

수컷 살조개, *Protothaca (Notochione) jedoensis* (Bivalvia: Veneridae)의 정자형성과정 중 생식세포 분화와 성숙정자의 미세구조적 특징

김진희¹ · 박영제² · 이기영³ · 최문술³ · 서원재⁴ · 정의영^{4,†}

¹한국해양수산연구원, ²바다녹색산업연구소, ³군산대학교 해양생물공학과, ⁴다이브코리아 한국해양환경생태연구소

Germ Cell Differentiations during Spermatogenesis and Ultrastructural Characteristics of Mature Sperms in Male *Protothaca (Notochione) jedoensis* (Bivalvia: Veneridae)

Jin Hee Kim¹, Young-Jae Park², Ki-Young Lee³, Moon Sul Choi³, Won-Jae Seo⁴ and Ee-Yung Chung^{4,†}

¹Korea Ocean & Fisheries Institute, Busan 608-810, Korea

²Sea Green Industry Institute, Bucheon 420-851, Korea

³Department of Marine Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea

⁴Korea Marine Environment & Ecosystem Institute, Dive Korea, Bucheon 420-857, Korea

ABSTRACT : Some characteristics of germ cell differentiations and the function of accessory cells during spermatogenesis, and mature sperm ultrastructure in male *Protothaca (N.) jedoensis* were investigated by transmission electron microscope observations. The morphology of the spermatozoa of this species has a primitive type and is similar to those of other species in the subclass Heterodonta. Accessory cells, which are connected to adjacent germ cells, are involved in the supplying of the nutrients for germ cell development. The morphologies of the sperm nucleus and the acrosome of this species are the cylindrical type and cap shape, respectively. Spermatozoa are approximately 46~50 μm in length including a long sperm nucleus (about 2.44 μm in length), an acrosome (about 0.45 μm in length), and tail flagellum (about 42~46 μm). The axoneme of the sperm tail shows a 9+2 structure. As some characteristics of the acrosomal vesicle structures, the basal and lateral parts of basal rings show electron opaque part (region), while the anterior apex part of the acrosomal vesicle shows electron lucent part (region). These characteristics of the acrosomal vesicle were found in the family Veneridae and other several families in the subclass Heterodonta. These common characteristics of the acrosomal vesicle in the subclass Heterodonta can be used for phylogenetic and systematic analysis as a taxonomic key or a significant tool. The number of mitochondria in the midpiece of the sperm of this species are four, as one of common characteristics appear in most species in the family Veneridae and other families in the subclass Heterodonta. However, exceptionally, only three species in Veneridae of the subclass Heterodonta contain 5 mitochondria. The number of mitochondria in the sperm midpiece can be used for the taxonomic analysis of the family or superfamily levels as a systematic key or an important tool.

Key words : *Protothaca (Notochione) jedoensis*, Spermatogenesis, Sperm ultrastructure, Accessory cell.

요약 : 본 연구는 수컷 살조개 *Protothaca (Notochione) yessoensis*의 정자 형성 과정 중 생식세포들의 분화와 성숙정자의 미세구조 특징에 관한 몇 가지 특징을 투과전자현미경 관찰에 의해 조사하였다. 본 종의 정자형태는 원시형(primitive type)으로, 이매패강, 이치아강(Heterodonta)에 속하는 다른 종들과 유사하다. 생식세포에 인접하여 연결되어 있는 보조세포들은 생식세포들의 발달을 위해 영양공급에 관여한다. 본 종의 정자의 핵형은 긴 원통형이며 첨체의 형태는 모자모양이다. 정자는 길이가 대략 46~50 μm 이며, 길다란 정핵(길이 약 2.44 μm)과, 첨체(길이 0.45 μm), 그리고 미부 편모(약 42~46 μm)로 이루어져 있다. 미부 편모의 악소님(axoneme)은 9+2 구조를 나타낸다. 첨체세포의 특징으로써 basal ring의 기저부

위에서 측면부위는 전자밀도가 불투명한 부위를 나타내나, 첨체세포의 앞쪽 정단부위는 전자밀도가 비교적 투명한 부위로 나타나는 특징을 보인다. 이것이 이치아강에

[†] 교신저자: 경기도 부천시 원미구 춘의동 200-1, 춘의테크노파크 101동 1504호. (우) 420-857, (전) 032-328-5145, (팩) 032-329-5554, E-mail: eychung@kunsan.ac.kr

속하는 백합과와 또 다른 여러 과들에 속하는 종들의 정자들이 갖는 침체세포의 공통특징이다. 따라서 이치아강이 갖는 이들 침체세포가 갖는 공통특징은 분류의 key 또는 중요한 도구로써 계통·분류를 위해 사용될 수 있다. 정자 중편에 있는 미토콘드리아 수는 4개로 이치아강 내에서 백합과의 3종을 제외한 모든 종들과 다른 과들의 종들에서 공통으로 나타나고 있는데, 예외로, 개조개, 백합, 가무락조개 만은 중편의 미토콘드리아가 5개로 이루어져 있다. 미토콘드리아 수는 과나 또는 상과 수준에서 종들의 분류학적 분석을 할 경우, 분류 key 또는 중요한 도구로 사용될 수 있다.

서론

연체동물 이매패류의 정자형성과정 및 정자 형태에 관한 연구는 광학 및 전자현미경에 의해 비교적 다수가 보고되어 있다(Healy and Lester, 1991; Eckerbarger & Davis, 1996; Lee et al., 2008; Chung et al., 2009; Kim et al., 2010). 정자형성과정은 정소의 정소소낭(acinus) 내 생식세포들과 보조세포들에 의해 일어나는 것으로 보고되어 있다. 정자 형성 과정 중 발달 단계별 생식세포 분화과정의 특징을 밝히고 생식세포 발달과 관련된 생식 메커니즘을 밝히기 위해서는 전자현미경에 의한 미세구조적 조사가 필요하다. 지금까지 정자의 형태 변이는 수많은 이매패류의 무리들 사이의 계통관계와 관련이 있으며, 진화वाद 상호 관련이 있는 것으로 보고되어 있다(Bacetti, 1970; Popham, 1979). 이와 같이 정자의 미세 구조는 연체동물 이매패류 내 종들의 계통·분류상 문제점을 해결하는데 매우 가치있는 도구로 이용되고 있다(Daniels et al., 1971; Popham, 1979; Healy, 1988, 1996; Hodgson and Bernard, 1986). 그러나 정자의 미세구조 중 정핵의 형태는 같은 과(family) 내에서도 속(genus)에 따라 매우 다양하기 때문에 과별로 일정한 공통된 특징이 없어 계통·분류 문제를 해결하는데 가치 있는 도구로써 사용될 수 없다. 그러나 최근 정자의 미세구조 중 침체 형태는 아강(subclass) 내 과별로 다른 미세구조를 나타내고 있을지라도 과(family) 내의 모든 종들은 공통된 특이한 특징을 가지고 있으며, 과들 간에 뚜렷한 구조상 차이로 광범위한 형태적 다양성을 나타내고 있어, 지금까지 계통 관계를 평가·분석하는데 가장 유용한 구조로 알려져 있다(Anderson & Personne, 1975; Healy & Lester, 1991). 이러한 이유로 이매패류 아강(Subclass)의 체계를 조직화하는데 정자 침체의 미세 구조를 이용하고 있다(Popham, 1979). Healy(1989)는 이매패류 아강 내의 각 종들은 특이한 침체 형태를 가진다고 보고하였다(Popham, 1979; Healy, 1989). 살조개는 이치아강(subclass Heterodonta)에 속하기 때문에 정자의 침체 형태는 이치아강에

속하는 다른 과들의 종들과 유사성을 비교 검토하여야 한다. 추가로 정자 중편의 미토콘드리아 수는 과(family)나 상과(superfamily) 내에서 매우 안정된 경향을 보이는 것으로 보고되어 있어(Healy, 1989, 1995), 최근 종들을 분류 분석하는데 매우 가치있는 도구로 이용되고 있기 때문에 백합과 살조개의 분류학적 분석을 위해 미토콘드리아 수를 점검할 필요가 있다.

지금까지 살조개류(*Protothaca* spp.)의 발생과 생태에 관해서는 소수의 연구·보고가 되어 있다. 그 중, 외국산 살조개류인 *P. asperrina*의 배발생(Ewart et al., 1988)과 *P. grata*의 생식주기(Pizarro & Cruz, 1987)가 보고되어 있고, 국내산 살조개(*P. jedoensis*)에 관해서는 생식주기(Kim, 1996, 2002)와 성숙속과 성비(Kim et al., 2003) 등이 보고되어 있다. 그리고 생태에 관한 연구·보고로는 *Protothaca* sp.의 성장 형태(Harrington, 1987) 등에 관한 것만 보고되어 있을 뿐, 지금까지 살조개의 정자형성에 관한 미세구조적 연구·보고는 찾아볼 수 없었다. 따라서 본 연구에서는 백합과 살조개를 대상으로 정자 형성 과정 중 생식세포들의 발달 단계별 분화 특징을 조사하는 동시에 계통·분류 분석에 사용되는 성숙정자를 구성하는 일부 구조들의 미세구조적 특징들을 투과전자현미경으로 조사하여 본 종과 백합과 종들을 비교, 검토하였고, 이들 결과를 이치아강(subclass Heterodonta) 내의 여러 과(family)들과 상호 비교, 조사하여, 성숙정자들의 어떤 미세구조적 특징들이 종의 계통·분류 분석에 사용될 수 있는지 조사하였다.

재료 및 방법

1. 표본 채집

본 연구에 사용된 살조개 표본은 2008년 1월부터 12월까지 경상남도 남해군 창선면 앞 바다 조하대에서 skin scuba에 의해 매월 30~40개체씩 채집하였다. 개체군 성숙도 100%인 성숙 개체(각장 45.0 mm 이상)의 범위에 해당하는 총

405 개체를 채집하여 실험실로 운반하여 각장, 각고, 각폭, 전중량을 측정 후, 투과형전자현미경 관찰용 표본 제작을 위해 시료로 사용하였다.

2. 투과형전자현미경(TEM)에 의한 생식세포 분화의 미세 구조적 관찰

투과형 전자현미경(transmission electron microscope) 조직표본의 제작은 2.5% glutaraldehyde-2% paraformaldehyde (0.1 M cacodylate buffer, pH 7.5)에 2시간 전 고정 후 0.1 M cacodylate buffer(pH 7.5)로 약 30분 간격으로 3회 반복하여 충분히 세척하고 2% osmiumtetroxide와 0.2 M cacodylate 1:1 용액에서 90분간 후 고정시켰다. 고정이 끝난 조직 소편은 에탄올에 의해 탈수한 뒤, propylene oxide로 치환하고 Epon-812 혼합액에 포매하여 Sorval MT-2 ultramicrotome으로 초박절편을 제작하였다. 초박 절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자 염색하여 JEM 100 CX-II 전자현미경(100 KV)하에서 관찰하였다.

결 과

1. 정자형성과정(Spermatogenesis)

정소 발달에 따른 생식세포들의 미세구조 및 형태적 특징들을 근거로 정자 형성 과정은 편의상 4 단계로 구분하였다: (1) 정원세포기(spermatogonial stage), (2) 정모세포기(spermatocyte stage), (3) 정세포기 (spermatid stage), (4) 정자기(spermatozoon stage).

1) 정원세포기(Spermatogonial Stage)

1차 정원세포들(primary spermatogonia)은 정소소낭 벽(acinus wall)을 따라 위치하고 있다. 1차 정원세포들은 때때로 보조세포들 가까이에서 출현하였다. 1차 정원세포들은 크기가 대략 6~7 μm 이며, 세포들의 외형은 다소 둥근 모양을 나타내었다. 정원세포는 핵 내에 염색질을 갖는 큰 핵을 가지는데, 핵의 크기는 장경 4.5 μm , 단경 3.5 μm 정도이었으며, 세포질 내에는 다수의 미토콘드리아가 출현하였다. 1차 정원세포들은 유사분열에 의해 2차 정원세포로 되었다. 1차 정원세포들과 2차 정원세포들의 차이는 2차 정원세포들(secondary spermatogonia)의 핵과 세포질이 1차 정원세포들의 것들보다 크기가 약간 작게 나타나는 차이를 보였다. 이들 1차,

2차 정원세포들의 세포질 내에는 다수의 미토콘드리아와 공포들이 출현하나, 다른 세포소기관자들은 관찰하기 어렵다 (Fig. 1A).

2) 정모세포기(Spermatocyte Stage)

정소 발달이 진행되므로서 2차 정원세포들은 유사분열을 거쳐 1차 정모세포(약 5~6 μm)로 발달하였다. 1차 정모세포들(primary spermatocytes)의 핵(약 3~3.5 μm)은 2차 정원세포의 핵보다 전자밀도가 약간 더 짙은 염색질(chromatin)을 함유하였다. 1차 정모세포의 핵 내에서는 1차 성숙분열 전기의 복사기에 나타나는 연결사 복합체(synaptonemal complex)들이 핵 내에 출현하였다. 그리고 세포질 내에는 다수의 미토콘드리아가 출현하나, 세포질이 감소되어, 핵-세포질 비율은 증가하였다. 1차 정모세포의 모양은 대체로 타원형이었으며(Fig. 1B). 이 시기에 다수의 1차 정모세포들과 2차 정모세포들(secondary spermatocytes) 가까이에서 소수의 보조세포들(accessory cell-I과 accessory cell-II)이 출현하였다(Fig. 1C).

2차 정모세포들은 1차 정모세포들에서 제 1차 감수분열이 빠르게 일어나기 때문에 드물게 관찰되는 특징을 보였다. 2차 정모세포들(대략 4~5 μm)은 모양이 약간 불규칙하였으며, 핵의 모양은 구형이었다. 특히, 핵(3.0~3.2 μm) 내에 분산된 이형염색질(heterochromatin)들이 출현함으로써, 2차 정모세포들의 핵 내 물질들은 1차 정모세포들의 것보다 전자밀도가 좀 더 높았다. 이 시기에 소수의 보조세포들이 여러 개의 2차 정모세포들 가까이에서 나타나는데, 다형의 보조세포(AC-I)들의 세포질 내에는 다량의 글리코겐 입자들이 출현하고 있으며, 아메바형 보조세포(amoeboid AC-II)의 세포질 내에는 전자밀도가 짙은 과립들(일종의 리소조움들)이 출현하였다 (Fig. 1C).

3) 정세포기(Spermatid Stage)

2차 정모세포는 2차 성숙분열에 의해 정세포들로 분화되었다. 편의상 정세포들의 정자 변태 과정을 초기 정자 변태 과정과 후기 정자 변태 과정의 2단계로 나누어 보면 다음과 같다.

초기 정자 변태 과정 중 정세포들은 모양이 타원형이며, 크기는 직경이 3~4 μm 정도이었다. 이들의 핵은 둥근 모양이며, 핵의 가장자리와 중앙부에는 분산된 이형염색질(heterochromatin)이 출현하여 핵 내 전자밀도가 높게 나타났다. 정세포의

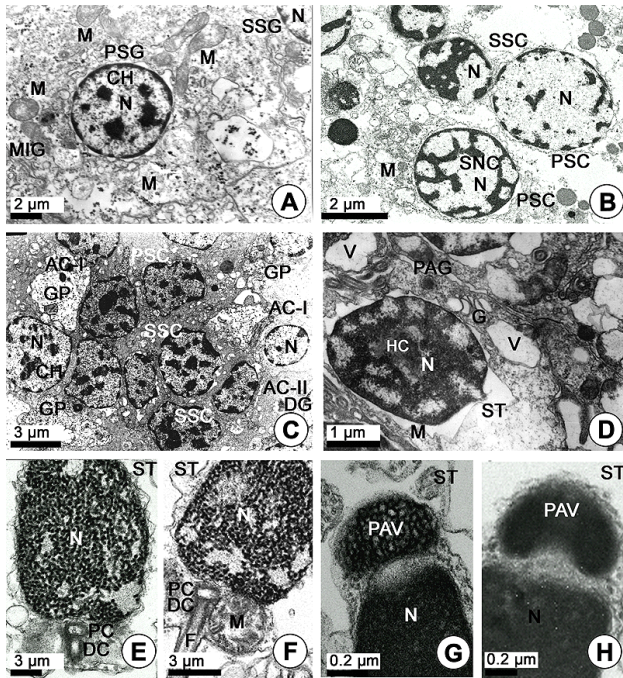


Fig. 1. Transmission electron micrographs of spermatogenesis and spermiogenesis in male *Protothaca jedoensis* (A~H). A, The primary spermatogonium (PSG) and secondary spermatogonium (SSG). Note a nucleus (N) containing chromatins (CH) and several mitochondria (M) in the cytoplasm. B, Primary spermatocytes (PSC) and secondary spermatocytes (SSC). Note several synaptonemal complex (SNC) in the nucleus during the prophase of primary maturation division and mitochondria (M) in the cytoplasm. C, Primary spermatocytes (PSC), secondary spermatocytes (SSC) and accessory cells. Note chromatins (CH) in the nucleus, a large quantity of glycogen particles (GP), a few lipid droplets (LD) in the accessory cells (AC-I) and lysosomes (dense granule (DG)) in the accessory cell (AC-II). D, A spermatid (ST). Note high electron dense heterochromatin materials (HC) in the nucleus and proacrosomal granule near the Golgi complex, mitochondria (M) and vacuoles (V). E, A spermatid in the early stage of differentiation during spermiogenesis. Note high electron dense granules in the nucleus and the proximal centriole (PC) distal centriole (DC) beneath the posterior nuclear fossa. F, A spermatid in the same stage. Note the proximal centriole (PC), distal centriole (DC) surrounded with two spherical mitochondria at the sperm midpiece and appearance of a flagellum (F). G, A spermatid in the middle stage of differentiation during spermiogenesis. Note a high electron dense proacrosomal vesicle (PAV) in the beginning of acrosome formation on the nucleus. H, A spermatid in the same stage of differentiation during spermiogenesis. Note a developed high electron dense proacrosomal vesicle (PAV) on the anterior nuclear fossa.

세포질 내에는 여러 개의 미토콘드리아가 출현했고, 정자 변태 과정 중 침체 형성 과정은 정세포들의 핵 앞에서 시작되었다. 이들 침체 형성 단계는 편의상 (1) 골지기(Golgi phase), (2) 두모기(cap phase), (3) 침체기(acrosome phase), (4) 성숙기(maturation phase)의 4단계로 구분할 수 있었다. 정세포 분화과정에서 골지기 중에는 정세포의 형태가 점진적으로 변화였다. 이 단계에서 세포질 내 골지체와 작은 침체전구과립들(proacrosomal granule)은 핵의 바로 앞으로 이동하여 출현하는 대신, 미토콘드리아들은 핵의 바로 뒤로 이동하였다(Fig. 1D). 정세포 핵의 형태는 점진적으로 신장되었으며, 핵 내에는 과립상 물질들이 핵을 가득 채워 전자밀도가 높게 나타났다. 이 시기에 2개의 중심립(centriole)들이 핵 밑 중편 부위로 이동하여 출현하였으며, 핵의 기저부에는 구형의 미토콘드리아들이 핵막 가까이에서 출현하였다. 구형의 미토콘드리아들이 중심체를 둘러싸는데, 이들이 정자의 중편을 구성하였다(Fig. 1E). 핵 후부의 중앙부위 일부에서 함입이 일어나 두 개의 중심립 중, 근위중심립은 핵의 후부 홈에 놓여 있고, 악소님에 대해 수직을 이루었다. 이것은 핵막에 연결되지 않는 것으로 나타났다. 원위중심립은 근위중심립 바로 아래에 위치하여 2개의 중심립들은 서로 직각을 이룬 위치에 출현하였다. 원위중심립(distal centriole)에서 생모체가 생성되어 한 개의 편모가 생성되는데, 편모의 기저부를 차지하는 원위중심립은 편모의 기저소체를 형성하였고, 편모는 수많은 편모축사에 의해 형성되었다(Fig. 1F). 한편, 두 모기 중에는 골지복합체에서 생성된 여러 개의 과립들이 한 개의 큰 과립상의 침체전구과립으로 된 후(Fig. 1D), 이것은 다시 한 개의 침체전구포(proacrosomal vesicle)를 형성하여 정세포 핵의 바로 앞에 출현하였다(Figs. 1G, H).

침체형성단계 중 침체기에는 핵 모양이 변형되어 점차 길게 신장되었다. 정세포 핵 위에 출현하는 침체전구포는 변형되어 핵 위에 모자 모양의 침체소포(acrosomal vesicle)로 되었다. 이 시기에 핵 위에 있는 침체소포는 좌측과 우측의 전자 밀도가 불투명한 부분들(basal rings)과 침체 앞 꼭대기의 전자 밀도가 투명한 부분으로 구분되어 출현하였다. 이때 변태 중인 정세포는 세포질이 크게 감소되어 핵-세포질의 비율은 높아졌다(Fig. 2A).

4) 정자(spermatozoon stage)

침체형성단계 중 성숙기에 이르면 정자의 분화가 완성되

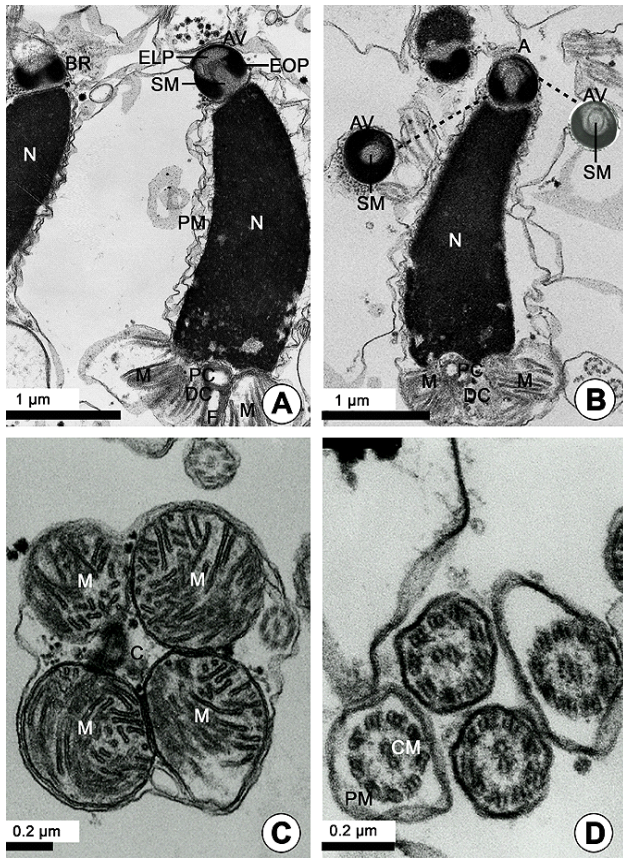


Fig. 2. Transmission electron micrographs of spermiogenesis and mature spermatozoon in male *Protothaca jedoensis* (A~D). A, Elongated long nuclei, the proximal, distal centrioles and a flagellum of the spermatid in the late stage of spermiogenesis and an acrosomal vesicle containing basal rings. Note electron opaque parts (EOP) of basal rings (BR) and electron lucent part (ELP) of the anterior apex part of the acrosomal vesicle on the nucleus (N) and proximal centrioles (PC), distal centriole (DC) and spherical mitochondria (M) in the midpiece and a tail flagellum (F). B, An acrosomal vesicle in an acrosome on the nucleus of a mature sperm. Note subacrosomal materials (SM) in the an acrosomal vesicle (AV) on the elongated nucleus (N) and proximal centrioles (PC), distal centriole (DC) and spherical mitochondria (M) in the midpiece of the mature sperm. C, Cross sectioned part of the sperm midpiece. Note four mitochondria surrounding a pair of centrioles. D, Cross sectioned a tail flagellum of mature sperm. Note the axoneme showing a 9+2 structure (a pair of central microtubules and nine pair of peripheral microtubules).

어 성숙정자가 되는데, 성숙정자의 모양은 체외수정을 하는 연체동물의 이매패류 중들에서 출현하는 원시형(primitive type)을 나타내었다(Fig. 2B). 살조개 핵은 앞과 뒤 부분의 넓이가 다른 신장된 원통형(cylindrical type)을 나타내었다. 성숙정자 핵의 길이는 2.44 μm 이었으며, 핵의 넓이는 장경 0.97 μm , 단경 0.53 μm 이었다. 성숙정자의 길이는 대략 46~50 μm 정도이었다. 핵의 앞쪽은 약간 함입되어 있고, 핵 뒤쪽도 다소 함입되어 있다. 핵 앞에 존재하는 침체는 모자 모양(cap shape)이었고, 침체세포의 내막과 외막은 밀착되어 나타났다. 침체세포 내에는 좌측과 우측으로 갈라진 basal ring들이 존재하는데, 왼쪽 및 오른쪽 basal ring들은 전자밀도가 높은 불투명한 부분(electron opaque part (region))을 나타내나 침체세포의 앞 정단 부위(anterior apex part)는 전자밀도가 낮아 밝게 보이는 부분(electron lucent part (region))으로 이루어져 있어 전형적인 이치아강(Sub-class Heterodonta)의 중들이 나타내는 침체세포를 가지고 있어 매우 유사한 특징을 보였다. 침체세포를 횡으로 절단하면 headphone 모양으로 특히, 본 종에서는 백합과의 이매패류들과 같이 침체사를 관찰할 수 없었다. 정자 중편에는 근위중심립과 원위중심립이 수직으로 위치하고, 4개의 미토콘드리아가 중심체를 둘러싸고 있으며, 원위중심립 주변에서 satellite fibre는 찾아볼 수 없다(Fig. 2B). 침체 길이는 0.45 μm 정도이었다. 침체와 핵은 약간의 거리가 있고 침체과립물질(subacrosomal granular materials)은 전자밀도가 다소 낮은 과립상의 물질로 채워져 출현하였다. 중편에는 4개의 미토콘드리아가 중심체를 둘러싸고 있으며(Fig. 2C), 원위중심립 주변에서 satellite fibre는 찾아볼 수 없었다. 정자 미부 편모의 길이는 대략 42~46 μm 정도이었다. 이때 미부편모를 횡절단하여 보면, 미부편모의 악소님(axoneme)은 주변에 9쌍의 미세소관들과 중앙에 한쌍의 중심 미세소관으로 구성되어 있어, 악소님은 9+2구조를 나타내었다(Fig. 2D).

고찰

1. 정자형성과정

백합과(Veneridae)에 속하는 살조개의 정소는 수많은 정소소낭(acinus)들로 이루어져 있는데, 이들 소낭 속에서 일어나는 생식세포들의 분화과정 및 성숙정자들의 미세구조는 다른 이매패류의 것들과 유사한 현상을 나타내었다(Kim, 2001;

Park et al., 2002, 2003; Chung et al., 2010). 이매패류의 정자 형성 과정은 다른 많은 연체동물에서 조사된 것과 유사하다(Sakker, 1984; Bernard & Hodgson, 1985; Chung et al., 2007, Kim et al., 2010). 정자 형성 과정은 생식세포들과 보조세포들 사이의 상호작용에 의해 일어나고 있다. 정자 형성 과정에서 정원세포들은 유사 분열을 거쳐 분열 증식이 일어나 수적 증가가 일어나며, 이들이 성장, 발달하여 1차 정모세포가 된다. 1차 정모세포의 핵은 정원세포의 것들보다 약간 짙은 염색질을 함유한다. 본 연구에서 특히, 1차 정모세포 핵 속에 분산된 염색질들 사이에 연결사복합체가 1차 성숙 분열 중 전기의 복사기에 출현하여 1차 정모세포의 특징을 보여주고 있다. 비록 정원세포와 정모세포, 등의 초기 발달 중인 생식세포들은 이들 세포 발달 단계별 특징이 서로 달라 뚜렷하게 나타난다고 하더라도 이들 특징에 따른 종을 구분하기 어렵다. 그러나 정세포가 정자로 되는 정자 변태 과정에서 염색질의 응축 정도와 형태는 향후 핵 모양을 결정하는 중요한 요인으로 작용한다. 정세포의 핵은 정자 변태 과정(spermiogenesis) 중 염색질 응축이 일어나 응축 정도에 따라 핵이 전·후로 신장되거나 좌우로 넓어지는 등 핵의 형태는 현저하게 바뀐다. Yasuzumi(1974)는 정세포 핵을 염색질 응축 형태 및 정도에 따라 과립상, 섬유상, 층상의 3가지로 구분하였다. 그러나 이매패류의 경우는 염색질 응축 초기에는 과립상이며, 응축이 진행되면서 섬유상으로 변하고, 이 염색질의 비후와 신장 정도에 따라 핵의 모양이 결정된다고 보고하였다.

Kim(2001)의 보고에 의하면, 핵의 모양이 좌우로 신장되어 핵이 넓게 나타나는 종(굴과, 홍합과 등)과 핵의 모양이 전·후로 길게 신장되는 종(백합과, 가리비과, 재첩과, 우럭, 코끼리조개 등)은 섬유상의 염색질이 응축되면서 비후되고 핵을 신장시킨다고 보고하였다. 이와 같이 핵의 모양을 결정하는 것은 염색질의 응축 정도와 형태에 의해 핵의 모양이 결정되는 것으로 추정된다고 보고하였다. 침체는 몇 가지 다른 방법으로 Golgi complex의 과립 분비에 의해 형성된다(Longo & Dornfeld, 1967; Sastry, 1979). 담치류인 홍합(*Mytilus coruscus*)에서는 다수의 작은 침체전구포(proacrosomal vesicle)가 골지복합체에 의해 생성되고, 정자 변태 과정 동안 이 vesicle들은 침체세포에서 합쳐진다고 보고되어 있다(Kim et al., 2010). 본 조사에서 살조개(*P. yedoensis*)의 경우는 정세포의 정자 변태 과정 초기에 골지체의 분비에 의해 과립들이 생성된 후

이들 과립이 합쳐져 전자밀도가 높은 포상의 과립형인 침체전구포가 형성된다. 일반적으로 침체전구포의 형태는 종에 따라 다른 특이성을 가지는 것으로 보아, 모든 이매패류가 동일한 과정으로 침체전구포가 형성된다고 판단하기 어렵고, 과나 속 수준에서 특이성을 갖는 것으로 판단되어 향후 지속적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

특히, 정소소낭 내의 생식세포에 부착된 보조세포들은 생식세포들의 발달을 위해 영양을 공급하는 것으로 보고되어 있다(Eckelbarger et al., 1990; Chung et al., 2010). 특히, Eckelbarger et al.(1990)은 galeommatoidid 이매패류 3종에서 2가지 형의 보조세포들의 형태적 차이를 보고하였다. 첫 번째, 다형의 보조세포는 정소의 정소소낭 벽 쪽에 한정되어 나타나며, 글리코겐과 지질을 저장한다. 두 번째, 보조세포는 생식세포들이 발달 중인 정자와 밀접한 관련을 가지며, 정소소낭(acinus)에 분산되어 존재한다고 보고하였다. 이와 같이 2가지 보조세포들은 이매패류 같은 종의 정소에서 기록되어 있다. 특히, 보조세포들은 *Scrabicullaria plana*(Sousa et al., 1989), 대서양굴 *Crassostrea virginica*(Eckelbarger and Davis, 1996)들의 정소에서는 데스모소움(desmosome)을 경유하여 인접한 생식세포들과 연결되어 있는 것으로 관찰되었으며, 밀착연접(tight junction)은 가리비류 *Pecten maximus*(Dorange & Le Pennec, 1989)에서 보고되어 있다. 이들의 발견은 생식세포들과 보조세포들 사이의 상호작용을 나타낸다. 본 조사에서 정자 형성 과정 중에 정소소낭(acinus) 내에서 생식세포들 가까이에 함께 혼합되어 출현하는 보조세포들을 발견하였다. 특히, 다량의 글리코겐 입자들과 소수의 지방적질이 정자 형성 중인 보조세포 내에서 관찰되었다. 이것은 보조세포들이 발달 중인 생식세포들에게 영양질을 공급하는 중요한 어떤 역할을 하는 것으로 추정된다. 그러나 본 조사에서 살조개의 정소소낭 내의 생식세포들이나 보조세포 사이의 어떤 데스모소움(또는 연접)을 발견할 수 없었다. 앞으로 보조세포의 미세구조를 상세히 조사하여야 한다. Gaulejac et al.(1995)은 *Pinna nobilis*에서 정자 형성 말기에 흡수 기능을 하는 위축-모양의 돌기를 가지는 보조세포들이 정자 형성 말엽에 나타났다고 보고하였으며, 이들 보조세포들의 한 가지 공통적인 특징은 식작용이나 흡수 기능을 가지는 것으로 관찰되었다고 보고하였다.

본 조사에서 정자 형성 과정 중 여러가지 생식세포들은 acinus 내의 보조세포들이 가까이에 출현하였으며, 보조세

포들(체세포들)은 세포질 내에 다량의 글리코겐 입자들과 지방적들을 함유하여 다른 연구자들(Gaulejac et al., 1995; Eckelbarger & Davis, 1996; Chung et al., 2007)과 유사한 결과를 관찰할 수 있었다. Eckelbarger et al. (1990)는 방정 후 잔존 생식세포들은 리소조옴들에 의한 식세포작용에 의해 phagosome을 형성하여 자체 소화되게 된다고 보고하였다. 그러나 본 조사에서는 잔존 생식세포들을 포식하는 리소조옴에 의한 식세포 현상은 관찰되지 않았다. 따라서 정자 형성 과정 중 생식세포 발달 단계에 따른 보조세포들의 미세구조와 기능들은 아직 상세히 밝혀져 있지 않아 좀 더 상세한 연구가 필요하다.

2. 성숙정자의 형태 및 구조

일반적으로 동물 정자의 형(type)은 편의상 크게 4가지 type 즉, 원시형(primitive type), 변형형(modified type), 쌍편모형(biflagellate type), 그리고 무편모형(aflagellate type)으로 구분하고 있다(Verdonk et al., 1983). 대부분의 이매패류는 primitive type에 속하며, 정자의 구조는 두부와 중편, 미부로 구성되어 있다. 정자 두부는 대체로 뾰족하거나 긴 침체와 둥근핵 (또는 길게 신장된 핵)을 가지며, 중편에는 2개의 중심립(centrioles)이 수직으로 위치하고, 여러 개의 미토콘드리아가 중심체를 둘러싸고 있으며, 정자 미부에는 길이가 약 50 μm 전후인 편모를 가진다. 본 조사에서 살조개 성숙정자의 경우도 이미 보고된 이치아강(subclass heterodontia)에 속하는 여러 과들에 속하는 종들의 정자들과 비교하여 보면 전반적으로 형태학적으로, 미세구조적으로 매우 유사하였으나, 성숙정자의 미세구조적 특징은 과별로 조금씩 다른 특징을 보였다(Kim, 2001; Kim et al., 2010; Chung et al., 2010).

3. 성숙정자의 미세구조 특징이 갖는 계통분류학적 의미

지금까지 정자의 미세구조는 정자 변태 평가 분석을 통해 후생동물에서 잘 보고되어 있다(Jamieson, 1987, 1991). 특히, 연체동물 이매패류 내의 분류 및 계통분류학적 문제들을 평가, 해석하는데 있어 정자의 미세구조는 매우 가치 있는 도구로 이용되고 있으며(Daniels et al., 1971; Popham, 1979; Healy, 1989, 1995; Hodgson and Bernard, 1986), 유연종을 비교하는 경우 특히, 유용하게 이용되고 있다(Popham et al., 1974; Popham, 1979). 정자 미세구조 중 침체의 형태와 정자 중편의 미토콘드리아 수는 최근 분류학적 해석에 널리 이

용되고 있다.

특히, 정자들의 침체 형태는 이매패류 아강(subclass)들의 계통을 편성하는데 이용되고 있는 것으로 알려져 있으며(Popham, 1979), 정자 중편의 미토콘드리아의 수는 어떤 과(family)나 상과(superfamily) 내에서 안정된 경향을 보이고 있어 분류학적 분석에 이용되고 있다. 그러므로 본 종의 분류학적 분석을 위해서는 정자들의 침체 형태와 정자 중편의 미토콘드리아 수를 면밀히 조사할 필요가 있다. 만약 정자들의 미세구조와 정자 변태 과정 중 얻어진 몇 가지 특징들이 계통분류학적으로 분석되어진다면, 이매패류 정자들에 관한 미세구조적 연구 결과들은 몇 가지 이매패류의 아강들(subclasses) 중에서 상관관계 양상들을 설명하는데 있어 귀중한 정보를 제공할 수 있다(Popham et al., 1974, Popham, 1979; Healy, 1989, 1995). 따라서 정자 미세구조에 관한 정보는 이매패류의 중요한 clade(계통분류군)를 위해 아주 중요하다.

최근 Sousa 등(1989)은 연체동물 정자의 미세구조를 조사한 결과에서 골지체가 한 개의 침체소포(acrosomal vesicle)를 형성하였다고 보고하였다. Eckelbarger & Davis(1996)는 침체전구포(proacrosomal vesicle)가 대서양굴 *C. virginica*에서는 통상 정모세포가 나타나는 시기에 나타났다고 보고되어 있으나, 본 조사에서 살조개 *P. jedoensis*의 경우에는 한 개의 침체전구포가 정세포기에 나타났으며, 이 침체전구포는 그 후 한 개의 침체가 되었다. 연체동물 정자의 형태에 관하여, Franzen(1970)은 연체동물 정자 형태를 1) 원시형과 2) 변형형의 두가지 형으로 구분하였다. 원시형은 체외수정을 하는 종들에서 발견되나, 변형형(modified type)은 체내수정을 하는 종들에서 발견된다고 보고하였다. Verdonk et al. (1983)은 정자 형태를 1) 원시형, 2) 변형형, 3) 쌍편모형, 그리고 4) 무편모형의 4가지 형(type)으로 나누었다. 연체동물 정자의 형(sperm type) 중 원시형은 연체동물 중 체외수정을 하는 이매패류의 대부분에서 발견되나, 변형형은 체내수정을 하는 복족류의 대부분에서 발견되고 있다(Kim, 2001). 그리고 쌍편모형(biflagellate type)은 자연산 개체군이지만 원래부터 3배체인 담수산 재첩류 중 재첩(*Corbicula fluminea*)과 참재첩(*C. leana*)은 쌍편모형에 속하는 것으로 보고되어 있다(Komaru & Konishi, 1996; Komaru et al., 1997). 그러나 무편모형은 찾아 보기 어려우나, 극소수의 갑각류에서 발견되고 있다고 보고되어 있다(Kim, 2001).

본 조사에서 살조개는 대부분의 해산 이매패류의 종들에서

발견되는 체외수정 중에 속하며, 원시형(primitive type)에 속하는 정자를 갖는다. 정자 핵들의 형태를 비교하여 보면, 백합과 종들 중 살조개는 정자의 핵형이 굽지 않은 원통형(long cylindrical type)에 속하는 특징을 가진다. Kim (2001)에 의해 지금까지 조사된 정핵의 기울기(도)를 보면, 정자의 핵형이 아주 조금 굽은 원통형에 속하는 종들에 속하는 종은 대북 *Gomphina veneriformis*(5°), 백합 *Meretrix lusoria*(10°), 가무락조개 *Cyclina sinensis*(10°) 등이었으며, 좀 더 굽은 원통형에 속하는 종들 중에는 개조개 *Saxidomus purpuratus* (15°), 바지락 *R. philippinarum*(25°), 떡조개 *Dosinorbis japonicus*(45°), 뷔나스백합 *Mercenaria stimpsoni* (80°) 등이 이에 속한다고 보고하였다. 그러나 백합과 조개 중 살조개는 정핵이 굽지 않은 종에 속한다. 이와 같이 백합과 종들의 정핵의 기울기는 종에 따라 다름을 알 수 있다. 백합과에 속하는 종들의 정핵 크기의 범위를 보면, 살조개의 정핵의 길이는 2.44 μm 로 가무락조개 정핵의 길이(2.13 μm)와 비슷하여 백합과에 속하는 종들 중 짧은 편에 속한다. 반면, 가장 정핵의 길이가 긴 종은 대북(7.80 μm)으로 나타나 (Kim et al., 2010), 같은 백합과에 속하는 종들이라 할지라도 정자 핵들의 길이는 너무 다양하고 불규칙하므로 인해, 이매패류의 정핵은 분류학적 분석 자료로는 부적합한 것으로 간주되었다(Healy, 1995). 그러나 이매패류 정자의 미세구조 중 철퍼 형태는 분류학적 분석에 널리 사용되고 있다(Healy, 1995). 최근 철퍼의 형태적 특징은 이매패 아강을 구성하는데 사용되고 있다(Popham, 1979). 최근 Healy (1989)는 이매패류 아강(subclass)에 속하는 종들의 철퍼의 형태가 각각 고유의 특징을 나타내고 있어 아강 사이의 차이점을 보고하였다.

Popham(1979)은 이매패류 5개 아강에 속하는 종들을 대상으로 정자 철퍼들의 형태와 위치에 따라 몇 가지 상이한 점들을 보고하였다. Hodson and Bernard(1986)는 정자의 철퍼들은 철퍼소포들의 형태에 따라 다르게 구분되어 아강(subclass)에 속하는 일부 과(family)들의 특징을 보고하였다. 분류학적으로 백합과(Veneridae)는 이치아강(Heterodonta)에 속한다. Fig. 3에 나타난 바와 같이, 본 조사에서 이치아강(Heterodonta)에 속하는 모든 과들의 종들은 철퍼의 모양이 대부분 원추형 또는 모자 모양을 나타내고 있는데, 이것이 철퍼소포(acrosomal vesicle)에서 공통적으로 나타나는 구조적 특징이다. 백합과 살조개 정자의 철퍼는 철퍼소포의

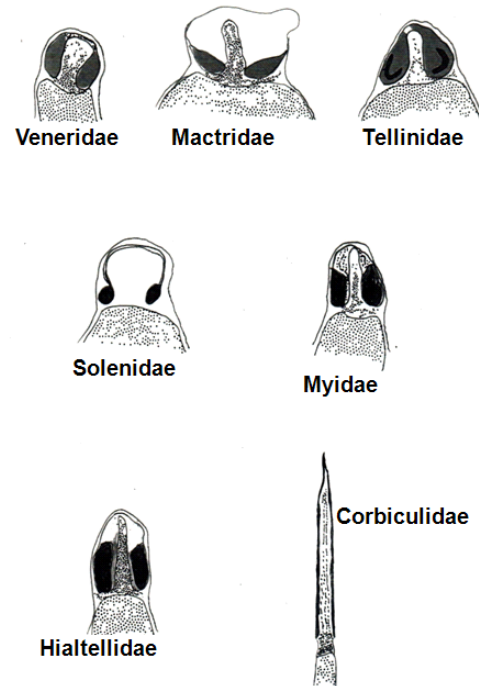


Fig. 3. A schematic diagram of acrosome forms of seven families in Subclass Heterodonta in Bivalvia (Kim, 2001).

basal ring 기저 부분에서 측면 부위까지 전자밀도가 높은 불투명한 부위(electron opaque part (region))로 나타난 반면, 철퍼소포의 앞쪽 정단 부위는 전자밀도가 낮은 투명한 부위(electron lucent part (region))로 구분되는 특징을 나타내어 백합과(Veneridae), 개량조개과(Mactridae), 접시조개과(Tellinidae), 죽합과(Solenidae), 우럭과(Myidae), 족사부착쇄조개과(Hiatellidae)에 속하는 종들과 유사한 특징을 보여 이매패강(class Bivalvia), 이치아강(subclass Heterodonta)의 전형적인 특징을 나타내었다(Kim, 2001). 특히 이치아강에 속하는 백합과, 개량조개과, 죽합과에 속하는 종들의 철퍼를 보면, 철퍼소포의 앞부분이 얇아 내막과 외막의 경계가 밀착되어 원추형 또는 모자모양을 나타내는 것이 공통 특징이라 말할 수 있다.

반면, 이매패강의 익형아강(subclass Pteriomorphia)의 경우도 정자 철퍼의 형태는 원추형 모양을 나타내는 것이 공통적인 구조적 특징으로 되어 있어 이치아강과 유사하였다. 그러나 이치아강의 과들(종들)과 차이점은 특히, 철퍼소포의 모든 면이 전자밀도가 높은 물질들로 이루어져 있는 것이 익형아강의 특징으로서, 이치아강의 과들과 아주 다른 특징이

라고 보고하였다(Hodson & Bernard, 1986). 따라서 본 조사에서 살조개는 익형아강(Pteriomorpha)이 갖는 공통적 특징을 갖는 것이 아니라 이치아강의 특징을 나타내고 있음을 확인하였다.

정자 침체소포 내에 존재하는 침체과립물질들(subacrosomal granular materials) 내에서 발견되는 침체간(axial rod) 또는 침체사(axial filament)는 출현하지 않는 경우가 많은데, 이것 역시 동일과 일지라도 종에 따라 다르게 나타나는 특징이라 말할 수 있다. 그러나 2가지 중 어느 한 가지라도 존재하는 경우, 침체간이 출현하면 익형아강에 속하는 종으로 그리고 침체사가 출현하면 이치아강에 속하는 종으로 구분지을 수 있다. 이들 2가지 구조물들은 과별, 종별 특징을 구분짓는 도구로 사용될 수 있다(Kim, 2001; Kim et al., 2010; Chung et al., 2010). 일반적으로 익형아강에 속하는 참굴과 및 홍합과의 종들에서는 침체간이 뚜렷하게 출현하고 있으나, 침체사는 단지 이치아강의 백합과 일부 종들과 개량조개과 및 재첩과의 종들에서는 침체사가 용아하게 출현하고 있어 익형아강 종들과 이치아강의 종들을 계통·분류학적 분석을 하는데 도구로 사용할 수 있다고 판단된다(Kim et al., 2010; Chung et al., 2010). 추가로 아강 이하의 상과 또는과의 분류에 정자 미세구조 중, 정자 중편의 미토콘드리아의 수가 분류학적 분석에 널리 사용되고 있는데(Healy, 1985), 이것은 정자 중편의 미토콘드리아 수가 과(family) 또는 상과(superclass) 내에서 안정된 경향을 가지고 있기 때문이다. Healy(1989, 1995)는 정자 중편의 미토콘드리아의 수의 범위는 최대 14개(mytiloid *Modiolus difficilis* (Dorozdov & Reunov, 1986)에서 최소 4개(많은 이매패류 과들에서 공통)를 나타내고 있다고 보고하였다. Kim(2001)과 Chung et al.(2010)은 대북 정자의 중편을 이루는 미토콘드리아의 수를 조사하여 본 결과 4개였음을 밝혔다. 최근 상기 저자들에 의해 조사·보고된 결과를 토대로, 정자 중편의 미토콘드리아 수를 파악하여 보면, 이매패류 중 익형아강의 굴과와 이치아강의 백합과, 죽합과, 재첩과의 경우는 4개이었으며, 익형아강의 돌조개과, 홍합과와 이치아강의 백합과 중 일부 종들(개조개, 백합, 가무락조개)과 키조개과 종들에서는 모두 5개를 가지는 것으로 밝혀져, 정자 중편의 미토콘드리아 수는 아강(subclass)의 수준에서는 일정한 특징을 찾아 볼 수 없었다. 따라서 그 이하의 과(family) 또는 상과(superfamily) 내에서 안정되고 있다고 보고한 Healy(1989)의 결과와 일치하는

특징을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 군산대학교 해양개발연구소 학술지원연구비의 일부 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

- Anderson W, Personne P (1975) The form and function of spermatozoa: A comparative view. In: Afzelius BA (ed) The Functional Anatomy of the Spermatozoon. Pergamon, New York.
- Baccetti B (1970) The spermatozoon of Athropoda. IX. The sperm cell as an index thropod phylogenesis. p. 169-181.
- Bernard RTF, Hodgson AN (1985) The fine structure of the sperm and spermatid differentiation in the brown mussel *Perna perna*. Afr Zool 20:5-9.
- Chung EY, Ryou DK (2000) Gametogenesis and sexual maturation of the surf clam *Macraa veneriformis* on the west coast of Korea. Malacologia 42: 149-163.
- Chung EY, Chung CH, Kim JH, Park SW, Park KH (2010) Ultrastructures of germ cells and the accessory cells during spermatogenesis in male *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) on the East Sea of Korea. Kor J Malacol 26:51-62.
- Chung EY, Kim EJ, Park GM (2007) Spermatogenesis and sexual maturation in male *Macraa chinensis* (Bivalvia: Mactridae) of Korea. Integrative Biosci 11:227-234.
- Daniels EW, Longwell AC, McNiff JM, Wolfgang RW (1971) A reinvestigation of the ultrastructure of the spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica*. Trans Amer Micros Soc 90:275-282.
- Dorange G, Pennec, ML (1989) Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia). Invert Reprod Dev 15:109-117.
- Dorozdov TA, Reunov AA (1986) Spermatogenesis and the sperm ultrastructure in the mussel. *Modiolus difficillis*.

- Tsitologia 28: 1069-1074.
- Eckelbarger KJ, Bieler R, Mikkelsen PM (1990) Ultrastructure of sperm development and mature sperm morphology in three species of commensal bivalves (Mollusca: Galeommatoidea). *J Morph* 205:63-75.
- Eckelbarger KJ, Davis CV (1996) Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. II. Testis and spermatogenesis. *Mar Biol* 127:89-96.
- Franzén Å (1970) Phylogenetic aspects of the morphology spermatozoa and spermiogenesis. In: Baccetti B (ed) *Comparative Spermatology*. Academia Naionale Dei Lincei, Rome pp 573.
- Gaulejac de J, Jenry M, Vicente N (1995) An ultrastructural study of gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758). II. Spermatogenesis. *J Moll Stu* 61:393-403.
- Harrington R (1987) Growth patterns within genus *Protothaca* (Bivalvia: Veneridae) from the Gulf of Alaska to *Panama aleotemperatures*, paleobiogeography and paleolatitudes. *Dessert Abst Int'l Part B: Sci Engin* 7:249-256.
- Healy JM (1989) Spermiogenesis and spermatozoa in the relict bivalve genus *Neotrigonia*: relevance to trigonoid relationships, particularly Unionoidea. *Mar Biol* 103:75-85.
- Healy JM (1995) Sperm ultrastructure in the marine bivalve families Carditidae and Crassatellidae and its bearing on unification of the Crassatelloidea with the Carditoidea. *Zool Sci* 24:1-28.
- Healy JM, Lester RJG (1991) Sperm ultrastructure in the Australian oyster *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley) (Bivalvia: Ostreidae). *J Moll Stud* 57:219-224.
- Hodgson AN, Bernard RTF (1986) Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). *Gamete Res* 15:123-135.
- Jamieson BGM (1987) *The Ultrastructure and Phylogeny of Insect Spermatozoa*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jamieson BGM (1991) *Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa*. Cambridge Univ Press Cambridge pp 181-194.
- Kim J (1996) A study on the reproductive cycle of the venus clam, *Protothaca jedoensis*. Yosu Nat'l Fish Univ MS Thesis, pp 22.
- Kim J (2002) Studies on the phylogenetic relationships and reproductive cycle of the venus clam, *Protothaca jedoensis*. Yosu Nat'l Fish Univ Ph D thesis, pp 152.
- Kim JH (2001) Spermatogenesis and comparative ultrastructure of spermatozoa in several species of Korean economic bivalves (13 families, 34 species). Pukyung Nat'l Univ pp 161.
- Kim JH, Chung EY, Choi KH, Park KH, Park SW (2010) Ultrastructure of germ cells during spermatogenesis and some characteristics of sperm morphology in male *Mytilus coruscus* (Bivalvia: Mytilidae) on the west coast of Korea. *Kor J Malacol* 26:33-43.
- Komaru A, Konishi K (1996) Ultrastructure of biflagellate spermatozoa in the freshwater clam, *Corbicula leana* (Prime). *Invert Reprod Dev* 29:193-197.
- Komaru A, Konishi K, Nakayama I, Kobayashi T, Sakai H, Kawamaru K (1997) Hermaphroditic freshwater clams in the genus *Corbicula* produce nonreductional spermatozoa with somatic DNA content. *Biol Bull* 193:320-323.
- Lee KY, Chung EY, Lee JY (2008) Spermatogenesis and reproductive cycle in male *Spisula sachalinensis* (Bivalvia: Mactridae) of Korea. *Kor J Malacol* 24:1-10.
- Longo EJ, Dornfeld EJ (1967) The fine structure of sperm-aid differentiation in the mussel, *Mytilus edulis* L.. *Ultrastr Res* 20:462-480.
- Park CK, Park JJ, Lee JY, Lee JS (2002) Spermatogenesis and sperm ultrastructure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Kor J Elect Micro* 32: 303-310.
- Park JJ, Lee JY, Lee JS, Chang YJ (2003) Gonadal development and gametogenic cycle of the equilateral venus,

- Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). J Kor Fish Soc 36:352-357.
- Pizarro JF, Cruz RA (1987) Reproductive cycle of the clam *Protothaca grata* (Pelecypoda: Veneridae). Brenasia San Jose 27:23-24.
- Popham JD (1974) Comparative morphometrics of the acrosomes of the sperms of externally and internally fertilizing sperms of the sperms of the shipworms (Teredinidae, Bivalvia, Mollusca). Cell Tissue Res 150: 291-297.
- Popham JD (1979) Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny. Malacol Rev 12:1-20.
- Sakker ER (1984) Sperm morphology, spermatogenesis and spermiogenesis of three species of chitons (Mollusca, Polyplacophora). Zoomorphology 104:111-121.
- Sastry AN (1979) Pelecypoda excluding Ostreidae. In Giese AC, Pearse JS eds. Reproduction of Marine Invertebrates. Vol 5, New York. Academic Press p 113-292.
- Sousa M, Corral L, Azevedo C (1989) Ultrastructural and cytochemical study of spermatogenesis *Scrobicularia plana* (Mollusca, Bivalvia). Gamat Res 24: 393-401.
- Verdonk NH, Van Den Biggelaar, JAM, Tompa AS (1983) The Mollusca. Vol. 3. Development. Academic Press New York pp 48.
- Yasuzumi G (1974) Electron microscope studies on spermatogenesis in various species. Int Rev Cytol 37:53-119.

(received 24 November 2010, received in revised form 15 December 2010, accepted 16 December 2010)