한국전자현미경학회지 제 30 권 제 3 호 2000
Korean J. Electron Microscopy 30(3), 311~319(2000)

대하(*Penaeus chinensis*) 아가미의 형태 및 미세구조

이 정 식*, 강 주 찬[1], 정 선 영
여수대학교 어병학과, [1]부경대학교 수산생명의학과

Morphology and Ultrastructure on the Gill of the Fleshy Shrimp, *Penaeus chinensis* (Decapoda: Penaeidae)

Jung Sick Lee*, Ju-Chan Kang[1] and Seon Young Jeong
Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea
[1]Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
(Received July 24, 2000)

ABSTRACT

The gill morphology and ultrastructure of the fleshy shrimp, *Penaeus chinensis* were investigated by light and electron microscopy. Fleshy shrimp has dendrobranchiate gills. Gill has a longitudinal septum dividing them into afferent and efferent channel. Each gill lamella is covered by multi-layered thin cuticle of different electron density. The lamella basal cell is squamous and contains cytoplasm of electron dense. Simple epithelial layer consists of squamous epithelium contained large nucleus. The lamella pillar structures are characterized by the axial microtubules and lateral membrane interdigitations. Secretory cells of AB-PAS negative are multicellular gland. In active gland each cell boundary is not apparent and the cytoplasm contains smooth endoplasmic reticula, mitochondria, membrane-bounded secretory vesicles of low electron density and granular resettes. In inactive gland each cell boundary is apparent and the cytoplasm is occupied with numerous small granules of electron dense. The well-developed rough endoplasmic reticula and Golgi apparatus are observed in the unicellular gland of alcian blue positive.

Key words : *Penaeus chinensis*, Gill, Morphology, Ultrastructure

서 론

일반적으로 갑각류의 호흡은 외피와 아가미를 통하여 수행되는데 아가미에서 훨씬 높은 호흡기능을 수행한다. 아가미의 형태와 아가미 구성세포들의 종류 및 미세구조는 분류군에 따라 다양하며(McLaughlin, 1983), 동일 종에 있어서도 아가미 구성 세포들의 미세구조는 생활사에 따라 변화한다(Compere et al., 1989; Andrews & Dillaman, 1993).

본 논문은 1998년도 한국학술진흥재단 과학기초기술중점연구지원사업중 해양·수산과학연구(1998-023-H00014)의 연구비 지원에 의해 수행된 결과임
* Correspondence should be addressed to Dr. Jung Sick Lee, Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea. Ph: (061) 640-6270, FAX: (061) 640-6270, E-mail: LJS@yosu.ac.kr
Copyright ⓒ 2000 Korean Society of Electron Microscopy

갑각류 아가미의 형태 및 미세구조에 관한 연구는 *Jasus novaehollandiae* (Rogers, 1982), *Potamon niloticus* (Maina, 1990)와 *Nephrops norvegicus* (Laverack & Saier, 1993) 등에 관한 보고가 있으며, 외부요인에 의한 미세구조의 변화에 관한 보고는 *Goniopsis cruentata* (Martelo & Zanders, 1986), *Astacus astacus* (Fjeld et al., 1988), *Carcinus maenas* (Compere et al., 1989) 등에 관한 연구를 찾아 볼 수 있다.

대하는 국내에서 자연산의 생산량이 급격히 감소하면서 인위적인 양식의 필요성이 절실한 상업종이나 최근 환경 및 생물학적 저해요인으로 인하여 양식의 어려움을 겪고있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 환경요인에 의한 성장 저해를 규명하기 위한 기초자료 축적의 일환으로 대하 아가미의 형태 및 미세구조를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 대하는 두흉갑장(carapace length: CL) 53.07~53.84 mm의 자연산 4개체이다.

2. 방법

채집된 재료는 전자식 버어니어켈리퍼스를 이용하여 두흉갑장(CL)을 0.01 mm까지 측정한 다음 두흉갑을 제거하고 아가미의 외부형태를 기재한 후 파라핀 절편법에 의한 광학현미경 관찰용 조직표본과 투과 및 주사전자현미경 관찰용 조직표본을 제작하였다.

1) 광학현미경 관찰

광학현미경 관찰에 필요한 조직은 Bouin's solution에 일정시간 고정한 후 파라핀에 포매하여 4 μm 두께의 횡단면과 종단면의 연속절편을 제작하여, Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색과 alcian blue-periodic acid Schiff (AB-PAS, pH 2.5) 반응과 Mallory 삼중염색을 실시하였다.

2) 투과전자현미경 관찰

투과전자현미경(TEM)의 조직표본 제작은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전 고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 4°C에서 2시간 동안 후 고정하였으며, 고정이 끝난 재료는 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm의 semithin section과 70 nm의 ultrathin section을 하였으며, ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

3) 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경(SEM)의 조직표본 제작과정 가운데 고정과 탈수는 TEM 조직표본제작과 동일하게 처리되었다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨 후 ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20 nm로 피막을 입힌 후 주사전자현미경 (DSM 940A, Carl Zeiss)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

갑각류 가운데 십각류(decapod)의 아가미 형태는 크게 phyllobranchiate, trichobranchiate, dendrobranchiate 형태로 나누어진다 (McLaughlin, 1983). 이 가운데 phyllobranchiate 형태는 가장 간단한 구조로서 *Pachygrapsus crassipes*, *Hemigrapsus oregonensis* (Wright, 1964), *Eriocheir sinensis* (Barra et al., 1983), *Goniopsis cruentata* (Martelo & Zanders, 1986), *Carcinus maenas* (Compere et al., 1989; Goodman & Cavey, 1990), 그리고 *Potamon niloticus* (Maina, 1990) 등이 이러한 형태의 아가미를 가진다. Trichobranchiate 형태는 lobster, *Jasus novaehollandiae* (Rogers, 1982)에서 볼 수 있으며, dendrobranchiate 형태는 가장 복잡한 구조로서 *Penaeus aztecus* (Foster & Howse, 1978)를 비롯한 penaeidae에서 주로 관찰된다.

대하 각 아가미의 횡단면은 말굽형태로 가운데 세로 격벽(longitudinal septum)을 중심으로 상하 각 각 출새관(afferent channel)과 입새관(efferent channel)이

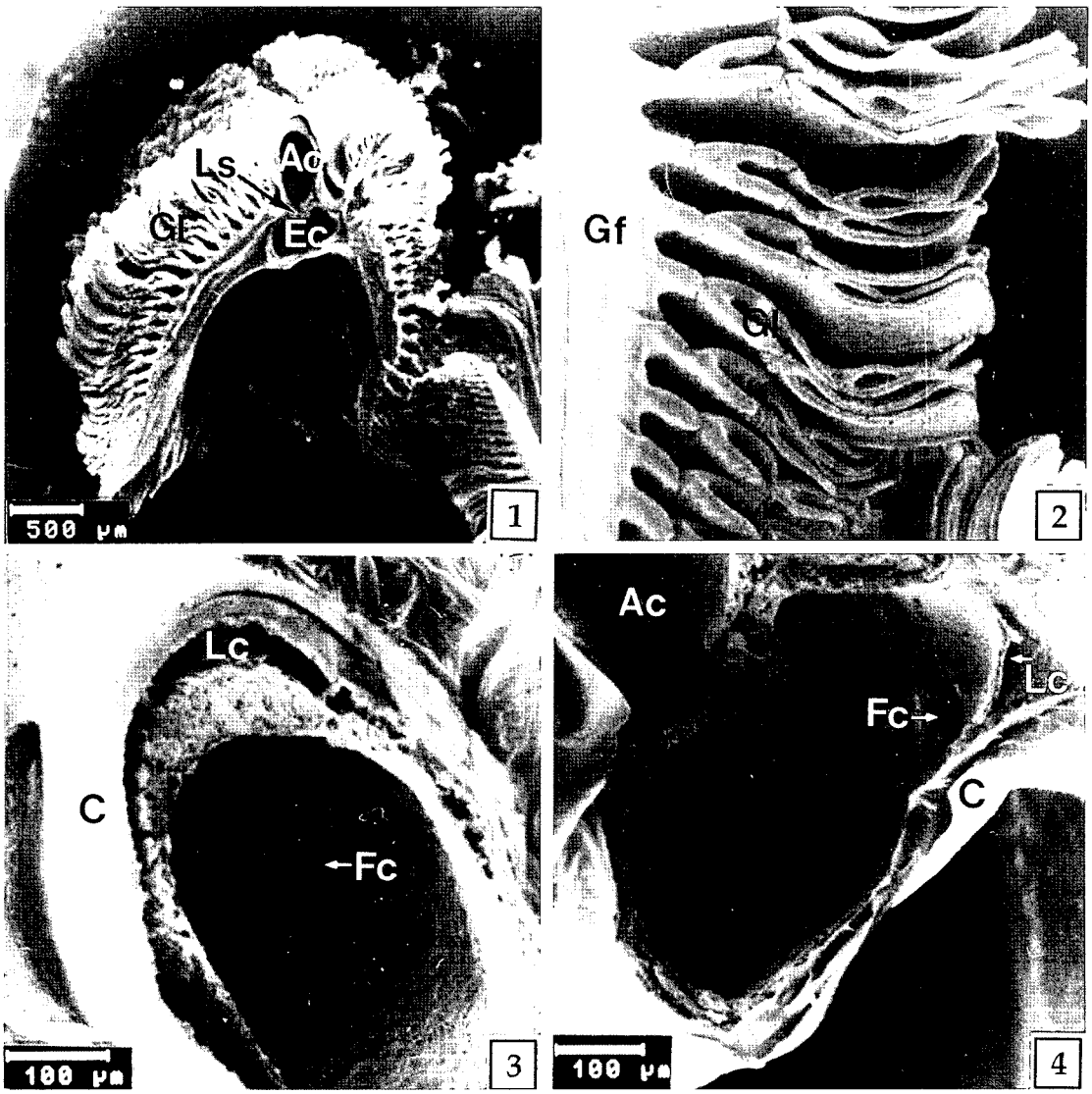


Fig. 1. Cross section of gill of the fleshy shrimp, *Penaeus chinensis*. Scanning electron micrographs showing the longitudinal septum (Ls), afferent channel (Ac), efferent channel (Ec) and numerous gill lamellae (Gl).
Fig. 2. Scanning electron micrographs showing the branched gill lamellae (Gl). Gf: gill filament.
Fig. 3. High power view of afferent channel. Note the cuticle (C), lateral canal (Lc) and filament connections (Fc).
Fig. 4. High power view of efferent channel. Note the cuticle (C), lateral canal (Lc) and filament connections (Fc). Ac: afferent channel.

위치한다(Figs. 1, 5).

아가미 가장 바깥쪽의 큐티클과 출새관 및 입새관의 사이에는 각 새엽 내강으로 연결되는 측면 소관(lateral canal)들이 형성되어 있었으며, 출새관과 입새관의 내부 벽면에서는 측면 소관과 연결되는 통로인 다수의 filament connection들이 관찰되었다(Figs. 3, 4).

출새관과 입새관의 좌우를 중심으로 아래쪽으로 다수의 새엽(gill filament)이 발달되어 있으며, 각 새

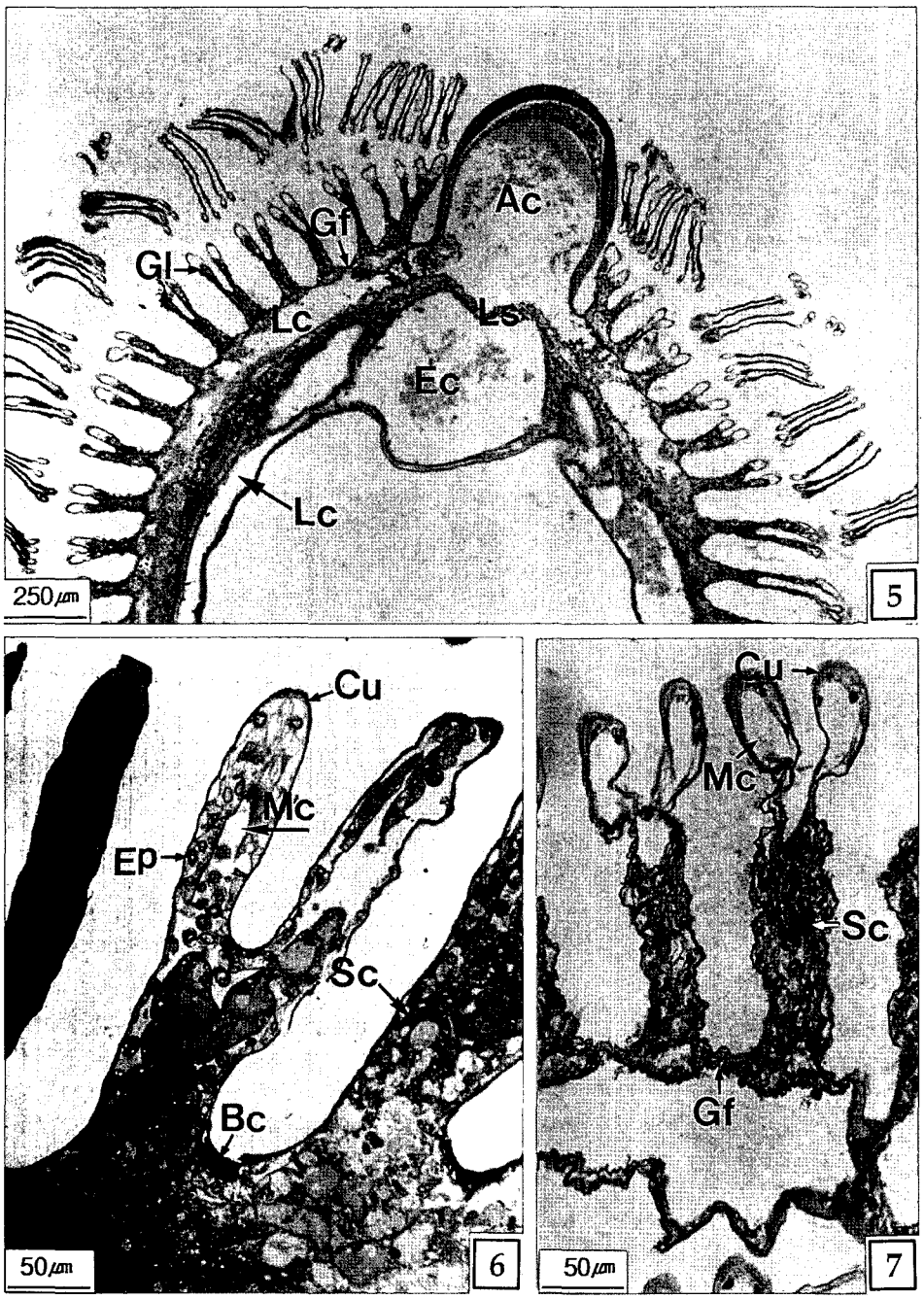


Fig. 5. Cross section of gill. Ac: afferent channel, Ec: efferent channel, Gf: gill filament, Gl: gill lamella, Lc: lateral canal, Ls: longitudinal septum.

Fig. 6. Semithin section of gill lamella showing the cuticle (Cu), epithelial cell (Ec), lamella basal cell (Bc), marginal canal (Mc) and secretory cell (Sc).

Fig. 7. Section of gill with AB-PAS (pH 2.5) reaction. Note the secretory cells (Sc) of alcian blue positive. Cu: cuticle, Gf: gill filament, Mc: marginal canal.

엽으로 부터 2~4개의 분지를 형성한 가지형태의 새판(gill lamella)이 발달되어 있었다(Figs. 1, 2).

이러한 본 연구의 결과로부터 대하 아가미의 형태는 dendrobranchiate 형태에 속하며, 이와 같은 아가미의 형태 및 구조는 *Penaeus aztecus* (Foster & Howse, 1978)와 매우 유사하다.

대하 아가미의 새판은 큐티클로 싸여 있고, 큐티클 내부는 내강이 발달되어 있으며, 새판이 시작되는 기저부에서는 새판 기저세포들이 관찰되었다(Fig. 6). 새판의 내강쪽에서는 기둥구조(pillar structure), 상피세포 및 AB-PAS (pH 2.5) 반응결과 음성 분비세포와 alcian blue 양성 분비세포(Figs. 6, 7) 그리고 다수의 신경총이 관찰되었다.

대하의 각 새판을 싸고 있는 큐티클은 동심원상의 다층구조인데, 이들 다층구조는 새판의 내강쪽으로부터 외부로 갈수록 전자밀도가 높게 나타났다(Fig. 8).

갑각류의 외피와 아가미에서 큐티클의 두께는 종 및 생활시기에 따라 아주 다양하며, 주기적으로 재생되는데(Andrews & Dillaman, 1993), 본 연구에서 관찰된 이러한 동심원상의 다층구조와 층에 따른 전자밀도의 차이는 대하 아가미 새판 큐티클의 주기적인 재생을 추측할 수 있는 특징으로 여겨진다.

대하 아가미의 새판 기저부에서 관찰되는 새판 기저세포들은 큐티클에 인접하여 위치하는데, 이들은 편평형으로 타원형의 핵과 뚜렷한 인을 가지며 세포질의 전자밀도는 매우 높게 나타남으로서(Fig. 9), *Penaeus aztecus* (Foster & Howse, 1978)의 기저세포와 유사한 특징을 보였다.

본 연구에서 새판의 상피세포층은 큐티클과 새판 내강사이에서 큐티클에 인접하여 단층으로 존재하는데, 상피세포들은 주로 편평형 또는 입방형으로 관찰되었다. 상피세포의 핵은 매우 커서 세포 전체의 약 50%를 차지하며, 핵막을 따라 이형염색질이 분포하고 있었다. 세포질은 잘 발달된 관상의 미토콘드리아와 소포체를 비롯한 여러 종류의 세포소기관을 함유하고 있었다(Fig. 10).

대하 아가미에서 새판 내강의 기둥구조는 큐티클에 부착되어 있었으며, 발달된 미세소관(microtubule)을 중심으로 좌우 측면에 membrane interdigitation 구조가 잘 발달되어 있었다(Fig. 11).

새판 내강의 기둥구조는 *Penaeus aztecus* (Foster & Howse, 1978), 게류인 *Goniopsis cruentata* (Martelo & Zanders, 1986)와 *Carcinus maenas* (Goodman & Cavey, 1990) 그리고 담수산 가재인 *Procambarus clarkii* (Dickson et al., 1991)에서 볼 수 있는데, 이 부분에서 미세소관의 발달은 대하와 공통된 결과를 보였다. 그러나 membrane interdigitation의 발달은 *Penaeus aztecus* (Foster & Howse, 1978), *Goniopsis cruentata* (Martelo & Zanders, 1986)와 *Procambarus clarkii* (Dickson et al., 1991)의 경우에는 큐티클과 인접한 apical membrane interdigitation이 발달되어 있으나, 대하의 경우에는 lateral membrane interdigitation이 발달된 것이 서로의 차이점이라 할 수 있겠다.

대하 아가미의 새판에서 관찰되는 두 종류의 분비세포들 가운데 AB-PAS 반응에 음성의 결과를 나타낸 세포들은 투과전자현미경 관찰 결과 여러 개의 세포들이 인접하여 형성된 다세포선의 형태를 보였다(Fig. 12). 이들 세포의 핵은 장방형이며, 활성화된 각 세포의 경계부는 뚜렷하지 않다. 활성화된 각 세포의 핵 근처 세포질에서는 활면소포체와 미토콘드리아들이 발달되어 있으며, 중심 도관(central duct) 쪽의 세포질에서는 전자밀도가 낮으며 막을 가진 직경 0.5~5.0 μm 크기의 다수의 분비소포들과 전자밀도가 높으며 막이 없는 granular rosette들이 무리지어 분포하는 것이 관찰되었다(Figs. 12, 13). 비 활성화 시기에는 이 세포들 가운데 부위의 중심 도관과 각 세포들의 경계가 뚜렷하며, 각 세포들의 세포질에서는 전자밀도가 높은 다수의 작은 과립들이 산재되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 14).

본 연구에서 구체적으로 이들 물질의 성분과 기능을 확인하지는 못하였지만, 이들과 유사한 미세구조적 특징은 갑각류의 외골격을 구성하는 lobed gland cell에서 볼 수 있으며, 이들 세포가 외골격의 큐티클 형성에 관여한다(Talbot & Demers, 1993)는 점과 비교해 볼 때 대하 아가미의 AB-PAS 음성 분비세포들은 새판 큐티클 형성에 관여하는 것이 아닌가 추측된다.

그리고 AB-PAS 반응에서 alcian blue에 양성인 분비세포들은 세포질이 짙은 청색으로 반응한 것으로

보아 세포질에 약산성의 물질을 함유하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 7). 이들 세포들은 투과전자현미경 관찰 결과 핵은 원형이었으며, 활성중인 세포의 세포질에 시스터네와 성숙면이 발달된 다수의 골지체와 조면소포체들을 함유하고 있었고(Figs. 15, 16), 성숙한 세포의 세포질에서는 전자밀도가 아주 높고 균질한 타원형의 분비물질이 관찰되었다(Fig. 17). 이러한 결과에서 AB-PAS 반응에 양성인 분비세포들의 세포질에 존재하는 물질은 당단백질로 판단되었다.

대하 아가미 새판에서 관찰되는 AB-PAS 양성 분비세포는 *Penaeus aztecus* 아가미에서 새판의 큐티클 형성에 관여할 것으로 추측하는 granular cell (Foster & Howse, 1978)과 과립 크기의 차이점을 제외하고는 유사한 미세구조적 특징을 가진다.

일반적으로 수서동물의 아가미 및 피부에 분포하는 분비세포들 가운데 상당수가 외분비 세포들로 이들은 주로 부분분비선(merocrine gland)인데, 본 연구에서 분비세포들의 분비 양상은 정확히 구분하기 어려웠다.

대하 아가미의 새판 내강 여러 곳에서는 다수의 신경총이 관찰되었는데(Fig. 18), 이러한 결과에서 아가미의 기능적 활성은 직접적으로 신경자극에 의해서 변화될 가능성이 있는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Andrews SC, Dillaman RM: Ultrastructure of the gill epithelia in the crayfish *Procambarus clarkii* at different stages of the molt cycle. J Crusta Biol 13 : 77-86, 1993.

Barra J-A, Pequeux A, Humbert W: A morphological study on gills of a crab acclimated to fresh water. Tissue Cell 15 : 583-596, 1983.

Compere P, Wanson S, Pequeux A, Gilles R, Goffinet G: Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Carcinus maenas* in relation to the external salinity. Tissue Cell 21 : 299-318, 1989.

Dickson JS, Dillaman RM, Roer RD, Roye DB: Distribution and characterization of ion transporting and respiratory filaments in the gills of *Procambarus clarkii*. Biol Bull 180 : 154-166, 1991.

Fjeld E, Hessen DO, Roos N, Taugbol T: Changes in gill ultrastructure and haemolymph chloride concentrations in the crayfish, *Astacus astacus*, exposed to de-acidified aluminium-rich water. Aquaculture 72 : 139-150, 1988.

Foster CA, Howse HD: A morphological study on gills of the brown shrimp, *Penaeus aztecus*. Tissue Cell 10 : 77-92, 1978.

Goodman SH, Cavey MJ: Organization of a phyllobranchiate gill from the green shore crab *Carcinus maenas* (Crustacea, Decapoda), Cell Tiss Res 20 : 495-505, 1990.

Laverack MS, Saier B: Morphology and ultrastructure of a presumptive oxygen receptor in the gills of the Norway lobster *Nephrops norvegicus* (Decapoda). J Crusta Biol 13 : 504-510, 1993.

Maina JN: The morphology of the gills of the freshwater African crab *Potamon niloticus* (Crustacea: Brachyura: Potamonidae): A scanning and transmission electron microscopic study. J Zool Lond 221 : 499-515, 1990.

Martelo M-J, Zanders IP: Modifications of gill ultrastructure and ionic composition in the crab *Goniopsis cruentata* acclimated to various salinities. Comp Biochem Physiol 84A(2) : 383-389, 1986.

McLaughlin PA: Internal anatomy. In: Mantel, LH, ed, The biology of crustacea. Vol. 5, pp. 1-52, Academic Press, New York, 1983.

Rogers PAW: Vascular and microvascular anatomy of the gill of the southern rock lobster, *Jasus novaehollandiae* Holthius. Aust J Mar Freshwater Res 33 : 1017-1028, 1982.

Talbot P, Demers D: Tegumental glands of crustacea. In: Horst MN & Freeman JA ed, The crustacean integument. pp. 151-191, CRC Press, London, 1993.

Wright KA: The fine structure of the nephrocyte of the gills of two marine decapods. J Ultrastruct Res 10 : 1-13, 1964.

<국문초록>

대하 아가미의 형태와 미세구조를 광학현미경과 전자현미경으로 조사하였다. 대하는 수지형 아가미를 가진다. 아가미는 출새관과 입새관을 구분하는 세로 격벽을 가진다. 각각의 새판은 전자밀도가 다른 다층구조의 큐티클로 싸여 있다. 새판 기저세포들은 편평형이며, 전자밀도가 높은 세포질을 가진다. 상피세포층은 단층으로 큰 핵을 가진 편평상피로 구성된다. 새판의 기둥구조는 세로방향의 미세소관들과 측면 membrane interdigitation을 가진다. AB-PAS 음성 분비세포들은 다세포선의 형

태이다. 활성화된 선에서 각 세포의 경계부는 뚜렷하지 않으며, 세포질에는 활면소포체, 미토콘드리아, 전자밀도가 낮으며 막을 가진 분비소포들과 granular rosettes를 가진다. 비 활성화된 선에서는 세포 경계가 뚜렷하며, 세포질에서는 전자밀도가 높은 다수의 작은 과립들이 산재한다. 그리고 alcian blue에 양성인 단세포 분비세포들은 세포질에 발달된 다수의 골지체와 조면소포체들을 함유한다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 8. Transmission electron micrograph of lamella cuticle (C). Note the multi-layered cuticle.

Fig. 9. Section of lamella basal cell (Bc) showing the cytoplasm of high electron density. C: cuticle.

Fig. 10. *Epithelial cell of gill lamella showing the cuboidal and well developed intracellular organs. C: cuticle, M: mitochondria, N:* nucleus.

Fig. 11. Section of pillar region. Note the well developed microtubules (Mt) and lateral membrane interdigitation (Mi). C: cuticle.

Fig. 12. Transmission electron micrograph of active multi-cellular gland. Note the secretory vesicles (Sv) and granular rosettes (Gr) of electron dense.

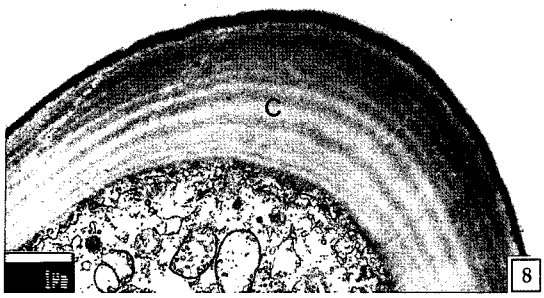
Fig. 13. High power view of Fig. 12 showing the secretory vesicles (Sv) and well-developed mitochondria (M).

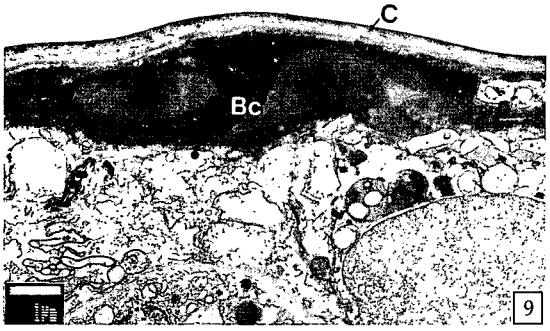
Fig. 14. Section of inactive multi-cellular gland. Note the central duct (Cd) and cell boundary (Cb)

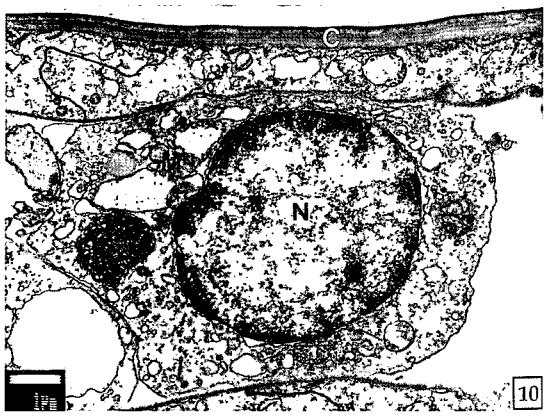
Fig. 15 and 16. *Section of active unicellular gland showing the well-developed rough endoplasmic reticula (rEr) and Golgi* apparatus (Ga). Mt: mitochondria, N: nucleus.

Fig. 17. Section of mature unicellular gland. Note the large central vesicle of high electron density.

Fig. 18. Section of nerve cells within the lamella canal.

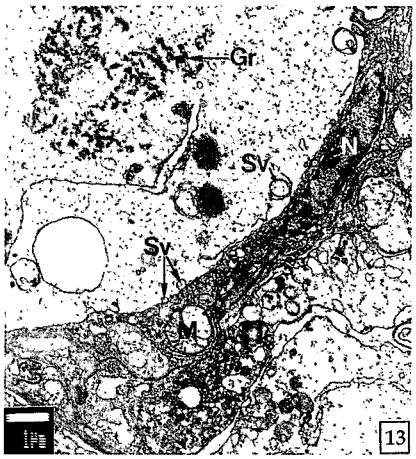

C
8

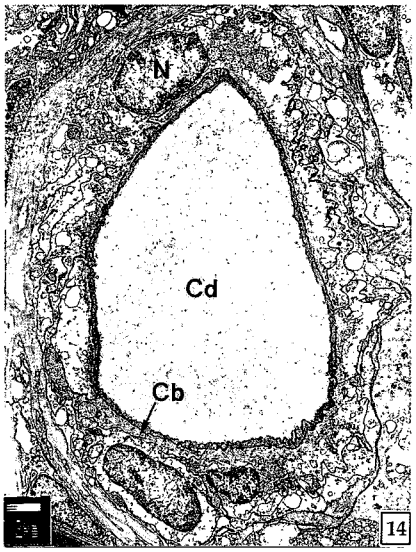

C
Bc
9

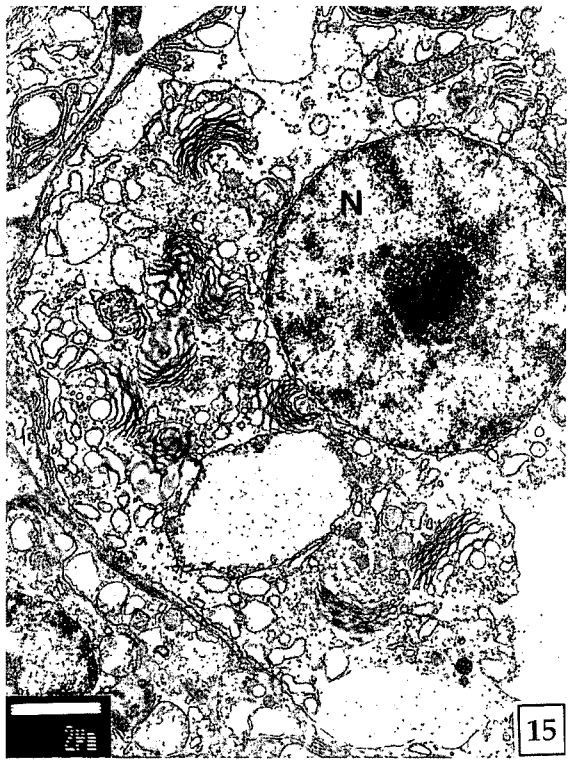

C
N
10

C
Mt
Mt
11

Gr
Sv
12


Gr
Sv
N
Sv
M
13


N
Cd
Cb
14



15

16

17

18