

배추흰나비 옆홀눈의 미세구조

김 창 식

Ultrastructure of Stemmata in Cabbage Butterfly, *Pieris rapae* L.

Kim, Chang Shik
(Received November 18, 1995)

ABSTRACT

Ultrastructure of stemmata(larval eye) of 5th-instar larval in cabbage butterfly, *Pieris rapae* L. was morphologically investigated with light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope

Six stemmata are on each side of the head. Stemmata V and VI have a Y-shaped sulcus on the surface of their corneal lenses, the others have a columnar shaped process and smooth globular surface. The visual type of stemmata is resembled a single ommatidium of compound eye. The dioptric apparatus are a biconvex shaped cornea and crystalline cone. As a photoreceptor, each stemmata consists of 7 reticular cells arranged into 2 tiers. The first cell tier of 3 distal reticular cells has formed a V-shaped cup rhabdome and the second cell tier of 4 basal reticular cells has formed a H-shaped fused rhabdome. Each reticular cell filled with pigment granules and contained multivesicular bodies, coated vesicle and common organelles. The peripheral parts of reticular cells are enveloped by neuroglia cells and reticular cells are surrounded by 3 corneagenous cells. The distal portions of the 3 corneagenous cells contact each other, but the Y-shaped stemmata is separated from each other immediately under the cornea.

The 7 axons from each stemma congregate into a bundle and each 7-axon group joins to form a stemmatal nerve, consisting of 42 reticular axons.

Key word : Stemmata, Ultrastructure, *Pieris rapae*

서 론

곤충의 옆홀눈은 완전 변태 곤충의 유충기에만 존재하는 시각 기관이다.

곤충의 시각 기관은 완전 변태 성충과 불완전 변태 유충에 있는 복안 그리고 성충과 반변태 유충의 등홀눈이 존재한다. 이들은 옆홀눈과 마찬가지로 종에 따라 색, 형태, 거리를 감지하며, 특히 나비목의 옆홀눈은 편광을 감지할 수 있는 망막세포가 있었다(Ichikawa and Tateda, 1980, 1982).

옆홀눈의 수는 머리의 양쪽 면에 각각 1개에서 30개까지 다양하였고, 하나의 옆홀눈을 구성하는 망막세포는 7개에서 20개로 종에 따라 특징적으로 나타나기에 망막세포의 수적인 변화는 종의 진화와 계통 분류의 지표로 이용되었다(Paulus and Schmidt, 1978; Paulus, 1979).

옆홀눈의 구조는 큐티클인 각막, 아래 부위에 수정체 이어서 감간체와 망막세포들이 배열되어 있으며, 망막세포의 수와 배열 형태에 의해 첫째는 복안의 날눈과 같은 구조(Dethier, 1943), 둘째는 감간체와 망막세포들이 병렬로 위치한 구조(Jockusch, 1967) 그리고 구조는 둘째와 같으나 더 많은 망막세포로 구성된 유형(Meyer-Rochow, 1974)으로 구분되었다. 나비류의 옆홀눈은 대부분 머리 양쪽에 6개씩 존재하며, 날눈과 같은 구조로 7개의 망막세포가 뇌에 연결되어 있음을 광학현미경적 연구와 전자현미경을 이용한 미세구조적 연구(Toh-Sagara, 1982; Zetlan-Carlson, 1987)가 보고되었다.

본 연구는 나비류에서 아직 옆홀눈의 구조가 밝혀지지 않은 배추흰나비를 재료로 하여 유충기에만 존재하는 시각 기관의 미세구조를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

야외에서 채집한 배추흰나비(*Pieris rapae* L.)를 야외 사육장에서 사육하여 5령 유충의 것을 실험 재료로 사용하였다.

2. 방 법

1) 투과전자현미경 및 광학현미경 관찰

해부현미경하에서 재료를 적출하여 phosphate buffered(pH 7.2) paraformaldehyde-glutaraldehyde 용액에서 1시간 전고정한 후 동일한 완충액으로 세척시킨 다음, 1% phosphate buffered osmium tetroxide (pH 7.2)에서 1시간 후고정 시킨다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 ethanol-acetone 탈수 과정을 거쳐 Epon 혼합액과 Spurr resin에 포매한다. 포매된 재료는 LKB-V형 ultramicrotome으로 1 μ m 두께의 절편을 제작하여 methylene blue나 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하고, 동일한 부위에서 은색 절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 후, 1% uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(JEM 100 CX-II, 80 kV)으로 관찰하였다.

2) 주사전자현미경 관찰

위의 재료를 위의 방법으로 고정, 탈수한 다음, critical point dryer로 건조시킨 후, JFC1100 ion coater로 20 nm 두께로 도금한 후 주사전자현미경(JEM T300, 15 kV)으로 관찰하였다.

결 과

배추흰나비의 홀눈은 머리 양편에 각각 6개씩 존재하였고, 이들은 머리 측면의 반원형인 봉합선을 따라 아래쪽에 5개가 나열되어 활모양을 나타냈으며, 나머지 하나는 측면 중앙에 위치하였다. 각 홀눈의 표시는 Singleton과 Philogene(1981)의 명명법에 따라 머리의 뒤쪽에 위치한 것부터 시계 방향으로 I, II, III, IV, V로, 중앙의 것은 VI로 표시하였다. 홀눈 표면이 II, III, IV, V의 것은 높이와 직경이 60 μ m로 원통형으로 돌출되어 있고, 그 표면은 매끈하며 약간 볼록한 모양을 하였으나, I와 VI의 것은 표면이 Y형으로 3등분되었고 전자의 것과 같이 돌출되어 있지는 않았다(Fig. 1).

각막은 큐티클이 층을 이루어 배열된 볼록렌즈 모양이었고, 바로 아래층에 각막생성세포가 있어 각막이 직접 원추체와 연속되어 있지 못하였지만, Y형(I, VI)은 각막이 원추체와 직접 연결되어 원추체의 3분된 모양이 각

막 표면으로 나타나 관찰되었다(Fig. 1).

각막생성세포는 각막을 제외한 옆흔눈 전체를 3개의 세포가 완전히 둘러싼 모양으로 배열되어 있으며, 원통형 옆흔눈은 세포질이 원추체 위쪽으로 돌출되어 각막과 인접하였지만, Y형 옆흔눈은 각막의 가장자리에만 연결되어 있었다. 핵은 옆흔눈 장축의 중간부에 불규칙하고 커다란 모양으로 염색질이 산재되어 나타났다. 세포질에는 미토콘드리아, 조면소포체 그리고 폴리리보솜 등이 풍부하였고, 전자 밀도가 높은 과립과 multilamellar body도 산재되어 있었다(Fig. 2).

원추체는 종모양으로 위쪽은 완만하게 볼록하여 각막(I, VI) 또는 각막생성세포(II, III, IV, V)와 접하고, 나머지 면은 완전하게 말단망막세포(distal reticular cell)들로 싸여 있었다(Fig. 3).

원추체는 3개의 원추체세포로 형성되어 핵은 위쪽(말단부)에 흔적으로 남아 있고, 3개의 세포가 인접된 세포막은 서로 밀착되어 하나로 융합된 것처럼 나타났다. 세포질은 전자 밀도가 높은 과립으로 꽉 차 있으나 세포소기관 등은 전혀 존재하지 않았다(Fig. 4).

감간체는 옆흔눈의 중앙 부위에 원추체에서 옆흔눈 기저부까지 나타났다. 망막세포는 원추체를 둘러싸고 있는 3개의 말단망막세포와 그 아래에 위치하는 4개의 기저망막세포(basal reticular cell)로 구분되었으며, 이들 세포가 감간체를 이루었다. 말단망막세포는 원추체의 중간부위에서 크기가 작은 감간분체를 형성하여 침체쪽으로 점점 크기가 커져 원추체 아래 부위에서는 길이가 약 1.5 μm 인 감간체를 이루었다. 이어서 4개의 기저망막세포가 옆흔눈의 중앙 부위에 감간체를 형성하였다. 감간체의 모양은 말단망막세포가 원추체와 접하는 부위에서는 V형 컵모양(Fig. 3), 기저망막세포가 위치하는 부위는 H모양으로 인접된 세포막을 따라 관찰되었다(Fig. 6).

망막세포의 핵은 각막생성세포의 핵이 위치하는 옆흔눈의 중간층에서 함께 관찰되었고, 옆흔눈의 장축과 평행하게 난원형으로 배열되어 있었다. 세포질은 색소 과립이 꽉 차 있고, 조면소포체와 미토콘드리아 그리고 막성물질이 산재되어 있었다(Figs. 2, 5).

옆흔눈의 축색은 각 옆흔눈의 7개 망막세포가 옆흔눈 기저부에서 다발 모양을 이루었고, 이들은 그 아래에서 다른 옆흔눈의 것과 합쳐져 42개가 되어 신경교세포로 둘러싸여 있었다. 축색은 집단을 이루어 중단없이 전대

뇌의 측면을 지나 후대뇌와 연결되어 있으며, 축색 세포질에는 소수의 mitochondria와 신경섬유 그리고 미세소관이 관찰되었다(Fig. 7). 신경교세포는 단층으로 전체 축색 다발을 둘러싸고 있었다. 옆흔눈의 신경교세포는 중앙의 7개 망막세포 집단을 3개의 세포로 둘러싸고 있어, 원추체 아래 부위에서 옆흔눈 기저부까지는 각막생성세포와 망막세포 집단 사이에 위치하였다. 이 세포의 핵은 기저망막세포의 핵층과 같은 위치에서 관찰되었다(Figs. 2, 5).

고 찰

완전 변태 곤충의 유충기의 옆흔눈 수는 Coleoptera (Schone, 1962), Lepidoptera (Barrer, 1969; Ichikawa and Tateda, 1980), Trichoptera (Paulus and Schmidt, 1978) 그리고 Strepsiptera (Wachmann, 1972)에서는 머리 한쪽 면에 대부분이 5~7개이지만 Hymenoptera (Meyer-Rochow, 1974)에서는 1개만 존재하였고, Mecoptera (Paulus, 1986)의 것은 30개 이상이 관찰되었다. 이들의 옆흔눈을 구성하는 망막세포는 7~20개이었고, Megaloptera에서는 7개의 옆흔눈 중에서 하나가 망막세포가 발달되지 않아 흔적기관으로 남아 있었다 (Paulus, 1986).

배추흰나비의 옆흔눈은 한쪽 면에 6개가 있으며, 각 옆흔눈은 7개의 망막세포로 구성된 완전한 구조를 이루고 있어 나비류인 *Isia isabella* (Ichikawa and Tateda, 1980)와 *Heliothis armigera* (Li and Chang, 1991)에서와 같게 나타났고, 옆흔눈의 배열이 머리의 봉합선 아래쪽을 따라 활모양으로 넓게 배열된 것이 특징적이었다.

옆흔눈의 굴절 기관인 각막과 원추체는 빛을 굴절시켜 망막세포에서 효율적으로 감지하기 위해 빛을 모아 주고 산란을 줄이는 역할을 담당한다 (Land, 1985). 각막의 표면은 넓은 시야를 볼 수 있고, 빛을 최대로 굴절시킬 수 있는 볼록면으로 돌출되어 있고, 내측면 역시 볼록면으로 원추체와 연속되어 전체 각막은 볼록렌즈 모양이다. 각막 외부 형태는 대부분 매끈하게 움기된 모양이지만, 나비류의 일부 종에서는 매끈한 것과 3분된 Y형으로 구분되어 나타났다. 또한 이들 각막은 각막생성세포에서 생성되었다 (Li and Chang, 1991). 원추체는 원추체세

포가 서로 밀접하고 다당류가 과립 형태로 축적되며 세포 소기관과 핵이 퇴화 과정을 거쳐 형성되어졌다(Kim, 1988).

배추흰나비 옆홀눈의 외부 형태는 원통형으로 돌출되고 표면이 매끈한 4개의 옆홀눈과 Y형인 2개가 존재하고, 전체 12개 옆홀눈은 모든 시야를 볼 수 있도록 머리 양쪽 면에 넓게 분포되었다. 볼록렌즈 모양인 각막 아래에는 3개의 각막생성세포가 있으며, 이들 세포들은 원추체와 망막세포들을 3등분하여 완전히 둘러쌀 정도로 큰 세포이고, 세포 활동이 활발한 것으로 관찰되었다. 또한 각막생성세포의 세포질이 Y형 옆홀눈에서는 각막과 원추체 사이에는 없기에 원추체의 3분된 모양이 각막 표면에서 Y형으로 관찰된 것은 *Heliothis armigera*(Li and Chang, 1991)에서와 같게 나타났다. 원통형 옆홀눈은 각막과 원추체 사이에 각막생성세포의 세포질이 있어, Li와 Chang(1991)의 주장과 같이 빛을 여과시킬 수 있으며, 특히 배추흰나비에서는 원통형으로 머리 표면에 약 60 μm 만큼 돌출되었기에 옆홀눈의 주변에서 입사하는 빛을 효율적으로 차단시키고 pinhole 효과로 더욱 정확한 상을 맺을 수 있을 것으로 여겨졌다.

원추체는 종모양으로 내부는 다당류로 여겨지는 과립이 뾰뾰이 차 있고 특이하게 분화된 세포막에 의해 3등분되어 있으며, 퇴화된 핵은 위쪽 말단에 위치하여 배추흰나비 복안의 원추체(Kim, 1988)와 같게 관찰되었다.

감간체는 효율적으로 빛을 수용할 수 있는 구조물로서 망막세포의 미세융모가 뾰뾰이 밀집되어 구성되어 있음을 *Pieris brassicae*(Kolb, 1977) 및 *Aglais urticae*(Kolb, 1985)에서 관찰되었고, 또한 융합된 감간체는 상호 수직인 미세융모가 번갈아 위치하여 층으로 나타남을 Meyer-Rochow(1972)가 보고하였다. 옆홀눈은 감간체의 배열 형태에 의해 첫째는 복안의 날눈과 같은 구조, 둘째는 감간체와 망막세포들이 병렬로 위치한 구조, 그리고 셋째 구조는 둘째와 같으며 더 많은 감간체와 망막세포로 구성된 구조로서 3유형으로 구분되었다(Land, 1985). *Isia isabella* 옆홀눈의 감간체는 말단부에 3개 말단망막세포, 기저부에 4개 기저망막세포로써 2층으로 구성되어 있으며, 그 구조는 말단부가 V형 컵모양으로 원추체 둘레에 각 세포가 독자적으로 감간체를 이루었지만, 기저부는 완전히 융합된 모양이었다. 또한 이 감간체에서는 편광을 감지할 수 있었다(Ichikawa and Ta-

tada, 1980, 1982).

배추흰나비의 감간체는 *Isia isabella*(Ichikawa and Tateda, 1980, 1982)에서와 같은 구조를 이루었고, 옆홀눈의 유형 중에서 복안의 날눈 구조이었다. 감간체 모양은 기저부가 4개의 망막세포가 H형으로 접하기에 감간체 모양이 H형인 것이 특징적이었으며, 이들의 감간체는 종축에 수직 방향으로 서로 마주보고 배열되었기에 Meyer-Rochow(1972)의 보고와 같이 층으로 관찰되지 않았다. 망막세포의 세포질에는 풍부한 색소과립, coated vesicles, lysosome 그리고 광색소의 잔존물을 포함한 multivesicular body와 multilamellar body 등이 관찰되었다(Zetland and Carlson, 1987).

옆홀눈의 축색은 7개의 망막세포에서 연속되어 집단으로 모여지고, 6개 옆홀눈의 이 축색 집단은 다시 모여 42개를 포함하는 큰 다발을 이루었다(Li and Chang, 1991). 머리 양쪽의 각 다발은 뇌의 앞쪽 복측으로 들어가서 뇌의 측면을 따라 등쪽으로 뻗어 서로 교차되었다(Ichikawa and Tateda, 1984).

배추흰나비의 축색은 나비류인 *Heliothis armigera*(Li and Chang, 1991)과 *Isia isabella*(Ichikawa and Tateda, 1984)에서와 같게 관찰되었다. 신경교세포는 큰 다발 전체를 한층으로 둘러싸고 있으며, 이 세포는 각 옆홀눈의 6개 축색 집단을 따라 옆홀눈 내의 각막생성세포와 망막세포 집단 사이로 뻗어 있음이 특징적으로 나타났다.

결 론

배추흰나비(*Pieris rapae* L.) 옆홀눈의 미세구조를 광학현미경, 주사 및 투과 전자현미경을 사용하여 5령 유충기를 재료로 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

유충기의 옆홀눈은 머리 양쪽에 6개씩 존재하였고, 이들은 각막 표면 모양에 따라 4개의 원통형과 2개의 Y형으로 구분되었다. 옆홀눈의 시각 구조는 복안을 이루는 날눈 유형이었다. 빛의 굴절 장치는 볼록렌즈 모양의 각막과 원추형인 원추체가 있으며, 수용 장치는 7개의 망막세포가 2층으로 배열되어 3개의 말단망막세포는 V형 컵모양의 감간체, 4개의 기저망막세포는 H형인 융합된 감간체를 이루어 옆홀눈의 중앙부에 위치하였다. 망막세포의 세포질은 색소 과립이 뾰뾰이 차 있으며, multive-

sicular bodies, coated vesicle와 세포소기관이 풍부하였다. 망막세포들의 바깥 층은 신경교세포의 얇은 세포질로 감고 있고, 이들은 다시 3개의 커다란 각막생성세포로 각막을 제외한 옆흠눈을 완전히 둘러싸고 있으나, Y형 옆흠눈의 각막과 원추체 사이에는 각막생성세포가 존재하지 않았다. 옆흠눈의 신경은 7개의 망막세포의 축색이 6개의 옆흠눈에서 기원되었고, 이들은 서로 모여 42개의 축색을 포함한 신경 다발을 이루어 뇌와 연결되었다.

참 고 문 헌

- Barrer, P.M., 1969. Functional studies on insect photoreceptors with special reference to lepidopteran larvae. Doctoral dissertation, University of London.
- Dethier, V.B., 1943. The dioptric apparatus of lateral ocelli, II. Visual capacities of the ocellus. *J. Comp. Physiol.*, 22:126-225.
- Ichikawa, T. and Tatera, H., 1980. Cellular patterns and spectral sensitivity of larval ocelli in the swallowtail butterfly *papilio*. *J. Comp. Physiol.*, 139:41-47.
- Ichikawa, T. and Tatera, H., 1982. Distribution of color receptors in the larval eyes of four species of lepidoptera. *J. Comp. Physiol.*, 149:317-324.
- Ichikawa, T. and Tatera, H., 1984. Termination profiles of photoreceptor cells in the larval eye of the swallowtail butterfly. *J. Neurocytology*, 13(2):227-238.
- Jockusch, B., 1967. Bau und Funktion eines larvalen Insektenauges. Untersuchungen am Ameisenlöwen(*Euroleon nostras* Fourcroy, Planip., Myrma). *Z. Bgl. Physiol.* 56:171-198.
- Kim, C.S., 1988. Ultrastructure of the developing compound eye in *Pieris rapae* L. (Lepidoptera). Doctoral dissertation, Korea University.
- Kolb, G., 1977. The structure of the eye of *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera). *Zoomorphology*, 87:123-146.
- Kolb, G., 1985. Ultrastructure and adaption in the retina of *Aglais urticae* (Lepidoptera). *Zoomorphology*, 105:90-98.
- Land, M.F., 1985. The morphology and optics of spider eyes. *Neurobiology of Arachnids*. Springer, Berlin. 53-78.
- Li, S.N. and Chang, Y.Z., 1991. Ultrastructure of the larval stemmata, the stemmata nerves and the optic neuropils of the larval cotton Bollworm, *Heliothis armigera* (Lepidoptera: noctuidae). *Int. J. Insect morphol. & embryol.*, 20:1-13.
- Meyer-Rochow, V.B., 1972. The eyes of *Creophilus erythrocephalus* F. and *Sartallus signatus* Sharp (Staphylinidea, Coleoptera). *Z. Zellforsch.*, 133:59-86.
- Meyer-Rochow, V.B., 1974. Structure and function of the larval eye of the sawfly, *Perga* (*Hymenoptera*). *J. Comp. Physiol.*, 20:1565-1591.
- Paulus, H.F., 1986. Comparative morphology of the larval eyes of Neuropteroidae. Recent Research in Neuropterology. Graz, Austria. 157-164.
- Paulus, M.F., 1979. Eye structure and the monophyly of the arthropoda. *Arthropod Phylogeny*. Van Nostrand Reinhold Co., 299-283.
- Paulus, M.F. and Schmidt, M., 1978. Evolutionsswege zum larvalauge der Insekten. I. Die Augen der Trichoptera und Lepidoptera. *Z. Zool. Syst. Evolutions-forsch.* 16:188-216.
- Schone, H., 1962. Optisch gesteuerte Lageänderungen. *Z. Vgl. Physiol.*, 45:590-640.
- Singleton-Smith, J. and Philogene, B.J.R., 1981. Structure and organization of the stemmata in the larvae of 5 species of Lepidoptera. *Rev. Can. Biol. Exp.*, 40(4):331-342.
- Toh, Y. and Sagara, H., 1982. Ocellar system of the swallowtail butterfly larva. I. Structure of lateral ocelli. *J. Ultrastruct. Res.*, 78:107-119.
- Wachmann, E., 1972. Zum Feinbau des Komplexauges von Stylops (Strepsiptera). *Z. Zwiiforsch.*, 123:411-424.
- Zetlann, S. and Carlson, S.E., 1987. Photoreceptor membrane breakdown in insect stemmata. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 28(3):186.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Scanning electron micrograph of six stemmata on right side of larval head. Stemmata V and VI have a Y-shaped sulcus on the surface of their corneal lenses, other 4 stemmata have a columnar shaped process and smooth globular surface.
- Fig. 2.** Cross section of proximal processes(apex) of 3 cone cells(cc). Microvilli of 3 distal retinula cells (dRc) form radially symmetrical rhabdom(arrow). Retinular cells filled with pigment granules, and enveloped by neuroglia cells(Ng) and corneagenous cells(Cg). N=Nucleus
- Fig. 3.** Longitudinal section of cone cell(cc) showing V-shaped rhabdom(arrow).
- Fig. 4.** Cross section of cone cell(cc) showing homogeneous electron-dense material(arrow; black) between cone cell and rhabdom(Rh), abundant glycogen in cone cell. Note cell membrane of cone cells(arrow).
- Fig. 5.** Cross section of basal stemma showing circular arrangement of 7 retinula cells, 3 large corneagenous cells(Cg), and neuroglia cells(Ng). bRc=basal retinula cell, Rhabdom=arrow.
- Fig. 6.** Higher magnification of H-shaped rhabdom(Rh) are appeared vesicles, electron-dense particles, and desmosome(arrow).
- Fig. 7.** Cross section of stemmatal nerve containing 42 retinular axons. Bundle of axons are surrounded by neuroglia cells(Ng). Seven retinular axons are seen(black spot)



