

한국산 꺾조개(석패과)의 세포학적 연구

박갑만 · 이준상 · 송호복 · 박제철 · 권오길

강원대학교 자연과학대학 생물학과

= Abstract =

Cytological Studies of *Anodonta(Sinanodonta) woodiana* (Palaeoheterodonta: Unionidae) in Korea

Gab-Man Park, Jun-Sang Lee, Ho-Bok Song, Je-Cheol Park and Oh-Kil Kwon

Department of Biology, Kangwon National University

The chromosome of *Anodonta woodiana* in the Lake Uiam was analysed as using air-drying technique of spermatogonial tissue to obtain mitotic and meiotic chromosomes. The chromosome cycle did not differ, in general, from that found in other bivalves. Chromosome numbers of *Anodonta woodiana* was 19 (n), 38 (2n) and 76 (4n), and the mitotic chromosome of this species consisted of metacentrics and submetacentrics. The longest chromosome was 2.1 μm and the shortest was about 1.4 μm in length.

서 론

꺾조개는 진판세아강, 고이치목, 석패과, 꺾조개로 분류되는데, 우리나라에서는 전국에 걸쳐 널리 분포하는 담수 이매패로서 지방에 따라 형태의 변이가 아주 심하다. 최근에는 담수 진주 양식의 모패(母貝)로써 크게 각광을 받고 있는 패류 중의 하나이기도 하다.

이들 꺾조개에 관한 연구로는 일본의琵琶湖産 중요 패류의 생태(林, 1972), 유생 발생(東·林, 1964) 등에 관한 연구를 비롯하여 우리나라에서는 김(1970)의 담수산 꺾조개의 생태학적 연구(I), 한강산 담수 패류의 분포 및 현존량(Yoo, 1970), 담수산 진주꺾조개의 생식주기 및 임란기(Chung, 1980), 의암호의 패류상어류의 패류내 산란에 관한 연구(Kwon and Choi, 1982), 의암호의 석패과 패류와 어류간의 산란 및 석패과 유생의 어체 부착에 관한 연구(Kwon et al., 1987) 등 패류 목록과 생식 및 생태학적 보고 등이 알려져 있

으나 세포학적 연구는 이루어지지 않고 있다.

현재 의암호에 서식하는 석패과 패류는 꺾조개를 비롯하여 7종으로 알려져 있는데(Kwon and Choi, 1982), 이들 종들은 핵형 분석을 통해 종간의 차이를 정확히 밝힐 수 있다고 보고되어 있다(White, 1978).

따라서 저자들은 우선 의암호에 서식하는 꺾조개 염색체의 핵형분석을 시행하였다.

실험재료 및 방법

꺾조개(*Anodonta woodiana*)의 염색체를 관찰하기 위하여 의암호에 서식하고 있는 꺾조개를 채집하였다. 채집된 재료는 종 동정을 한 후 수조에서 계속 사육하면서 실험 재료로 사용하였으며 세포 분열이 왕성하게 일어나고 있는 웅성 생식소(testis)를 절취하여 염색체 표본을 제작하였다.

표본 제작은 살아있는 재료에 20G 주사기를 이용하여 0.05% colchicine 용액을 주사한 후 축축한 용기에 24시간 정도 방치하였다. 처리된 조직을 떼어낸 후 생식소 부위만을 절취하였다. 이것을 0.01% NaCl 용액에 담근

Received December 3, 1988

Petri-dish에서 세포가 잘 유리되도록 잘게 잘랐다. 유리된 세포는 10 ml 원심관에 넣어 실온에서 약 30분간 저장 처리를 한 후 1,000 rpm/10 min 정도 원심 분리하여 상층액은 버리고, 같은 량의 Carnoy 고정액 (methanol 3: glacial acetic acid 1)을 넣고 잘 섞었다. 이것을 4°C에서 15분 동안 2번 반복하였다. 마지막으로 세포가 들어있는 고정액을 미리 깨끗히 닦아 놓은 슬라이드 글라스위에 3~4방울 떨어뜨린 후 공기 건조시켜서 5% Giemsa 용액으로 7분 동안 염색하였다.

이 방법은 Rothfels 및 Siminovitch (1958)와 Nadamitsu 및 Shinkawa(1973)의 방법을 변형하여 사용하였다.

또한 염색체는 염색체의 cycle 단계 및 배수체, 이배체, 4배체의 중기 때 염색체 수를 파악한 후, 핵형 분석을 위해 사진으로부터 내려내어 염색체의 크기와 동원체의 위치를 중심으로 분류하였다(Paris conference, 1971, 1975; Levan *et al.*, 1964).

실 험 결 과

본 연구에 사용된 패류는 Yoo (1976)의 도감에 따라 필조개(*Anodonta woodiana*)로 동정되었다. 염색체 cycle은 spermatogenesis에서 실시되었으며, Ieyama 및 Inaba (1974)가 밝힌 翼形類 이매패강 4과 10종의 염색체 cycle에 있어서 염색체 수를 비교한 결과 커다란 차이점으로 본 종은 76개의 4배체의 염색체를 가지고 있는 점이었다.

Early prophase에서는 염색체가 약간 진하게 염색되면서 길고 풀어진 가닥으로 보였다(Fig. 1). 또 mid-prophase에서는 염색체가 더 굵고 짧아지면서 centromeric 부위를 볼 수 있었다(Fig. 2). Fig. 3은 pachytene 단계에서 염색체의 pairing이 끝나면서 19쌍의 2가 염색체를 관찰할 수 있었으며, 초기 diakinesis에서는 염색체가 퍼지면서 불규칙한 가장자리를 보였다(Fig. 4). 다시 chiasmata가 종결되고 염색체의 응축이 계속되면서 diakinesis는 환, 또는 막대 형태를 나타내었다(Fig. 5). Fig. 6은 diakinesis 단계에서 반수체 염색체로 19개의 염색체를 갖고 있다. 또한 동원체 위치와 염색체 크기에 따른 핵형 분석 결과 Fig. 7과 Fig. 9에서는 중기상과 핵형을 나타낸 것이며 38개의 염색체 중 No. 1에서 No. 14까지는 동원체 계수가 거의 50에 가까운 중

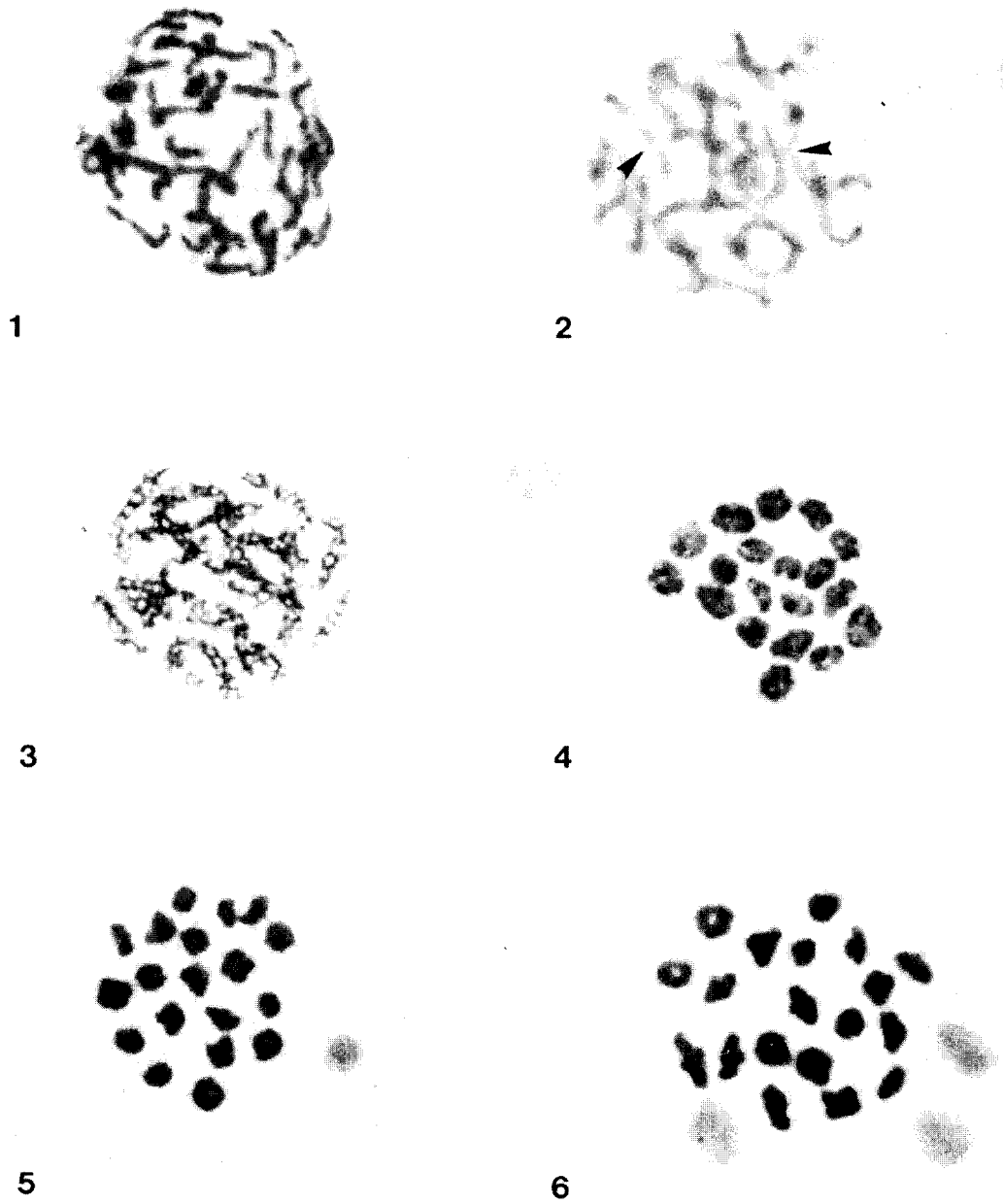
부(medianly constricted) 염색체이고, No. 15에서 No. 38은 동원체 계수가 25에 가까운 하중부(submedianly constricted) 염색체로 나타났다.

염색체의 길이는 spermatogonial metaphase range에서 가장 긴 것이 약 2.1 μm 이었고, 가장 짧은 염색체는 약 1.4 μm 였다. Fig. 8과 Fig. 10은 tetraploid 염색체로 모두 78개의 염색체를 가지고 있었다.

고 찰

이매패(Bivalvia)에 대한 염색체의 연구로는 Nishikawa 및 Hisatomi(1959)이 *Tapes japonica* (*Ruditapes philippinarum*)의 정소조직을 paraffin 절편법을 이용하여 $n=14$ 와 $2n=28$ 의 염색체를 보고한 이래, Ahmed 및 Sparks(1969)의 해양 부족류 염색체 연구를 비롯하여 Menzel 및 Menzel(1965)과 Menzel(1968)은 5종의 부족류의 난으로부터 aceto-orcein 압착법에 의해 $n=19$ 와 $2n=38$ 을 관찰 보고하였다. 또 Ieyama 및 Inaba(1974), Ieyama (1975, 1977) 등은 翼形類 이매패강 7과 15종의 염색체 연구를 통해 $n=7-16$ 을 관찰 보고하였다. Faustino(1979)는 *Crassostrea rhizophorae*의 핵형분석을 통해 염색체가 중부와 차중부로 구성되었음을 보고하였고 또한 tetraploid도 관찰하였다고 한다. Ieyama (1980)는 Veneridae과에 속하는 *Circe scripta*는 38($2n$)이며 *Paphia vernicosa*, *Irus mitis* 등 2종에서는 19(n)과 38($2n$)의 염색체를 가지면서 3종 모두 중부와 차중부로 분류하였다. Okamoto 및 Arimoto(1986)는 담수산 이매패인 재첩과(Corbiculidae) 3종의 그룹 사이에 계통발생학적 관계가 분류학적인 특징만으로 불분명하기 때문에 *Corbicula*의 염색체 연구를 시행하였는데, *Corbicula japonica*는 38개의 염색체를, *C. sandai*는 36개, *C. (Corbiculina) leana*는 54개의 염색체를 갖고 있다고 하였다. 한편 이들 3종의 염색체 수와 핵형분석을 비교한 결과 *C. (C.) leana*를 포함한 자웅동체 종의 조상종은 *C. japonica*의 조상종으로 부터 기원된 *C. sandai*의 ancestral species로부터 유래되었다고 가정하였다.

본 실험 결과 필조개는 $n=19$ 개의 염색체를 가졌는데 이것은 위의 여러 저자들이 밝힌 반수체의 범위와 일치하며, 핵형분석 결과도 중부와 차중부로 분류되어 같은 구성을 보였다. 그러나 본 종은 다른 종에서와는 달리 4



Figs. 1-6. Mitotic and meiotic chromosomes of spermatogenesis in *Anodonta woodiana*.

Fig. 1. Spermatogonial early prophase.

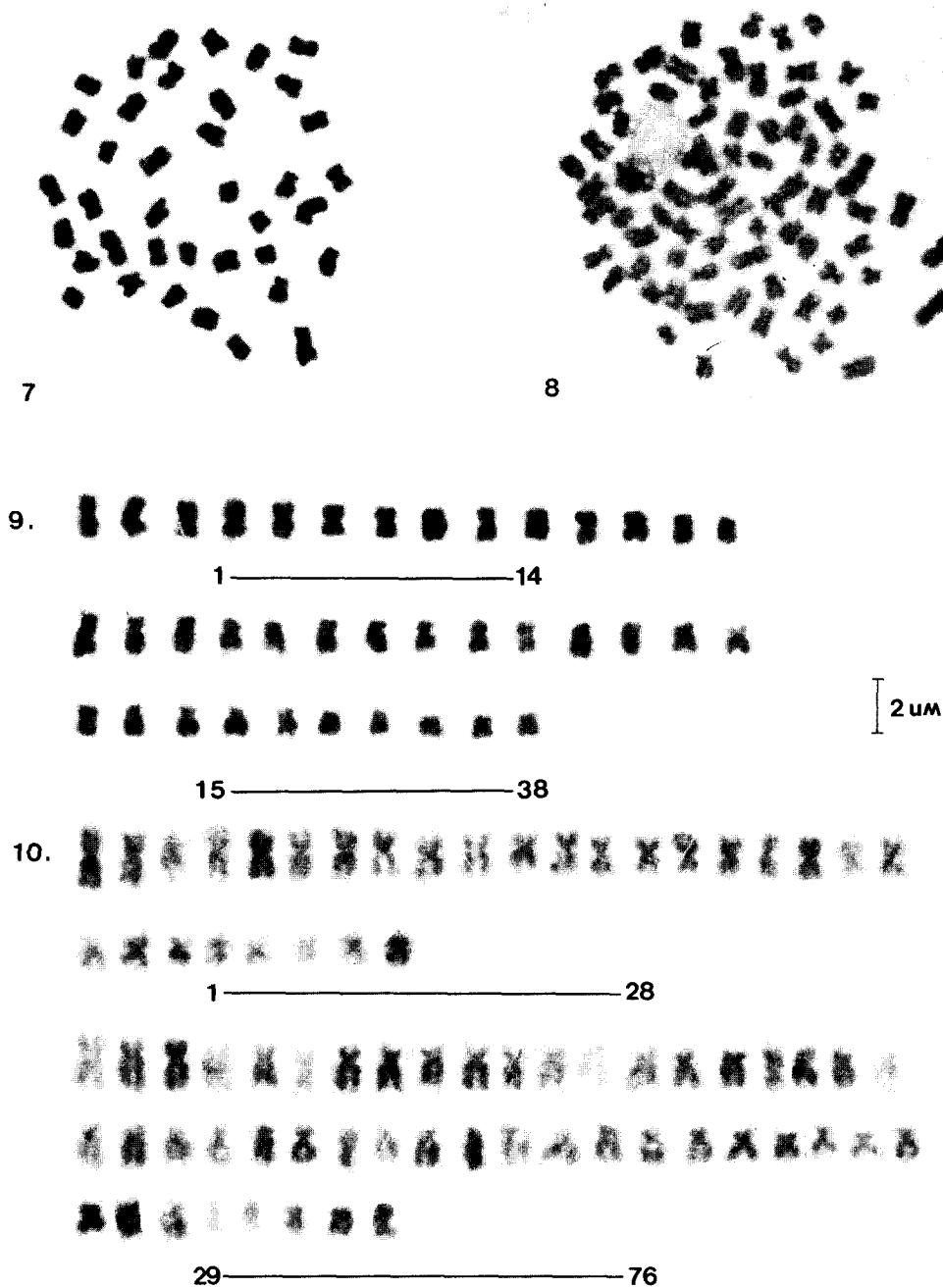
Fig. 2. Spermatogonial mid-prophase. Arrows denote centromeric regions.

Fig. 3. Pachytene stage.

Fig. 4. Early diakinesis bivalents.

Fig. 5. Late diakinesis showing ring and rod-shaped bivalents.

Fig. 6. Haploid chromosome ($n=19$).



Figs. 7-10. Chromosomes at spermatogonial metaphase and karyotype of *Anodonta woodiana*.

Fig. 7. Mitotic metaphase chromosome ($2n=38$).

Fig. 8. Tetraploid chromosome ($4n=76$).

Fig. 9. Chromosomes of Fig. 7 aligned according to decreasing length of their centromerics.

Fig. 10. Chromosomes of Fig. 8 arranged according to decreasing length; metacentrics in the upper row, submetacentrics in the lower row.

배체 염색체를 갖고 있었다.

본 실험에서는 공기 건조법을 사용하였는데, 압착법에서는 염색체의 크기가 잘 퍼지지 않는 단점과 fire-drying법에서는 염색체가 응축이 되기 때문에 깨끗한 염색체를 이용 분석할 수 없는 점에 비해 공기 건조법은 깨끗하고 숫자를 정확하게 파악 분석하기에 용이하였다. 그리고 homologseach를 밝히기 위해서는 banding기법의 도입이 필요할 것으로 생각된다.

결 론

의암호에 서식하는 필조개 (*Anodonta woodiana*)를 채집하여 공기 건조법을 통해 세포학적 관찰을 하였다. 실험 결과, 염색체 단계 및 염색체 수는 $n=19$, $2n=38$ 및 $4n=76$ 으로 나타났으며, 핵형분석결과 No. 1-No. 14 염색체는 metacentrics이며, No. 15 - No. 38은 submetacentrics 염색체로 분류되었다. 또한 염색체의 길이는 가장 긴 것이 약 $2.1 \mu\text{m}$ 이며 가장 짧은 것이 약 $1.4 \mu\text{m}$ 로 나타났다.

참 고 문 헌

- Ahmed, M. and Sparks, A.K. (1976) Chromosomes of oyster, clams, and mussels. *Proc. Nat. Shell Fish. Ass.*, **53**:10
- Chung, E.Y. (1980) Reproductive cycle and breeding season of the freshwater clam, *Anodonta (Sinanodonta) woodiana* (Lea). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **13**(4):135-144
- Faustino, R.R., Manuel, U.A., Alfredo, L.F. and Maria, E.D.C. (1979) The karyotype of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). *Venus* **38**(2):135-140
- Ieyama, H. and Inaba, A. (1974) Chromosome numbers of ten species in four families of Pteriomorpha (Bivalvia). *Venus*, **33**(3):129-137
- Ieyama, H. (1975) Chromosome numbers of three species in three families of Pteriomorpha (Bivalvia). *Venus*, **34**:26-32
- Ieyama, H. (1977) Studies on the chromosome numbers of two species in Mytilidae (Pteriomorpha, Bivalvia). *Venus*, **36**(1):25-28
- Ieyama, H. (1980) Studies on the chromosome numbers of three species in Vereridae (Bivalvia, Heterodonta). *Venus*, **39**(1):49-55
- Kwon, O.K. and Choi, J.K. (1982) The studies of the freshwater mollusks in the Lake Uiam and the swimming-out of pre-larva fish from mussels. *Kor. J. Lim.*, **15**(1-2):39-50
- Kwon, O.K., Park, G.M., Lee, J.S. and Song, H.B. (1987) Studies on the egg deposition and the glochidial attachment between the freshwater mussels and fishes in the Lake Uiam. *J. Sci. Tech.*, **25**:39-43
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas (Lund)*, **52**:201-220
- Menzel, R.W. (1968) Chromosome numbers in nine families of pelecypod mollusks. *Nautilus*, **82**:45-58
- Menzel, R.W. and Menzel, M.Y. (1965) Chromosomes of the species of quahog clams and their hybrids. *Biol. Bull. (Woods Hole)*, **129**:181-188
- Nishikawa, S. and Hisatomi, Y. (1959) Chromosomes of *Tapes (Amygdala) japonica* Deshayes. *Zool. Mag. Tokyo*, **68**:279-280
- Nadamitsu, S. and Shinkawa, H. (1973) On the chromosome of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *CIS (Chrom. Inf. Serv.)*, **15**:29-30
- Okamoto, A. and Arimoto, B. (1986) Chromosome of *Corbicula japonica*, *C. sandai* and *C. (Corbiculina) leana* (Bivalvia: Corbiculidae). *Venus*, **45**(3):194-202
- Paris conference, (1971) Standardization in human cytogenetics. *Cytogenetics*, **11**:317-362
- Paris conference, (1975) Supplement (Ed. Bergsma, D.), *National Science Foundation, Washington, D.C.*
- Rothfels, L.B. and Siminowitch, L. (1958) Air-drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown *in vitro*. *Stain Tech.*, **33**:73-77
- White, M.J.D. (1978) Modes of speciation. pp. 455, *Freeman, San Francisco*
- Yoo, J.S. (1976) The Korean shells in color. pp 52-53, *Iljisa, Seoul*