

참재첩, *Corbicula leana* (Prime)의 정자형성과정과 정자형태

김진희 · 유명숙
부경대학교 해양생물학과

Spermatogenesis and Sperm Morphology in Marsh Clams, *Corbicula leana* (Prime)

Jin-Hee KIM and Myong-Suk YOO

Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737 Korea

The ultrastructures of germinal cells of male marsh clam, *Corbicula leana* were studied. The mature sperm was primitive type, consisting of head, middle piece and tail. The mature sperm was whip-shaped and its head was divided into two parts; the acrosomal part shaped long hollow cone about 3 μm in length and the sperm nuclear part shaped a long stick about 9 μm in length. The posterior part of the sperm nuclear projected to centriole. The middle piece of the sperm-nuclear had four mitochondria and two centrioles. The sperm tail part had the 9+2 microtubular arrangement known as a typical pattern. During spermiogenesis, chromatin within sperm nuclear became fibric materials by condensation.

Keywords: Spermogenesis, Ultrastructure, *Corbicula leana*

서 론

이매패류 정자는 일반적으로 primitive type (Franzen, 1956)이며 수중으로 방정하여 수정되는 외부수정종이다 (Franzen, 1977). 대부분의 정자는 꼬리가 50 μm 정도이며, 중편에는 4~5개의 미토콘드리아, 핵의 응축에 의해 형성된 두부로 나누어진다. 두부는 원형, 타원형, 원통형 또는 고깔모양등 아주 다양한 모양을 하고 있다 (Franzen, 1983).

이매패류의 경우, 꼬리나 중편의 미세구조에서 약간의 차이를 보이는 경우도 있으나 일반적으로 핵의 모양, 특히 침체의 모양에서 큰 차이를 보인다 (Popham, 1979). Hughes (1965)는 정자형태에 따라 유대류의 계통유연관계를 연구하였고, Franzen (1955)은 복족류의 계통유연관계를 연구하였다. 또한 많은 연구자들은 패류 정자에 있어서 미세구조의 차이가 분류적 목적으로 이용가능함을 보고하였다 (Franzen, 1970, 1977, 1983; Popham, 1979).

재첩은 기수나 담수에 서식하며 우리나라에는 1속 6종 (權, 1993)이 보고되고 있으며 분류가 어려운 종 중의 하나이다.

참재첩, *Corbicula leana*은 재첩과 (Corbiculidae)에 속하며 기수산이며, 산란성기는 6~7월이며 체외수정종이다.

본 연구는 재첩 정자의 형태적 특징을 비교 연구하여 분류학적 측면으로 적용 가능성을 제시하고, 정자형성과정에 관한 기초생물학적 자료를 확보하고자 함이다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 표본은 경남 섬진강 하구에서 형망에 의해 채집된 참재첩중 성숙개체를 실험실로 옮겨 해부하여 암·수를 구분한 다음 정소를 소편으로 절취하였다. 이후 2.5% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.3) 용액에 2시간 전고정을 실시하고, phosphate buffer, pH 7.3으로 매회 10분씩 3회 세척을 하였다. 세척 후 1% OsO₄ (phosphate buffer, pH 7.3)에 2시간 동안 후고

정을 하여 acetone으로 탈수한 다음 Epon 812에 포매하였다. LKB-V ultramicrotome을 이용하여 1 μm 두께로 박절편을 만들고 조직관찰을 위하여 toluidine blue로 단일염색한 후 광학현미경하에서 정확한 부위를 확인한 후 초박절편을 만들었다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 한 다음 JEOL JEM 1200 EXII 투과전자현미경 (80KV)으로 관찰하였다.

결 과

정원세포

정원세포는 정소소관의 가장자리에 여러 층으로 배열되어 있고, 원형 또는 타원형의 세포질내에 4 μm 전후의 등근핵을 가지고 있다. 핵질은 이형염색질 (heterochromatin)이 진정염색질 (euchromatin)에 비해 상대적으로 넓게 분포하고 있고, 세포질에는 부정형의 많은 미토콘드리아가 보이며 리보솜, 소포체를 가지고 있으며 겉게 나타나는 osmiophilic성 조직도 산재해 있다 (Fig. A).

정모세포

이 시기에 도달하면 정원세포에 비해 핵경은 작아지나, 세포형태와 세포성소기관은 유사하다. 1차 정모세포는 핵경이 2.5 μm 전후로서 정원세포에 비해 이형염색질의 응축이 활발히 진행되고 있다 (Fig. B). 소포체는 거의 보이지가 않으며 그리고 골지체가 존재하고 있다.

정세포

정모세포는 원형이 우세하나 정세포는 타원형으로 바뀌기 시작한다. 초기 정세포의 핵은 구형이며, 1.6 μm 전후로서 염색질은 핵내에 가득차게 되고 미토콘드리아는 핵의 후방에 위치하게 되며 중심체가 관찰된다 (Fig. C). 이후 계속적인 정자변태과정을 겪으면서 핵경은 0.75 μm 전후의 타원형으로 신장된다. 이때 핵의 뒤

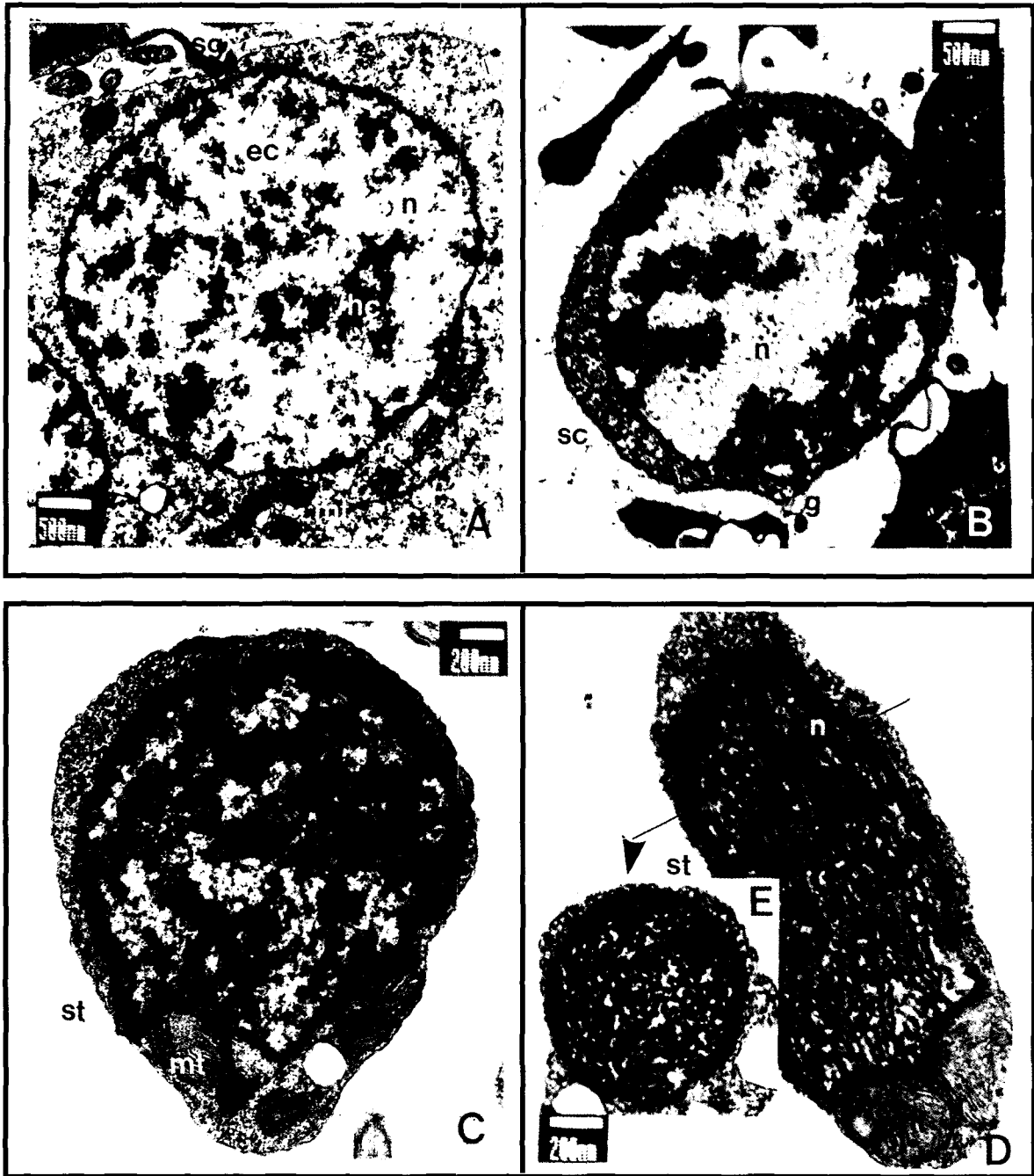


Fig. A. Section of spermatogonium (sg). ec, euchromatin; er, endoplasmic reticulum; hc, heterochromatin; mt, mitochondria; n, nucleus; ▶ osmiophilic material.
 Fig. B. Section of the 1st spermatocyte (sc). g, golgi body; n, nucleus.
 Fig. C, D. Spermatids of spermiogenesis (st). mt, mitochondria.
 Fig. E. Cross section of the spermatid (st).

쪽으로 미토콘드리아가 위치하며 핵질부 염색질은 응축되어 마치 실을 여러가닥 합쳐놓은 것 같은 섬유상으로 되고 세포질은 점차적으로 소실된다. 핵의 전단부에는 침체물질이 나타나고 과립상 물질도 비교적 풍부하다 (Fig. D, E).

정자

정자변태가 종료된 성숙정자는 긴 채찍 모양이며, 핵 전단부에는 좁고 긴 고깔모양의 침체와 상대적으로 두껍고 짧은 중편과 긴 꼬리를 가진다. 정자두부의 길이는 9 μm 전후이며, 침체는 약 3 μm 전후에 이르게 된다 (Fig. F). 핵의 전단부와 침체에는 과립상 물질이 나타나고 (Fig. G), 정자핵은 정세포에서 나타났던 섬유상 다발들이 융합되고 여러 개의 공포가 나타난다 (Fig. H). 정자핵의

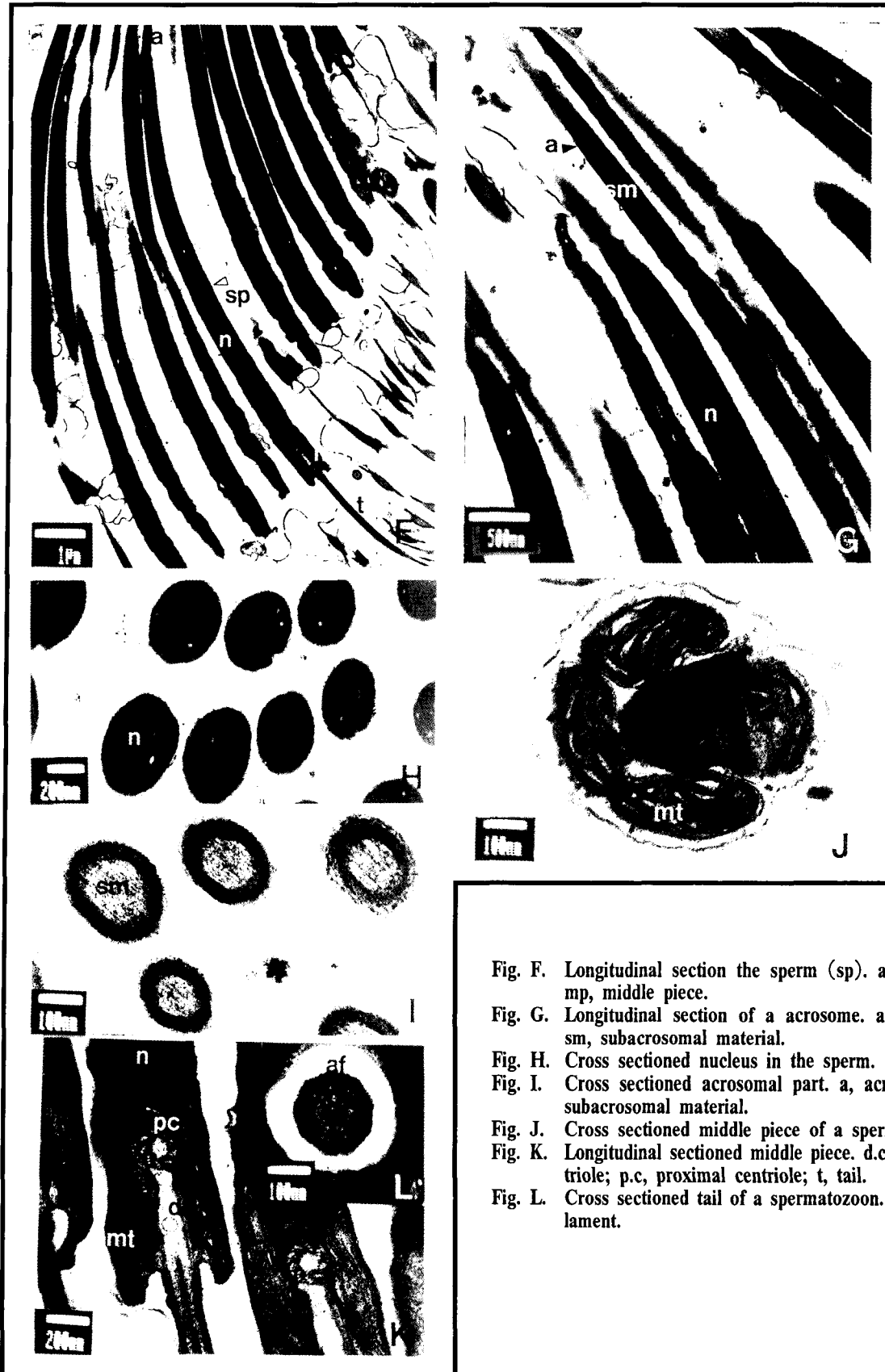


Fig. F. Longitudinal section the sperm (sp). a, acrosome; mp, middle piece.

Fig. G. Longitudinal section of a acrosome. a, acrosome; sm, subacrosomal material.

Fig. H. Cross sectioned nucleus in the sperm.

Fig. I. Cross sectioned acrosomal part. a, acrosome; sm, subacrosomal material.

Fig. J. Cross sectioned middle piece of a spermatozoon.

Fig. K. Longitudinal sectioned middle piece. d.c, distal centriole; p.c, proximal centriole; t, tail.

Fig. L. Cross sectioned tail of a spermatozoon. af, axial filament.

후반부는 함입되는 형태가 아니라 중심체쪽으로 돌출되는 (Fig. L) 형태를 보이고 있으며, 첨체는 좁고 긴 고깔모자의 형태로서 “basal ring” 같은 구조는 보이지 않으며 첨체와 첨체물질은 전자 밀도가 차이가 많이 나는 2부분으로 구분할 수 있다 (Fig. I).

정자의 중편에는 긴 타원형인 4개의 미토콘드리아 덩어리가 2개의 중심체를 둘러싸고 있으며 (Fig. J), 근위 중심체는 정자핵의 후방 돌출부 아래에 위치하고 편모의 중심축을 형성하고 있으며, 원위 중심체는 그 아래에 약간 거리를 두고 위치하고 있으며, satellite body는 관찰되지 않았다 (Fig. K). 정자의 편모는 한 쌍의 중심미세소관과 9쌍의 주변미세소관을 가지는 전형적인 9+2구조를 가진다 (Fig. L).

고 찰

참재첩, *Corbicula leana*의 정자형성과정은 다른 이매패류와 유사하다 (Hodgson and Bernard, 1986, Dorange and Le Penneec, 1989). Dorange and Le Penneec (1989)와 Hodgson and Bernard (1986)은 세포질내 작은 미토콘드리아가 융합하여 4 내지 5개의 큰 미토콘드리아를 형성한다고 보고하고 있다.

연체동물의 정자는 크게 4가지 형으로 구분하는데, primitive, modified, biflagellate 그리고 aflagellate type으로 나눈다 (Verdonk et al., 1983). 대부분의 이매패류는 primitive type에 속하는데, Franzen (1983)은 primitive type 정자는 일반적으로 체외수정을 하는 종이며 여러 개의 미토콘드리아가 2개의 중심체를 둘러싸고 있는 것으로 보고하고 있는데, 참재첩의 정자형태도 이와 일치한다.

대부분의 이매패류가 primitive type이지만 정자두부를 투과전자 현미경으로 조사하면, 많은 이매패류에서 크기, 형태, 구조에서 차이가 난다. 담치류의 첨체구조는 상대적으로 복잡하며 axial rod가 나타난다 (Bourcart et al., 1985; Hodgson and Bernard 1986). axial rod는 *Crassostrea virginica* (Daniels et al., 1971)에서도 보고되고 있다. Hylander and Summers (1977)는 *Chama macerophylla*와 *Spisula solidissima*의 정자에서 첨체를 2부분으로 구분하여 보고하였는데 즉, basal ring같은 전자밀도가 높은 부분과 첨체의 중심부 및 전단부의 전자밀도가 낮은 부분으로 나누었다. 그러나 본 종에서는 basal ring으로 정의할 수 있는 부분은 나타나지 않았고, 긴 고깔모양으로 중심과 첨체의 전자밀도가 다르게 나타나는 특이한 구조가 관찰되었다.

*Pinctada margaritifera*의 첨체는 전자밀도가 다른 3부분으로 나누어지는데, 전자밀도가 높은 물질은 첨체의 apex를 형성하고, 밀도가 낮은 지역은 고깔모양으로 첨체의 basal ring을 형성한다 (Thielley et al., 1993)고 하는데, 참재첩의 첨체는 상기 이매패류의 첨체구조와 다른 것으로 조사되었다.

Hylander and Summers (1977)은 정자의 첨체구조가 난모세포의 난막과 연관이 있다고 하였으며, Franzen (1983)도 동일한 내용을 보고하고 있다. 본 종의 난자는 두터운 젤리층을 가지고 있으므로 수정시 난막을 통과하기 쉽도록 첨체의 형태가 긴 고깔모양인 것으로 추정된다.

Franzen (1983)은 조개류는 안정적 구조를 가진 중편을 가지고 있다고 보고하고 있다. 미토콘드리아의 수는 종간에서도 다양하다. Hodgson and Bernard (1986)의 연구에 따르면, *Mytilus galloprovincialis*와 *Aulacomya*의 정자에는 5개나 6개의 미토콘드리아가 있는데 비해, *C. virginica*에서는 4개이며 (Daniels et al., 1971), *M. perna*는 5개, 드물게 4개를 가진다 (Bourcart et al., 1965). *Choromytilus meridionalis* (Hodgson and Bernard, 1986)와 *Pecten maximus* (Dorange and Le Penneec, 1989)에서는 4개, 드물게 5개의 미토콘드리아를 가진다고 보고하고 있다. 그리고 *P. margaritifera*의 경우에는 4개와 5개를 가진 비율이 1:1로 나타났다고 보고하고 있다 (Thielley et al., 1993). 본 종의 경우에는 4개의 미토콘드리아가 있었으며 이 보다 적거나 많이 가진 정자는 관찰되지 않았다.

Hodgson and Bernard (1986)와 Dorange and Penneec (1989)은 5개 미토콘드리아를 가진 개체는 비정상적 정자라고 보고하였으나, *P. margaritifera*는 4개와 5개의 미토콘드리아를 가진 비율이 1:1로 보고하고 있었으므로 정상, 비정상 정자를 구별하는 것은 어렵다. 그러나 본 종의 경우에는 4개 이외의 것은 비정상적인 정자라고 추정할 수 있다.

Satellite body는 핵 후반부의 근위중심체와 핵막부분에 나타나는데, *Bankia australis*와 *B. carinata* (Popham et al., 1974), *C. virginica*, (Daniels et al., 1971), *P. margaritifera* (Thielley et al., 1993) 등에서도 유사한 구조가 존재한다고 보고하고 있다. 그러나 Mytilidae를 연구한 Hodgson and Bernard (1986)과 Bourcart et al., (1965)의 연구에서는 보고되지 않았으며 그리고 *Pecten maximus* (Franzen, 1983; Dorange and Penneec, 1989)에 조사에서도 satellite body의 구조에 대한 결과를 언급하지 않았으며 본 종에서도 관찰되지 않았다. 이는 차후 이매패류의 진화방향 또는 분류를 위한 자료로서의 적용 가능성도 고려할 필요성이 있다고 추정된다.

대부분의 이매패류는 작은 두부, 그리고 모자모양의 첨체, 짧은 중편과 중심체를 둘러싼 4~5개 미토콘드리아를 가지고 있다 (Longo and Domfield, 1967). 그리고 50 μm 정도 길이의 편모를 가지며, 정자핵은 신장된다 (Franzen, 1983; Popham, 1979). 그러나 본 종의 정자두부모양은 매우 특이하여 긴 막대모양의 정자두부는 길이가 9 μm 전후에 달하고, 첨체는 약 3 μm 전후의 긴 고깔모양으로 일반적으로 basal ring을 가지는 이매패류의 첨체와는 아주 다른 특이한 형태를 하고 있다.

Yasuzumi (1974)는 정자변태과정에서 염색질이 응축되면서 과립상, 섬유상 그리고 층상형으로 대별된다고 보고하고 있다. 본 연구에서는 정세포의 변태과정 중에는 섬유상 다발 형태를 가지고 있었으나 변태가 완료되면 핵내에 여러 개의 공포가 관찰되면서 섬유상 다발이 응축되는데 이는 본 종의 특징으로 판단된다.

이매패류 정자 구조에 대한 다른 연구자들은 (Franzen, 1983; Hodgson and Bernard, 1986; Daniels et al., 1971; Popham et al., 1974) 동일 family내의 이종간에서 정자의 구조는 형태나 구조가 상호간에 많은 차이가 있다고 하였다. 따라서 정자의 미세구조는 동정을 목적으로 사용할 수 있고, 정확한 분류학적 자료로 사용할

수 있다고 보고하고 있다. *Corbicula*속에서는 상호 외부형태의 유사성 등으로 인해 분류에 많은 어려움에 봉착하고 있는데 다른 종과 비교연구를 수행하면 좋은 결과를 얻을 수 있으리라 판단된다.

본 종의 경우 정모세포기에 2개의 핵을 가지는 비정상적인 다핵세포가 관찰되었는데, Dorange and Pennec, (1989)은 *Pecten maximus*, Allen et al., (1986)은 *Mya arenaria*의 다핵현상을 보고하고 있다. Dorange and Pennec (1989)은 세포질 내에 편모가 존재하는 비정상적인 정자에 대해 보고하고 있다. Thielley et al., (1993)는 *P. margaritifera*는 세포질내에 편모가 존재하고, 2개의 편모를 가지는 개체도 보고하고 있다. 본 연구에서는 전자와 같은 구조를 가진 정자는 관찰하지 못하였다.

요 약

1998년 7월 섬진강 하구에서 채집한 참재첩, *Corbicula leana*를 대상으로 전자현미경적 연구를 수행하였다.

정원세포는 융성생식세포 가운데서 가장 크고, 제1차 정모세포와 제2차 정모세포는 크기와 핵내 이형염색질의 응축정도로써 구분이 가능하였다. 정세포에서 정자로의 변태과정에서 핵내의 물질은 섬유상 다발을 형성한 이후 변태완료 후에는 섬유상 다발은 사라졌다.

성숙정자는 채찍모양으로 전형적인 primitive type이었으며, 침체부는 3 μm, 핵질부는 9 μm 전후 었다. 핵질부 후반부는 중심체 쪽으로 융기되어 있고, 중편에는 2개의 중심체와 4개의 신장된 미토콘드리아를 가지고 있었다. 꼬리는 전형적인 9+2구조를 가졌다.

참 고 문 헌

Allen S.K., H. Hidu Jr. and J.G. Stanley. 1986. Abnormal gametogenesis and sex ratio in triploid softshell clams (*Mya arenaria*). Biol. Bull., 170, 198~210.
 Bourcart C., R. Lavallard and P. Lubet. 1965. Ultrastructure du spermatozoide de la moule (*Mytilus perna* von Ihering). C. R. Acad. Sci., 260, 5096~5099.
 Daniels E.W., A.C. Longwell, J.M. Niff and R.W. Wolfgang. 1971. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica*. Trans. Amer. Micros. Soc., 90 (3), 275~282.
 Dorange G. and M. Le. Pennec. 1989. Ultrastructural characteristics

of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia). Invert. Reprod. Dev., 15 (2), 109~117.
 Fain-Maurel M.A. 1966. Acquisitions recentes sur les spermatogeneses atypiques, An. Biol., 5, 11~12, 109~117.
 Franzen A. 1955. Comparative morphological investigations into spermiogenesis among Mollusca. Zool. Bidr. Upps., 30, 398~456.
 Franzen A. 1956. On spermiogenesis. Morphology of the spermatozoon, and biology of fertilization among invertebrates. Zool. Bidr. Upps., 31, 355~482.
 Franzen A. 1977. Sperm structure with regard to fertilization biology and phylogenetics. Verh. Dtsch. Zool. Ges., 1977, 123~128.
 Franzen A. 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. Gamete Res., 7, 199~214.
 Hodgson A.N. and R.T.F. Bernard. 1986. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of *Mytilidae* (Mollusca, Bivalvia). Gamete Res., 15, 123~135.
 Hughes R.L. 1965. Comparative morphology of spermatozoa from the five marsupial families. Aust. J. Zool., 13, 533~534.
 Hylander B.L. and R.G. Summers. 1977. An ultrastructural analysis of gametes and early fertilization in two bivalve Molluscs, *Chama macerophylla* and *Spisula solidissima*, with special reference to gametebinding. Cell Tiss. Res., 182, 469~489.
 Popham J.D., M.R. Dickson and C.K. Goddard. 1974. Ultrastructural study of the mature gametes of two species of *Bankia* (Mollusca; Teredinidae). Aust. J. Zool., 22, 1~12.
 Thielley M., M. Weppe and C. Herbaut. 1993. Ultrastructural study of gametogenesis in the French polynesian black pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia). I -spermatogenesis. J. Shell. Res., 12 (1), 41~47.
 Thiery J.P. and A. Ramgourg. 1974. Cytochimie des polysaccharides. J. Microscopie, 21, 225~232.
 Tranter D.J. 1958. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia) IV. *Pinctada margaritifera* (Linnaeus). Aust. J. Mar. Freshw. Res., 9, 509~ 525.
 Verdonk N.H., J.A.M. Van Den Biggelaar and A.S. Tompa. 1983. The mollusca. vol. 3. Development. Academic Press. New York London, pp.1~48.
 Yasuzumi, G. 1974. Electron microscope studies on spermiogenesis in various animal species. Int. Rev. Cytol., 37, 53~119.
 權伍吉·朴甲萬·李俊相. 1993. 原色韓國貝類圖鑑. 아카데미서적, pp. 221~222.

2000년 2월 7일 접수
 2000년 4월 20일 수리