27시간이 소요되었다 (Fig. 1B). 초기 피낭이 형성되는 동안에 숙주의 상피조직은 활발하게 이동하여 부착된 유생을 덮게 되며, 이때의 상피조직은 다소 치밀하지 못함을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1C). 부착 후 4일에는 피낭이 유생의 대부분을 덮게 되며 일부의 유생은 완전히 피낭형성을 하고 있었다 (Fig. 1D). 부착 5~6일에는 상피조직이 조밀하게 형성되어 완전히 유생을 둘러싸고 있었으며 (Fig. 1E, F), 부착 7일에는 다시 피낭 조직이 와해되기 시작하였다 (Fig. 2A). 부착 8일부터는 유생을 덮고 있는 상피조직이 와해되면서 유생의 일부가 노출되기 시작하였다 (Fig. 2B-2D). 부착 12일째에는 유생을 덮고 있던 대부분의 상피조직이 없어지고 유생이 완전히 노출되어 13일 경부터 탈락되기 시작하였다 (Fig. 2E). 부착기간은 13

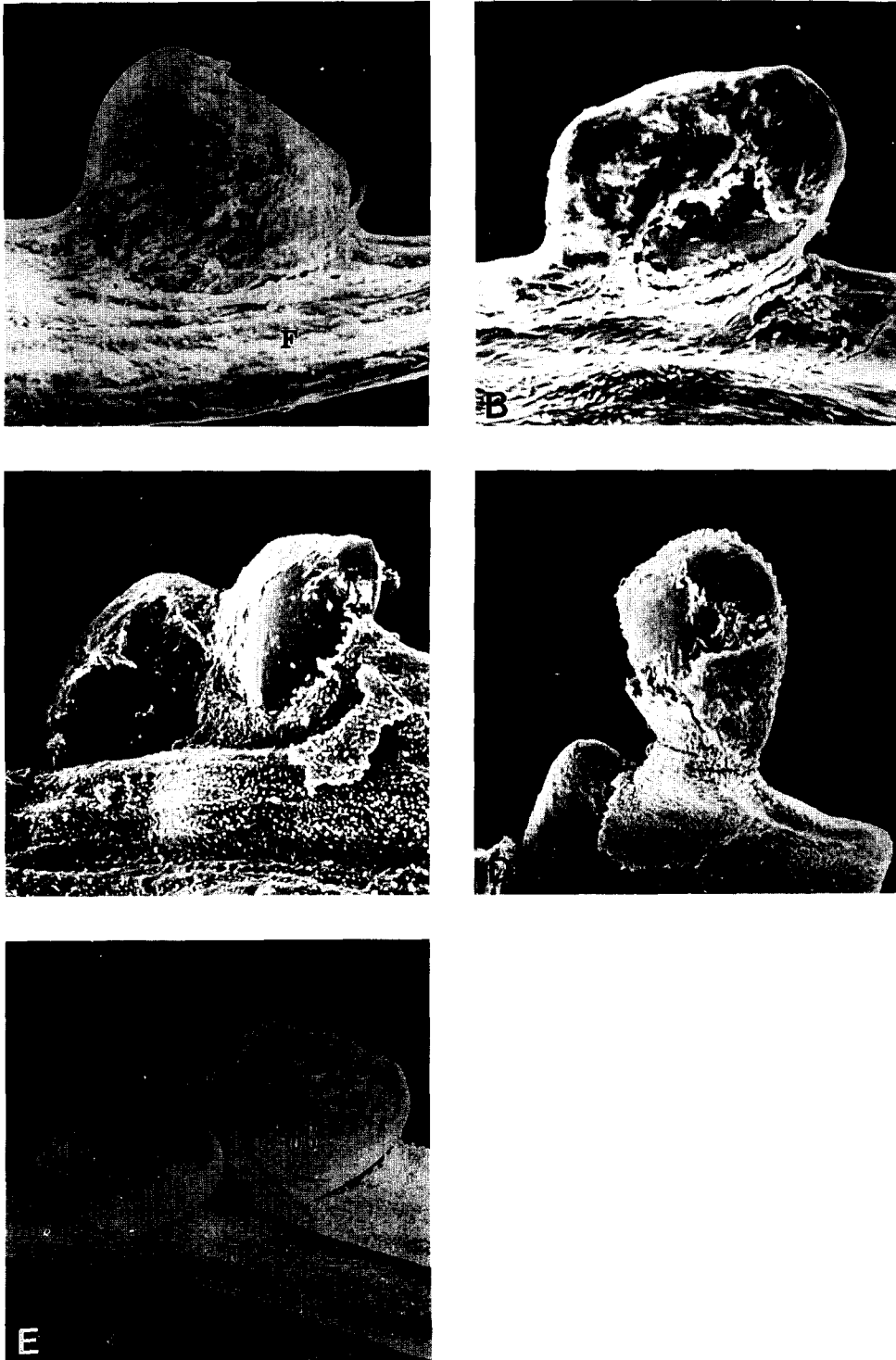
**Table 1. Number and percentage of glochidia of *A. arcaiformis flavotincta* attached on the body parts of host fish, *Carassius auratus***

Parts of fish	No. of glochidia	%
Pectoral fins	628	30.1
Caudal fin	465	22.3
Pelvic fins	359	17.2
Dorsal fin	203	9.7
Gill	252	12.1
Scale	176	8.4
Total	2,083	100



**Fig. 1.** The early cyst-forming process of the glochidia of *A. arcaiformis flavotincta* in the host fish.

- A. A glochidium(G) attached to the fin of host fish, thirty minutes after infection.  $\times 150$   
 B. Proliferation of the host tissue, two days after attachment.  $\times 100$   
 C. About half of the glochidium are covered with the epithelial cells(EC) of the host tissue, three days after attachment.  $\times 150$   
 D. A different stages of cyst formation even in neighbour with a glochidia(G), four days after attachment.  $\times 100$   
 E. Most of the glochidial shell valves are covered with host tissue, five days after attachment.  $\times 80$   
 F. A glochidium is completely encysted by host tissue, six days after attachment.  $\times 140$



**Fig. 2. Successive stages of excystment.**

- A. A cyst of the host epithelial tissues become loose, seven days after attachment. F: host fin.  $\times 150$   
 B. A cyst with glochidium is beginning to take off, eight days after attachment.  $\times 150$   
 C. About half of cyst on glochidia are teared, nine days after attachment.  $\times 130$   
 D. Two-thirds of glochidia are taken off from the cyst, 10 days after attachment.  $\times 130$   
 E. A juvenile clam(JC) emerged from the cyst just before detachment, 11 days after attachment.  $\times 130$ .

**Table 2. Changes of the glochidial sizes before attachment and after sloughed from host fish**

	Glochidial size (mm)	
	Before attachment	After sloughed
Shell length	0.345	0.356
Shell height	0.340	0.350
Ligament	0.265	0.273

일에서 15일이 경과한 후 모두 탈락하였으며, 부착전 유생과 숙주로부터 변태 후 탈락된 유패의 크기는 큰 차이가 없었다 (Table 2).

## 고 찰

석패과 패류는 그들의 유생을 glochidium이라는 형태로 모체로부터 방출하여 이동성이 강한 물고기에 일정기간 부착시켜 기생생활을 거친 후 변태하여 유패로 된다. 이와 같은 적응 방식은 이들 종들은 주로 담수의 수체환경 (예를 들면, 고인물, 연못, 호수 등)에서 물의 흐름이 충분하지 못하기 때문에 이들의 유생을 멀리까지 분산시키는 효과를 갖는 것으로 생각된다.

한편, 담수어류중 납자루아과 (Acheilognathinae) 어류의 암컷은 산란기에 긴 산란관 (ovipositor)을 이용하여 석패과 패류의 출수공에 산란을 한다. 산란된 알은 패류의 아가미 (demibranch) 안에서 부화되어 일정기간 성장한 후 아가미로부터 나와 자유 유영생활을 하게 된다 (Hirai, 1964; Nagata & Nishiyama, 1976). 따라서 담수산 패류와 일부 어류는 공생관계에 있다고 할 수 있다. 대부분의 석패과 패류는 바깥아가미를 보육낭으로 이용하는데 (Sellmer, 1967; Kat, 1984), 일부 종 (*Lamprotula gottschei*)은 안쪽아가미도 보육낭으로 사용한다고 보고되었다 (Park & Kwon, 1995). 본 연구에서 조사한 작은 대칭이는 바깥아가미에서 배발생을 하였다. Baker (1928)와 Wood (1974b)는 석패과 종들의 유생은 유생사 (larval thread)를 가지며 유생사는 기부에 있는 특별한 구멍으로부터 복잡하게 얽힌 덩어리 형태로 나온다고 보고하였다. 유생사는 감각과 부착의 두 가지 기능을 가지며 숙주에 최초로 접촉할 수 있는 기회를 증가시켜 부착을 돕는 기관이라고 알려져 있다 (Wood, 1974). 2차적으로 유생이 숙주어류에서 떨어지지 않고 부착할 수 있는 것은 유생의 패각 가장자리에 나 있는 수많은 갈고리가 그 역할을 한다 (Park & Kwon, 1993).

Arey (1932)는 유생이 일정기간을 지나 숙주로부터 탈락되는 것은 곧 변태된 유패 자체의 어떤 활동에 기인하며,

Murphy (1942)는 *Margaritifera margaritifera*의 유생이 보육낭 밖에서 11°C에서 11일 동안 살아있었다고 보고한 바 있으나 본 실험에서 작은 대칭이의 유생은 16°C에서 48시간 동안 살아 있었다. 이와 같은 차이는 석패과 종들의 특이성에 기인한 것으로 사료된다.

변태를 거친 유패의 크기는 다양한 것으로 알려져 있다. Murphy (1942)는 변태 과정을 거친 후 7배 정도 커진다고 하였으며, Matteson (1948)은 *Elliptio complanta*와 *Lampsilis radiata*의 유생은 크기가 증가되지 않았다고 보고하였다. 본 실험 중에서도 변태후 유패의 크기는 증가되지 않았으며 내부기관의 분화만 일어난 것으로 추정되었다. 유생이 숙주에 부착되었을 때 유생으로부터 방사상의 긴 돌기인 haustoria라는 구조물이 관찰되는데 그 역할은 알려져 있지 않다.

석패과 유생이 숙주에 감염되는 빈도는 일반적으로 낮은 것으로 알려졌는데, 이와 같은 예는 Trdan (1981)이 *Lampsilis radiata siliquoidea*의 유생을 7종의 숙주에서 조사한 결과, 숙주들 사이에서 감염의 경우 빈도가 낮고 (평균 8%), 또한 숙주당 평균 13마리의 유생이 기생하여 감염율이 낮게 나타났다 보고하였다. 그러나 Dartnell과 Walkey (1979)는 어떤 숙주집단에서는 100%의 감염율을 보였고 각각의 숙주에는 약 4000개의 유생이 감염되었다고 보고하였다. 본 실험에서는 숙주당 최고 28개체가 부착하였다. 이와 같은 감염율의 차이는 석패과 무리와 물고기 집단의 밀집상태, 그리고 숙주의 면역성 정도 등이 감염율에 영향을 미친 것으로 사료된다 (Fustish & Milleman, 1978; Mayers et al., 1980). 석패과 유생의 부착 대상 종에 관한 연구로는 어류 (Coker et al., 1921), 거머리와 올챙이 (Seshaiya, 1941), 도롱뇽 (Howard, 1951) 등이 있다. 숙주의 부착 부위에 관한 연구로 Choi 등 (1968)은 *Lamprotula coreana* 유생을 피라미에 부착시킨 결과 꼬리지느러미에 가장 높은 부착율 (41%)을 보였고 다음으로 가슴지느러미 순으로 부착되었으며, Kwon (1981)은 가슴지느러미에서 가장 높은 부착율 (42%)을 보고한 바 있다. 본 실험에서는 가슴지느러미 (30%), 꼬리지느러미 (22%) 순으로 부착율을 보였다. 이와 같이 가슴지느러미에 부착율이 높은 것은 수온의 하강으로 물고기의 이동력이 감소되어 가슴지느러미를 더 많이 움직이기 때문인 것으로 추측된다 (Kwon, 1981).

숙주에 일단 부착된 유생은 부착 후 2~3시간 이내에 피낭을 형성하거나 (Telda & Fernando, 1969), 20~36시간 이내에 형성되는 것으로 알려져 있다 (Tucker, 1927). 본 실험 결과 유생은 숙주어류에 노출시킨 후 약 30분 후에 부착되었으며, 1차 피낭을 형성하는 데는 24시간 정도 소요되었다. 이것

은 Jeong (1989)이 열대어종인 guppy에 *Anodonta grandis* 유생을 부착시킨 결과 3~4시간 내에 피낭을 형성하였다는 보고와 큰 차이를 보인다. 피낭형성 과정으로 Lefevre와 Curtis (1912)는 숙주조직의 세포증식에 의한 것으로 보고하였고, Arey (1932)는 세포의 이동에 의한 것으로 보고하였다. 본 실험 결과 피낭형성은 숙주 상피세포의 증식에 의한 것이 아니라 주변상피세포의 이동에 의한 것으로 사료된다.

유생이 숙주에 부착하는 기간은 종과 수온에 따라 차이를 보이며, 석패과 유생의 경우 6일에서 6개월까지 보고된 바 있다 (Telda & Fernando, 1969; Trdan & Hoeh, 1982). 본 연구에서 붕어를 숙주로 했을 때 부착에 16℃에서 13~15일 정도가 소요되었다. 앞으로 숙주의 피낭으로부터 탈락된 유패의 초기생활사를 조사할 필요가 있다.

## 인용문헌

- Arey LB (1921) An experimental study on glochidia and the factors underlying their encystment. *J Exp Zool* 33:436-499.
- Arey LB (1932) The formation and structure of the glochidial cyst 1. *Bio Bull* 62:212-221.
- Baker FC (1928) The freshwater mollusca of Wisconsin. Part II Pelecypoda *Bull Wisconsin Geol Natl Hist Survey* 70:1-495.
- Barnes RD (1974) *Invertebrate Zoology*. 3rd Ed Saunders Philadelphia pp. 389-432.
- Choi KC, Choi SS, Kwon OK (1968) Ecological studies on the *Laprotula coreana*. (II). On the attachment of the glochidia of *Laprotula coreana* to the infectious fish body. *Kor J Zool* 11:1-4.
- Coker RE, Shira AF, Clark HW, Howard AD (1921) Natural history and propagation of freshwater mussels. *Bull US Fish* 37:77-181.
- Dartnall HJG, Walkey M (1979) The distribution of glochidia of the swan mussel *Anodonta cygnea* (Mollusca) on the three-spined stickle back *Gasterosteus aculeatus* (Pisces). *J Zool London* 189:31-37.
- Ellis MM, Ellis MD (1926) Growth and transformation of parasitic glochidia in physiological nutrient solutions. *Science* 64:579-580.
- Fukuhara S, Nagata Y, Yamada T (1986) Glochidium parasitic period, host-fish and parasitic site of *Anodonta woodiana* in small pond. *Venus* 45:43-52.
- Fustish CA, Millemann RE (1978) Glochiosis of salmonid fishes. 2. Comparison of tissue response of Coho and Chinook salmon to experimental infection with *Margaritifera margaritifera* (L.) (Pelecypoda:Margaritiferidae). *J Parasitol* 64:155-157.
- Hirai K (1964) Comparative studies on ecology of four species of bitterling in the lake Biwa. *Physio Ecol* 12:72-81.
- Howard AD (1951) A river mussel parasitic on a salamander. *Chicago Acad Sci Natl Hist Misc Pub No* 77.
- Jeong KH (1989) An ultrastructural study on the glochidium and glochidial encystment on the host fish. *Kor J Malacol* 5:1-9.
- Jeong KH, Oh YS (1991) A scanning electron microscopic study of the glochidial encystment on the host fish (2). *Kor J Malacol* 7:76-86.
- Kat PW (1984) Parasitism and the Unionacea (Bivalvia). *Biol Rev* 59:189-207.
- Kwon OK (1981) The ecological studies on the molluscs in the lake Uiam. (1) on the attachment of the glochidia of *Anodonta hukudai* to the fish. *Kor J Limm*, 14:21-25.
- Kwon OK, Park GM, Song HB (1987) Studies on the egg deposition and the glochidial attachment between the freshwater mussels and fishes in the lake Uiam. *J Sci Tech Kangwon Natl* 25:39-43.
- Lefevre G, Curtis WC (1912) Studies on the reproduction and artificial propagation of freshwater mussels. *Bull US Bur Fish* 30:105-201.
- Matteson MR (1948) Life history of *Elliptio complanatus* (Dillwyn, 1817). *Amer Midland Natl* 40:690-723.
- Mayr E (1971) Populations, species and evolution. Harvard Univ Press Cambridge Massachusetts pp. 102-108.
- Mayers TR, Millemann RE, Fustish CA (1980) Glochiosis of salmonid fishes. IV. Humoral and tissue responses of Coho and Chinook salmon to experimental infection with *Margaritifera margaritifera* (L.) (Pelecypoda:Margaritiferidae). *J Parasitol* 66:274-281.
- Murphy G (1942) Relationship of the freshwater mussel to trout in the Truckee river. *California Fish Game* 28:89-102.

- Nagata Y, Nishigawa K (1976) Reproductive behavior of a bitterling, *Rhodeus ocellatus* (KNER). *Physiol Ecol* 17:85-90.
- Park GM, Kwon OK (1995) Seasonal gonadal cycle of the seven species of freshwater Unionidae (Pelecypoda: Unionida). *Kor J Malacol* 11:147-163.
- Sellmer GP (1967) Functional morphology and life history of the gem clam, *Gemma gemma* (Eulamellibranchia: Veneridae). *Malacologia* 5:137-224.
- Seshaiya RV (1941) Tadpoles as hosts for the glochidia of the freshwater mussels. *Current Sci* 10:535-536.
- Son JK, Park GM (1995) A scanning electron microscopic study of the shells of Unionidae (Bivalvia). 11:70-77.
- Surber T (1912) Identification of the glochidia of freshwater mussels. US Bureau Fish Document 771:1-10.
- Telda S, Fernando CH (1969) Observations on the glochidia of *Lampsilis radiata* (Gmelin) infesting the Yellow Perch, *Perca flavescens* (Mitchill) in the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Canadian J Zool* 47:705-712.
- Trdan RJ (1981) Reproductive biology of *Lampsilis radiata siliquidea* (Pelecypoda:Unionidae). *Amer. Midland Natl* 106:243-248.
- Trdan RJ, Hoeh WR (1982) Eurytopic host use by two congeneric species of freshwater mussel (Pelecypoda: Unionidae:Anodonta). *Amer Midland Natl* 108:381-388.
- Tucker EM (1927) Studies on the life cycles of two species of freshwater mussels belonging to the genus *Anodonta*. *Biol Bull* 54:117-127.
- Wood EM (1974a) Development and morphology of the glochidium larva of *Anodonta cygnea* (Mollusca:Bivalvia). *J Zool Lond* 173:1-13.
- Wood EM (1974b) Some mechanisms involved in host recognition and attachment of the glochidium larva of *Anodonta cygnea* (Mollusca:Bivalvia) *J Zool Lond* 173:15-30.