

한국산 플라나리아 *Dugesia japonica*와 *Phagocata vivida* 두종 사이의 정자 형성에 관한 비교연구

장 남 섭

Comparative study on the Spermatogenesis of two kinds of Korean planarias, *Dugesia japonica* and *Phagocata vivida*

Chang, Nam Sub

(Received August 21, 1992)

ABSTRACT

Comparative study on the spermatogenesis of two kinds of Korean planarias, *Dugesia japonica* and *Phagocata vivida*, were studied with light and electron microscope.

Observation results were as follows.

Except following details, fine structure and morphogenesis of the spermatogonia, primary spermatocyte, secondary spermatocyt spermatid and spermatozoon were consistant between the two species.

The nucleus of primary spermatocyte of *Dugesia japonica* was surrounded with 36-38 microtubules, while that of *Phagocata vivida* with 40-42 microtubules.

The C-shaped lamellar Golgi complex appeared in the spermatid cytoplasm of the former, while Straight-shaped lamellar Golgi complex in that of the latter.

The four white spots were observed only in the nucleoplasm of matured spermatozoon in the latter, not in the former.

서 론

渦蟲類에서 생식세포의 기원이 주로 간충직세포가 자유롭게 이동하거나 또는 집결하여 형성한다는 연구(Hymen, 1951)가 있는 이래, 체내의 신생세포(neoblast)로부터 형성된다는 연구(Fedecka-Bruner, 1967; Franquinet and Lender, 1973; Gremigni, 1974;

Gremigni and Puccineli, 1977)도 있다.

Lender (1974), Grasso 등(1975) 및 Benazzi와 Grasso(1977) 등은 이미 생식세포가 발달하는데 있어 신경 분비 역할의 중요성을 밝힌 바도 있다.

그와같은 연구 이외에 와충류의 생식세포에 관한 많은 광학현미경 연구(Koltzoff, 1909; Remane, 1958; Jagersten, 1959; Ax, 1961; 1963; Henly, 1968)와 전자현미경 연구(Bedini and Papi, 1970; Heny, 1974; Hendelberg,

목원대학교 이공대학 생물학과

Department of Biology, Mok won University

이 논문은 1992년도 목원대학교 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

1970, 1975, 1977a; Crezee, 1975)가 있다.

그러나 전자현미경을 이용한 플라나리아의 정자세포에 대한 미세구조의 연구는 Silveira (1970, 1973, 1975) 등이 있을 뿐이며, 정자 형성과정에 관한 자세한 연구는 Farnest 등 (1977)과 한국산 *Dugesia japonica* 를 재료로한 Chang과 Kim (1985)의 연구가 있을 뿐이다.

본 실험에서는 한국산 플라나리아의 정자형성에 관한 지속적인 연구의 일환으로 산골플라나리아 (*Phagocata vivida*)를 포획한후 전자현미경 관찰을 통하여 정자형성 과정을 관찰하였기에, *Dugesia Japonica* (Chang and Kim, 1985)와 비교 검토하고자 한다.

실험재료 및 방법

실험 재료

1월경 대전 근교의 비봉산과 보문산 골짜기에서 *Phagocata vivida*를 채집하였고 실험실로 운반한후 7일간 빛을 차단한 상태에서 사육 관찰하였다.

실험 방법

관찰대상 부위를 소편의 조직으로 절단한 후 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.3) 용액에 2시간 전고정을 하고 이어서 phosphate buffer, pH 7.3으로 매회 5분씩 3회 세척을 하였다. 역시 1% OsO₄ (phosphate buffer, pH 7.3)에 1시간 30분간 후고정을 하고 acetone으로 탈수한 다음 Epon 812에 포매하였다. 이어 LKB-V ultramicrotome을 사용하여 1 μ m 두께의 박절편을 만들고 이를 toluidine blue로 단일색한 후 광학 현미경하에서 정확한 부위를 확인한 다음 초박절편을 만들었다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 한 다음 JEM 100CX-11 투과전자현미경 (80KV)으로 관찰하였다.

결 과

*Phagocata vivida*의 정원세포는 큰 타원형의 세포로서 정소의 주변부에 2-3층으로 배열되어 있었다. 이 세포는 9 \times 6 μ m정도 크기의 타원형의 핵을 소지하고 있고, 핵질내에는 다양한 크기의 염색질 덩어리가 분산되어 있었다. 이 세포는 세포질이 매우 단순하였고 약간의 mitochondria만이 관찰되었을 뿐이다 (Fig. 1).

정원세포의 감수분열에 의해 형성된 제1차정모세포는 직경 4.5 μ m정도 크기의 약간 불규칙한 원형의 세포로서 정원세포에 비해 작았다. 이 세포의 핵은 0.27 μ m 정도 크기의 둥근 형태를 이루고 있고 핵질내에는 많은 양의 염색질이 분산되어 있으며 둥근 인이 뚜렷하게 나타났다. 세포질은 역시 단순하였고 0.25 μ m 크기의 둥근 모양의 mitochondria만이 핵의 주위를 감싸고 있었다 (Fig. 2).

동형핵분열로 형성된 제2차 정모세포는 그 크기가 1.8~3 μ m의 직경을 가진 다양한 크기의 둥근 세포로서 제1차 정모세포에 비하여 비교적 작았다. 이 세포의 둥근핵은 0.8~1 μ m 정도로서 염색질이 점점 농축되어 전자밀도가 매우 높게 나타났으며 핵막의 바로 안쪽에는 광택성이 있는 물질이 핵막을 따라 둥글게 감싸고 있었다. 이 세포는 다양한 크기의 mitochondria (5-7개)가 세포질 내에서 핵막 주위를 감싸고 있고 유리ribosome도 발달되었다 (Fig. 3).

형이 이루어지기 시작한 초기의 정세포는 그 모습이 제2차 정모세포와 비슷하였으나 세포질의 증가로 비교적 긴 모습을 하고 있었다 (Fig. 7). 이 세포는 핵이 점차 타원형으로 변하였고 핵을 둘러싼 광택성 있는 물질들은 더욱 뚜렷이 나타났다. 핵막 주위를 둘러싼 mitochondria는 그 수가 점점 증가하였으며 잘 발달된 직선형의 Golgi complex가 핵의 전단부에서 출현하였다 (Fig. 4). 그리고 핵의 하단부 세포질에서는 중심체의 존재도 확인할 수 있었다 (Figs. 4, 6).

정세포는 점차 성숙되어 정자가 되면서 두부 횡단면의 직경이 0.7 \times 0.5 μ m 정도를 나타내었고, 그 크기가 정모세포에 비하여 매우 감소하였다 (Fig. 6). 성숙된 정자는 원추형의 두부와 매우 긴 미부로 구분되었는데 (Figs. 13, 14), 특이하게도 정자 두부의 횡단면에서는 긴 핵과 한개의 mitochondria가 나란히 관찰되었고 (Figs. 12, 13), 종단면에서는 0.2 μ m 정도의 둥근핵과 한개의 mitochondria가 타원형의 구조를 보이는데 비하여 하단부에서는 mitochondria가 점점 둥글게 넓어지면서 핵의 주위를 감싸고 있었다 (Fig. 8). 특히 하단부 횡단면에서 관찰된 농축된 모든 핵의 주변에서 전자밀도가 매우 낮아 밝게보이는 4개의 반원형 구조물들이 관찰되었다 (Figs. 8, 10).

또한 성숙된 정자 두부의 횡단면 핵을 감싸는 원형질막 직하에서 40-42개의 미세소관이 핵과 한개의

mitochondria 을 둥글게 에워싸고 있었다(Fig. 8).

이들 정자의 꼬리는 정세포가 정자로 변태가 진행이 되면서 세포질내의 중심체가 복제되어 두개의 낭중심소체를 형성하였으며(Fig.6), 두개의 낭중심소체는 각각 2개의 axoneme 을 형성하였다. 이들 각각의 axoneme 들은 1개의 central microtubule 과 9쌍의 peripheral microtubule 로 구성된 전형적인 9+1 type 편모축을 나타내었다(Fig. 11).

고 찰

플라나리아는 무성생식과 유성생식 등의 2가지 생식 방법에 의하여 번식하는데 이와같은 방법들은 유전적인 요인과 환경적 요인에 의하여 지배를 받는다고 일찍부터 알려져왔다(Benazzi, 1974).

유성생식을 하는 개체중에도 환경과 계절 그리고 먹이의 양에 의해서도 영향을 받는데(Wulzen, 1927), 주로 기온이 높은 여름철이나 이른 가을철에는 유성생식을 하던 개체들도 생식소가 소실되면서 무성생식 방법에 의해서 번식을 하게되며, 특히 먹이가 충분치 않을때에도 같은 방법에 의한다고 보고되었다(Okugawa, 1957; Kawakatsu, 1964, 1966).

플라나리아는 특이하게도 온도가 매우 낮은 겨울철에 생식소의 활동이 시작되어 정소를 구성하는 정원세포가 감수분열을 수행한 후 1차정모세포를 형성한다.

플라나리아는 1차정모세포가 되면 핵내의 염색질 농축이 일어나고 전자밀도가 균일해지는데 이와같은 현상은 여러 연구자들(Chevallier, 1970; Henly, 1973; Farnest et al., 1977)과 Chang 과 Kim(1985)이 언급한 2차정모세포에서도 이루어져 그 내용이 일치한다.

특히 2차정모세포의 핵막내측에 광택성 있는 물질이 뚜렷이 나타나는 현상은 척추동물이나 다른 무척추동물의 정자형성과정에서는 거의 찾아볼 수 없으며, Silveir (1970)의 논문에서 처음 언급되었을 뿐이다. Silveir (1970)는 이 광택성있는 물질이 주로 플라나리아에서 볼 수 있으며 acrosome 이 없는 외충류에서 가끔 나타나는 현상으로 이것이 acrosome 에 해당된다고 보고한바 있다. 이와같은 물질은 Farnest 등(1977)의 연구나 *Dugesia japonica* 를 재료로한 Chang 과 Kim(1985)의 논문에서도 같은 내용으로 언급되었고 본 실험에서도 관찰되었다.

플라나리아 *Dugesia lugubris* (Farnest et al., 1977) 와 *Dugesia japonica* (Chang and Kim, 1985)의 2차정모세포가 초기정세포로 변화하는 동안 핵의 상단부 세포질내에 매우 큰 C자형 Golgi complex 가 뚜렷하게 나타나는 현상을 관찰하였는데(Pl. 1, fig. 5), 본 실험에서는 C자형 Golgi complex 는 거의 관찰되지 않고 대부분이 직선형 Golgi complex 만이 출현하였다(Pl. 1, fig. 4). 이와같은 현상은 단순히 종에 따른 차이를 나타내는 것인지 또는 정자형성 과정에서 다른 생리적 기능을 수행하는지는 확인되지 않았다.

성숙한 정자의 두부 횡단면에서 나타난 미세소관은 대부분이 핵과 mitochondria 을 감싸고 있는 구조물로, 본 실험에서도 그 수가 40-42 개로 관찰되었으나 *Dugesia lugubris* (Farnest et al., 1977)에서는 30-33 개, *Dugesia japonica* (Chang and Kim, 1985) 는 36-38 개로 관찰되어 역시 종에 따른 약간의 차이가 인정되었다. 성숙한 정자의 두부 횡단면의 핵에 나타난 4개의 횡반점은 지금까지 플라나리아를 연구대상으로 한 모든 논문과 Chang 과 Kim(1985)의 *Dugesia japonica* 를 대상으로 한(Fig. 9) 논문에서도 전혀 언급된바 없어 이것들이 정자형성과정에서 어떤 역할을 수행하고 있는지 또한 생리적 기능을 가지고 있는지는 알 수 없었다.

한국산 플라나리아의 정자는 긴 두부와 경부 및 2개의 긴 편모로 되어 있었다. 두부에는 한개의 긴 mitochondria 가 긴 핵과 나란히 밀접되어 있었고 핵의 한쪽에만 존재하였다. 편모의 형성은 정세포형성 초기에 시작되는데 핵의 하단부에서 중심체가 복제되어 2개의 낭중심체를 형성하고 이들 2개의 낭중심소체는 각각 좌, 우로 이동하여 2개의 편모를 형성하는 것으로 간주된다.

성숙된 정자 편모의 분자적 구조는 3가지 종류로 구분되는데, 9+0형(Henly, 1968; Henly et al., 1969; Costello et al., 1969)과 9+1형(Silveira, 1968, 1969; Farnest et al., 1977) 그리고 9+2형(Bendini et al., 1970; Hendelberg, 1969)등이다.

본 실험에서 관찰한 정자 편모축의 구조는 9+1형으로 이미 연구된 플라나리아 *Dugesia lugubris* (Farnest et al., 1977)나 *Dugesia japonica* (Chang and Kim, 1985) 및 Silveira(1968, 1969)등과도 일치한다.

추이 : *Dugesia japonica* (Chang and Kim, 1985) 정자의 편모축에서 관찰된 9+2 type pattern axoneme 은 저자의 관찰 착오였으며, 9+1 type 임을 알립니다.

결 론

한국산 플라나리아 *Dugesia japonica* 와 *Phagocata vivida* 의 정자형성 과정을 비교 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

정원세포, 1차정보세포, 2차정보세포, 정세포 및 정자포의 미세구조와 변태과정은 다음 사항을 제외하고는 2종 사이에 거의 일치하였다.

제1차정보세포의 핵막주위를 둘러싸고 있는 미세소관의 수가 *Dugesia japonica* 에서는 36-38 개였고, *Phagocata vivida* 에서는 40-42 개로 확인되었다.

Dugesia japonica 는 초기 정세포로 변태하는 과정에서 핵의 상단부에 매우 큰 C자형 Golgi complex가 출현하였으나, *Phagocata vivida* 에서는 직선형 Golgi complex가 관찰되었다.

Phagocata vivida 의 성숙된 정자세포의 두부를 구성하는 핵질내에서 4개의 흰반점이 관찰되었지만, *Dugesia japonica* 에서는 전혀 관찰되지 않았다.

REFERENCES

- Ax, p., 1961. Verwandtschaftsbeziehungen und phylogenie der Turbellarien. *Ergeb. Biol.* 24: 1-68.
- Ax, p., 1963. Relationships and phyogeny of the Turbellaria, In: *The Lower Metazoa* (E.C. Dougherty, Ed.). Berkeley and Los Angeles: University of California Press. pp.191-224.
- Benazzi, M., 1974. Fissioning in planarians from a genetic standpoint, In: *The Biology of the Turbellaria*, (N.W. Riser and M.P. Morse, Eds.). McGraw-Hill, Book Co., New York, pp.476-492.
- Benazzi, M. and M. Grasso, 1977. Comparative research on the sexualization of fissiparous planarians treated with substances contained in sexual planarians. *Monit. Zool. Ital.* 11, 9-19.
- Bendini, C. and F. Papi, 1970. Fine structure of the Turbellarian epidermis. *Am. Zool.* 10 (4): 545.
- Chang, N.S. and W.K. Kim, 1985. A study on the Ultrastructure of reproductive organ of Korean Planaria (*Dugesia japonica*) *Korean J. Electron micros.* 15 (1): 31-58.
- Chevallier, p., 1970. Le noyau de spermatozoide et son evolution au cours de la spermiogenese, In: *Comparative spermatology*, Academic Press Inc., New York, pp.499-514.
- Costello, D.P., C. Heny and C.R. Ault, 1969. Microtubules in spermatozoa of *childia* (Turbellaria: Acoela) revealed by negative staining. *Science*, 163: 678-679.
- Crezee, M., 1975. Monography of the Solenofilomphidae (Turbellaria: Acoela), *Int. Rev. Hydrobiol.* 60: 769-845.
- Farnest, R., M. Marinelli and D. Vagnetti, 1977. Ultrastructure research on spermatogenesis in *Dugesia lugubris* S.L. *S.I. Riv. Biol.* 70: 113-129.
- Fedecka-Bruner, B., 1967. Differentiation des gonades males chez la planarie *Dugesia lugubris* au cours de la regeneration, *C.R. Soc. Biol.* 161: 21-23.
- Franquinet, R. and T. Lender, 1973. Etude ultrastructurale des testicules de *Polycelis tenuis et Polycelis nigra*, *Z. Mikrosk. anat. Forsch.* 87: 4-22.
- Grasso. M., L. Montanaro and A. Quaglia, 1975. Studies on the role of neurosecretion in the induction of sexuality in a planarian agamic strain. *J. Ultrastr. Res.* 52: 404-408.
- Gremigni, V., 1974. The origin and cytodifferentiation of germ cell in the planarians. *Boll. Zool.* 41: 359-377.
- Gremigni, V. and I. Puccinelli, 1977. A contribution to the problem of the origin of the blastema cells in planarian: a karyological and ultrastructural investigation. *J. Exp. Zool.* 199: 57-72.
- Henelberg, J., 1969. On the development of different type of spermatozoa from spermatids with two flagella in the Turbellaria with remarks on the ultrastructure of the flagella. *Zool. Biodrag. uppsala*, 38: 1-50.
- Henelberg, J., 1970. On the number and ultrastructure of the flagella of flatworm spermatozoa, In: *Comparative spermatology*, (B. Baccett, Ed.)

- Academic Press. Inc., New York, pp.367-374.
- Hendelberg, J., 1975. Functional aspects of flatworm sperm morphology, In: The functional anatomy of the spermatozoon (B.A. Afzelius, Ed.). Pergamon Press, Oxford and New York, pp.299-309.
- Hendelberg, J., 1977. Comparative morphology of Turbellarian spermatozoa studied by electron micrography. *Acta Zool. Fennica*, 154: 149-162.
- Henley, C., 1968. Refractile bodies in the developing and mature spermatozoa of *Childia groenlandica* (Turbellia: Acoala) and their possible significance. *Biol. Bull.* 134: 382-397.
- Henley, C., Costello, D. P., Thomas, M.B. and Newton, W.D. 1969. The 9+1 pattern of microtubules in spermatozoa of *Mesostoma* (Platyhelminthes: Turbellaria), *Proc. natl. Acad. Sci.* 64: 849-856.
- Henly, C., 1973. Chromatin condensation involving lamellar strands in spermatogenesis of *Goniobasis Proxima*. *Chromosome* 42: 163-174.
- Henly, C., 1974. Platyhelminthes (Turbellaria). In: *Reproduction of Marine Invertebrates* (A.C. Giese and John S. Pearse, Eds.) Academic Press. Inc., New York. pp.267-343.
- Hymen, L., 1951. The invertebrate. 11. Platyhelminthes and Rhynchocoela. The Acoelomate Bilateria. New York. McGraw Hill. pp.550.
- Jagersten, G., 1959. Furture remarks on the early phylogeny of the Metazoa. *Zool. Bidr. Uppsala*, 33: 79-108.
- Kawakatsu, M., 1964. Studies on the taxonomy and morphology of the japanies freshwater planarian. *Annot. Zool. Japan*, 37: 174-184.
- Kawakatsu, M., 1966. Morphological studies on the freshwater planarian, *Dugesia japonica* Ichikawa et Kawakatsu from Korea *Zool. Mag.* 74: 103-105.
- Koltzoff, N., 1909. Studien uber die Gestalt der Zelle. 11. Untersuchungen uber das Kopfskel ett des tierischen spermium. *Arch. Zellforsch.* 2: 1-64.
- Lender, T., 1974. The role of neurosecretion in freshwater planarian, In: *Biology of the Turbellaria* (Eds. N.W. Riser and M.P. Morse), McGraw-Hill, New York, pp.460-475.
- Okugawa, K., 1957. An experimental study of sexual induction in the asexual form of japanese freshwater planarian. *Dugessia gonocephala* (Duges). *Bull. Kyoto Gakuein Univ.* 11: 8-27.
- Reman, A., 1958. Zur verwandtschaft und Ableitung der niederen Metazoen. *Verhandl. Deut. Zool. Ges.* 1957: 179-196.
- Silveira, M., 1968. Action de la pepsin sur un flagella du type 9+1. *Experientia*, 24: 1243-1245.
- Silveira, M., 1969. Ultrastrucural studies on a nine plus one flagellum. *J.Ultrastr. Res.* 26: 274-288.
- Silveira, M., 1970. Characterization of an unusual nucleus by electron microscopy. *J. Submic. Cytol.* 2: 13-24.
- Silveira, M., 1973. Intraaxonemal glycogen in 9+1 flagella of flatworms. *J. Ultrastr. Res.* 44: 253-264.
- Sliveira, M., 1975. The fine structural of 9+1 flagella in Turbellarian flatworm. In: *The functional anatomy of the spermatozoon* (Ed. B.A. Afzelius). Pergamon Press, Oxford and New York, pp.289-298.
- Wulzen, R., 1927. The nutrition of planarian worm. *Science*, 65. (1683): 331-332.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Electron micrography showing the spermatogonia (SG). ST, spermatid; G, Golgi complex. $\times 7950$.
- Fig. 2.** Electron micrography showing the primary spermatocyte (SC1). Nu, nucleus; M, mitochondria. $\times 7950$.
- Fig. 3.** Section through the secondary spermatocyte (SC2) containing luminated material (arrow). $\times 7950$.
- Fig. 4.** Early spermatid (ST) including a great number of mitochondria (M), straight-shaped lamellar Golgi complex (G) and centriole (C). $\times 15000$.
- Fig. 5.** Early spermatid (ST) of *Dugesia japonica* including a large number of mitochondria (M), C-shaped lamellar Golgi complex (G) and centriole (C). luminate material (arrow). $\times 27000$.
- Fig. 6.** In the cytoplasm of the early spermatid (ST) showing the divided two daughter centrioles (arrow). G, Golgi complex; SP, spermatozoon; M, mitochondria. $\times 15000$.
- Fig. 7.** Cross section through the early spermatid (ST) possessing elongated cytoplasm. SP, spermatozoon. $\times 6000$.
- Fig. 8.** Cross section through the lower part of the spermatozoon head (S). Spermatozoon head including 40-42 microtubules (arrow), in nucleoplasm containing four white spots and that mitochondrion (M). N, nucleus. $\times 30000$.
- Fig. 9.** Cross section through the spermatozoon head (S) of *Dugesia japonica*. Spermatozoon head containing 36-38 microtubules (arrow) and in nucleoplasm which is not seen the four white spots. N, nucleus; M, mitochondria. $\times 20000$.
- Fig. 10.** Cross section through the upper portion of spermatozoon heads (S), those contain the mitochondrion (M) respectively. N, nucleus. $\times 19500$.
- Fig. 11.** The axoneme of sperm tails (arrow) represent fundement 9+1 microtubules pattern. $\times 42000$.
- Figs. 12, 13.** Longitudinal section of spermatozoon head (S) containg a long mitochondrion (M). N, nucleus. $\times 13950$, $\times 30000$.
- Fig. 14.** A longitudinal sectioned spermatozoon (SP) embedded in testis. The arrow indicates the apical portion of sperm head. $\times 30000$.





