

대북, *Gomphina veneriformis*의 정자형성과정 및 정자 미세구조

박채규, 박정준¹, 이정용², 이정식^{1*}
여남고등학교, ¹여수대학교 수산해양대학 수산생명의학과,
²국립수산과학원 강릉수산종묘시험장

Spermatogenesis and Sperm Ultrastructure of the Equilateral Venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Chae Kyu Park, Jung Jun Park¹, Jeong Yong Lee² and Jung Sick Lee^{1*}

Yeonam High School, Yeosu 556-843, Korea,

¹Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science,
Yosu National University, Yeosu 550-749, Korea,

²Gangneung Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute,
Gangneung 210-800, Korea

(Received September 14, 2002; Accepted November 8, 2002)

ABSTRACT

Spermatogenesis and sperm ultrastructure are investigated by means of light and transmission electron microscopy in the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* which is dominant bivalve in the east coast of Korea. In the active spermatogenic season, testis consists of numerous spermatogenic follicles which is contains germ cells in the different developmental stage. The spermatogonia attached to spermatogenic follicle wall and has a large nucleus with electron dense nucleolus. The spermatocytes are characterized by appearance of synaptonemal complex and well developed Golgi complex. Nucleus of spermatid consists of numerous heterogeneous granules with high electron density. Karyoplasmic condensation, acrosome and flagellum formations are observed during spermiogenesis. Testicular matured sperms of sperm bundle consists of head, midpiece and tail. The head is about 8.5 μm long and comprises a long nucleus and a bullet like acrosome (1.1 μm in length). Acrosomal rod of microfilaments is observed in the lumen between nucleus and acrosome. The midpiece has four mitochondria. And tail has the typical "9+2" microtubule system.

Key words : *Gomphina veneriformis*, Spermatogenesis, Ultrastructure

* Correspondence should be addressed to Dr. Jung Sick Lee, Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science, Yeosu National University, Yeosu 550-749, Korea. Ph.: 061-659-3172, FAX: 061-659-3172, E-mail: LJS@yosu.ac.kr
Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

수서동물 생식소의 해부학적 구조 및 생식세포의 미세구조는 종 특이성, 생식생태 및 계통에 따라 다르다. 일반적으로 조개류의 정자는 핵과 철퍼의 모양, 철퍼기둥(acrosomal rod)의 유무, 미토콘드리아 수, 편모의 수 및 형태 등에서 다양한 특징을 보인다(Morse & Zardus, 1997). *Anadara trapezia* 등이 속하는 들조개과(Arcidae) 조개들의 정자 두부는 난형이며, 철퍼기둥이 없고, 중편에 4개의 미토콘드리아를 가진다. 하지만 *Tapes decussatus* 등이 속하는 백합과(Veneridae) 조개들의 정자 두부는 긴 원추형이고, 철퍼기둥을 가지며, 중편에 4개의 미토콘드리아를 가진다(Popham, 1979).

우리나라에 서식하는 백합과 조개류의 정자형태 및 형성에 관한 미세구조적 연구로는 민들조개, *Gomphina melanaegis* (Lee et al., 1999), 바지락, *Ruditapes philippinarum* (Chung et al., 1998), 개조개, *Saxidomus purpuratus* (Chung et al., 1999), 백합, *Meretrix lusoria* (Chung & Kim, 2000)에 관한 보고가 있지만, 동해안 사니질에 서식하는 우점종인 대복에 관해서는 이와 관련된 자료가 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 백합과 조개류의 하나인 대복의 정소구조와 웅성 생식세포의 형태 및 미세구조의 형성과정을 광학현미경과 투과전자현미경을 통하여 기재하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료는 강원도 강릉시 주문진 연안에서 채집된 개체들이다. 채집된 재료는 각장, 각고, 전중 및 체중을 각각 0.1 mm, 0.1 g까지 측정하였다. 그 후 해부하여 생식소가 포함된 내장낭의 일부를 Bouin's fluid에 고정하여 파라핀 절편법에 의해 4~6 μm 두께로 연속 절편하여 Mayer's hematoxylin 과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색과 Masson 삼중염색을 실시하였다. 투과전자현미경 (TEM) 조직표본 제작은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)로 원충시킨 2.5%

glutaraldehyde 용액으로 전 고정하였으며, 1% osmium tetroxide (OSO_4)로 후 고정한 후, 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol로 단계별 탈수하여 포매하였다. 그리고 두께 70 nm의 ultrathin section을 제작하여 TEM (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

결 과

1. 정소의 구조

대복 정소는 내장낭 하반부에서 족부의 상부까지 점유하며, 내장낭의 횡단면에서 정소는 내측의 간중장선과 외측의 섬유성 결체조직층 사이에 존재하였다. 정소 내부는 다수의 정자형성 소낭(spermatogenic follicle)으로 구성되는데, 이들 소낭은 소성결합조직으로 섬유의 발달은 미약한 편이며, 동일한 정자형성 소낭내에서는 여러 단계의 생식세포들이 관찰되었다. 정소가 활성화되어 정자형성과정이 진행되는 시기에 정자형성 소낭벽 근처에서는 주로 정원세포와 정모세포가 배열되어 있으며, 내강쪽으로 갈수록 정세포와 정자들이 순차적으로 배열된다(Fig. 1, A).

2. 정자형성과정

대복의 정자형성과정은 대부분의 조개류와 마찬가지로 정원세포기(spermatogonium stage), 정모세포기(spermatocyte stage), 정세포기(spermatid stage), 정자기(sperm stage)로 구분할 수 있었다.

1) 정원세포기

정원세포들은 주로 정자형성 소낭벽에 부착된 상태로 관찰되는데, 이들 세포의 형태는 원형에 가까우며, 크기는 투과전자현미경 표본에서 직경 약 6 μm 내외로 측정되었다. 정원세포의 핵은 직경 약 4.5 μm 크기의 원형으로 세포 전체의 약 70~80%를 차지하며, 세포질에서는 다수의 미토콘드리아들이 관찰되었다(Fig. 1, C).

2) 정모세포기

제 1 감수분열의 전기 가운데 태사기(pachytene stage)에 속하는 정모세포에서는 핵내에 미세한 과립상

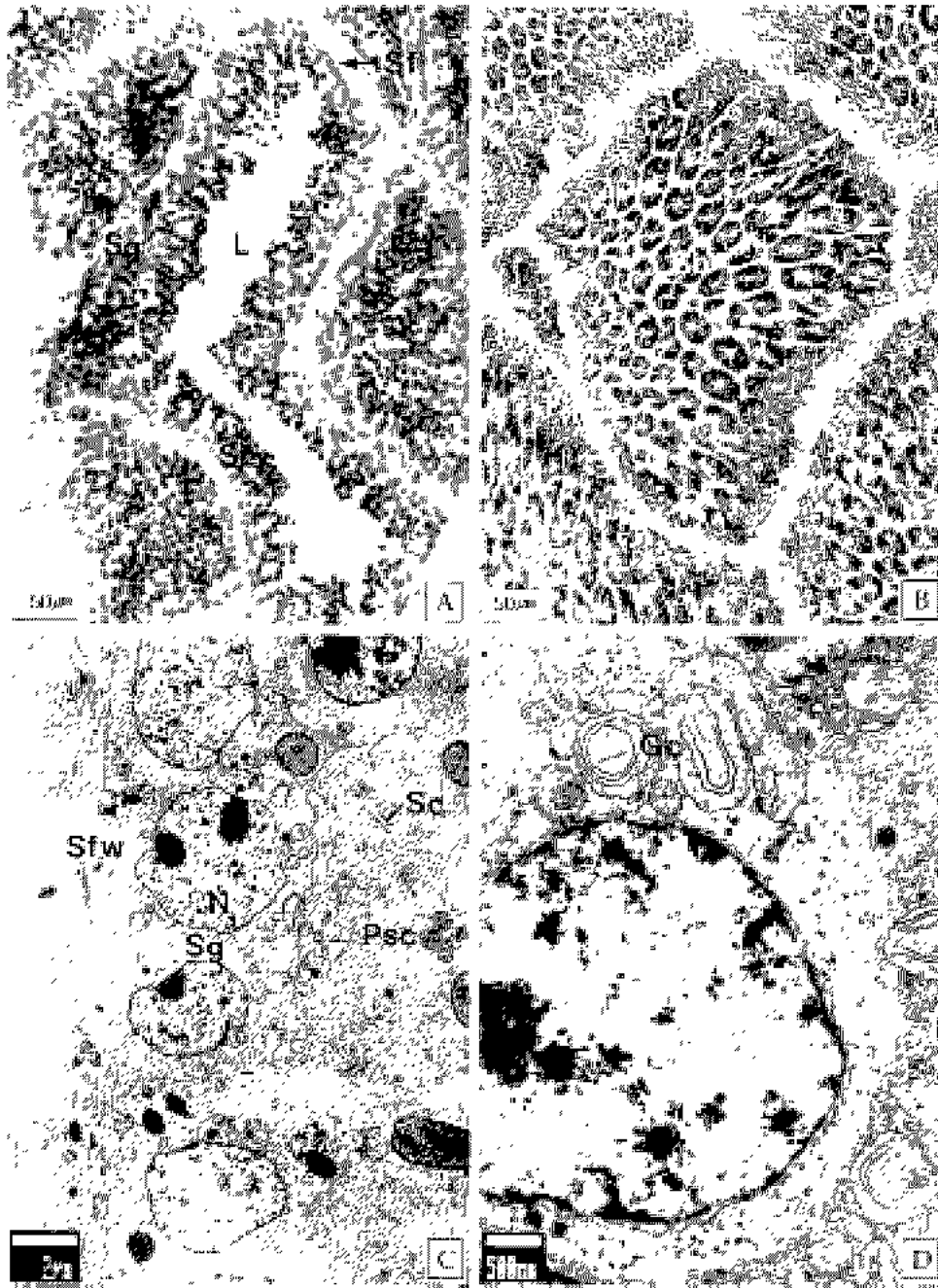


Fig. 1. Testicular structure and early spermatogenesis of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. A: Photomicrograph of spermatogenic follicle (Sf) in the early spermatogenesis. B: Spermatogenic follicle in the testicular ripe stage. C: Section showing the spermatogonia (Sg) and primary spermatocytes (Psc) in the pachytene stage. The nucleus (N) of a spermatogonium has electron-dense nucleolus. And nucleus of the spermatocyte has synaptonemal complex (Sc). D: Section of spermatocyte showing the well-developed Golgi complex (Go) and electron-dense heterochromatin. L: lumen of spermatogenic follicle, N: nucleus, Sb: sperm bundles, Scy: spermatocyte, Sfw: spermatogenic follicle wall.

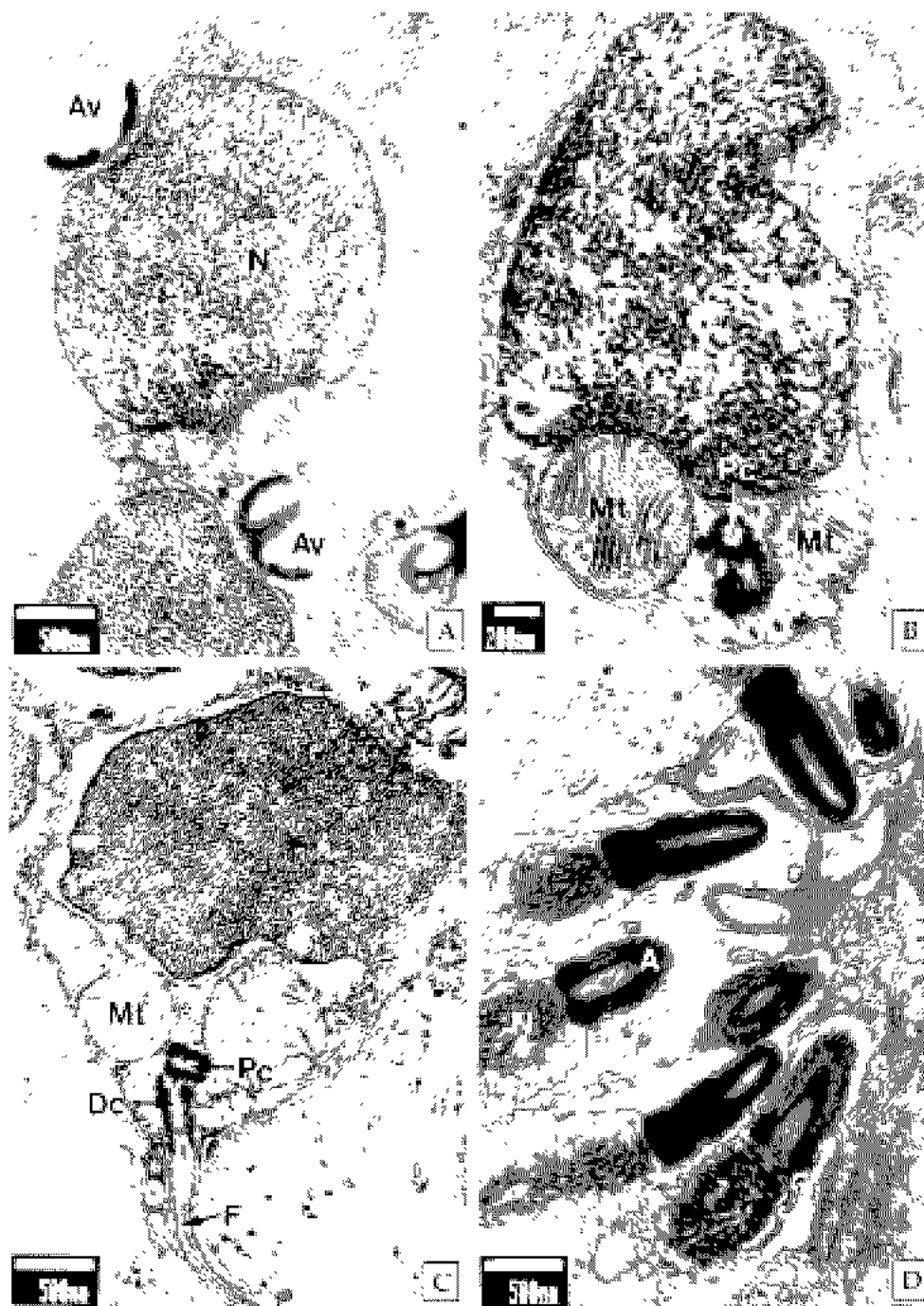


Fig. 2. Electron micrographs on the spermiogenesis of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. A: Longitudinal section of spermatid showing the acrosomal vesicle (Av). B: Section showing the formation of proximal and distal centriole (Pc) and the well-developed mitochondria (Mt) near the proximal and distal centriole. C: Section showing the finely granular karyoplasm and formation of the flagellum (F). D: Acrosomes (A) of the late spermatids. Dc: distal centriole, N: nucleus.

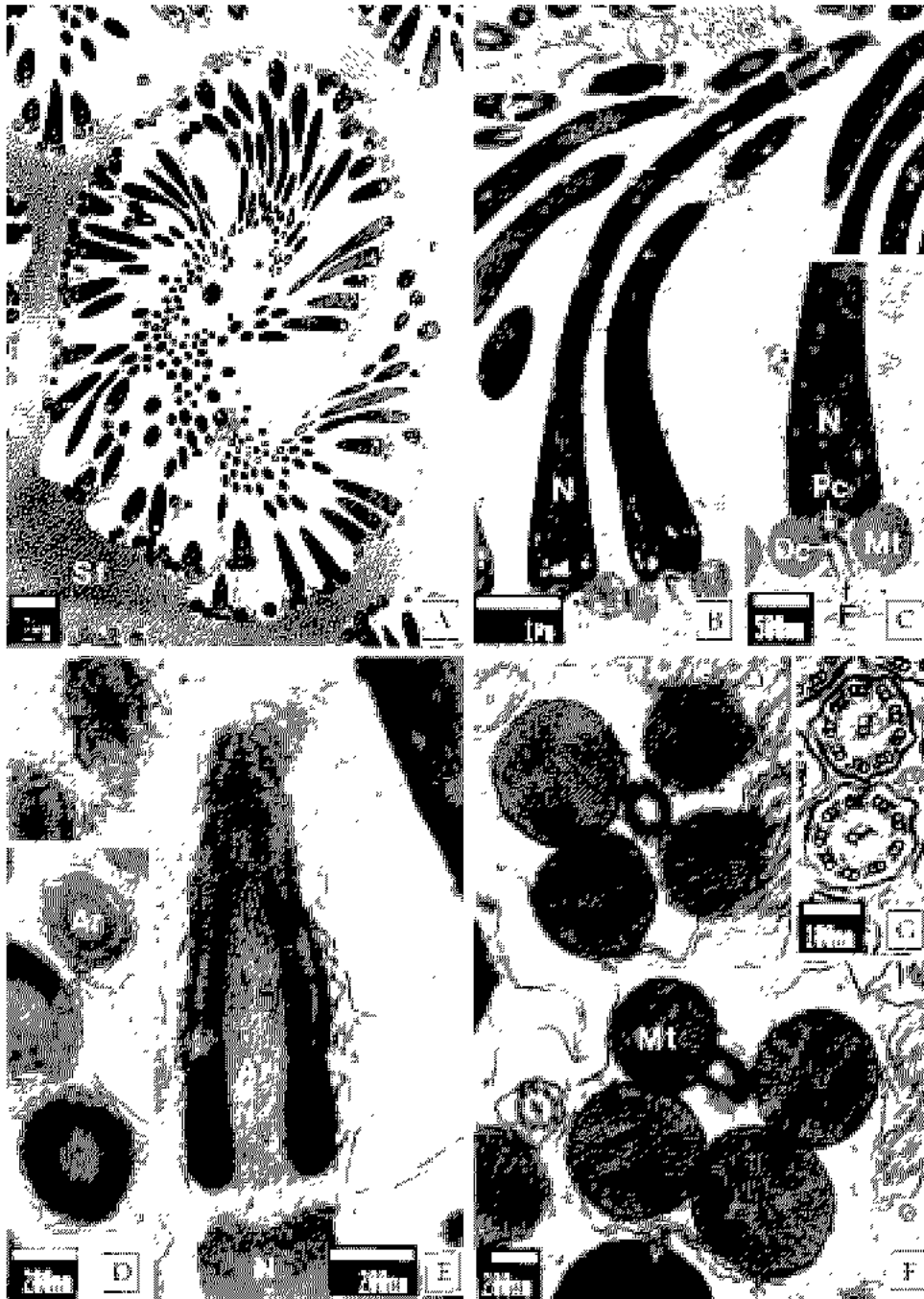


Fig. 3. Electron micrographs on the matured testicular sperm of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. A: Sperm bundles within the spermatogenic follicle. B: Longitudinal section of sperm head showing the long nucleus (N) of homogeneous and acrosome (A). C: Longitudinal section of midpiece. D: Cross section of acrosomes. E: Longitudinal section of acrosome showing the acrosomal rod (Ar). F: Cross section of midpiece showing the four mitochondria (Mt). G: Cross section of flagella showing the "9 + 2" structure. Dc: distal centriole, F: flagellum, Pc: proximal centriole, Sf: sperm flagella.

의 이형염색질들이 고르게 분포하고 있었으며, 연접사복합체(synaptonemal complex)를 관찰할 수 있었다(Fig. 1, C). 정세포는 계속 발달하면서 핵내에는 전자밀도가 높은 이형염색질이 덩어리져 분포하고 있었으며, 세포질에서는 잘 발달된 골기체(Golgi complex)를 관찰할 수 있었다(Fig. 1, D).

3) 정세포기

정세포 분화과정에서는 핵질의 응축, 핵의 변형 그리고 침체 및 편모형성이 관찰되었다. 초기 정세포의 핵질은 전자밀도가 높은 과립상이며, 핵의 상부에서는 침체포(acrosomal vesicle)가 관찰되었는데, 핵과 인접한 부분에는 전자밀도가 높은 침체물질이 존재하고 나머지 부분에는 상대적으로 전자밀도가 낮은 미세한 과립상의 물질들이 분포하고 있었다(Fig. 2, A). 정세포의 분화과정이 진행되면서 세포질은 거의 소실된 상태이나 핵의 하방에서는 중심립들로 구성된 기저체가 관찰되었으며, 이를 중심으로 발달된 미토콘드리아들이 위치하고 있었다(Fig. 2, B). 이 후 핵에서는 과립상의 염색질 분포가 증가되며, 기저체로부터 형성된 편모가 확인되었다(Fig. 2, C). 정세포 분화 말기에 과립상의 염색질은 중합과정을 통해 전자밀도가 높은 섬유상으로 밀집되어 나타나며, 핵은 신장되는데, 이 시기에 핵의 위쪽에서는 미세섬유상의 침체기둥(acrosomal rod)을 가진 완성된 침체를 관찰할 수 있었다(Fig. 2, D).

4) 정자기

정자형성과정이 완료된 정자들은 정자형성 소낭 내에서 다수의 다발형태로 분포하는데(Fig. 1, B), 두부는 중심으로 향하고 미부는 바깥쪽으로 위치하고 있었다(Fig. 3, A). 완성된 정소낭의 정자는 두부, 중편, 미부로 구성되어 있었다. 두부는 핵과 침체로 구성되는데, 두부 길이는 약 8.5 μm 내외이며 이 가운데 핵의 길이는 약 7.4 μm 로 두부 길이의 약 85%를 차지했다(Fig. 3, B). 침체는 총알모양으로 길이는 약 1.1 μm 이며, 가운데 직경은 약 400 nm이었다. 침체에는 다수의 미세섬유로 구성된 침체기둥이 정자의 길이방향으로 위치하고 있었으며, 침체막 내부의 하방에는 전자밀도가 높고 밀집된 침체물질이 위치하고 있었다(Fig. 3, D & E). 정자 중편부의 중단면에서 핵

의 하방에는 편모의 기저체(basal body)가 되는 중심립들이 위치하며, 한 층의 발달된 미토콘드리아들이 이를 둘러싸고 있었으며(Fig. 3, C), 이 부위의 횡단면 표본 관찰결과 4개의 미토콘드리아가 확인되었다(Fig. 3, F). 원숙 정자의 꼬리는 하나이며, 횡단면은 "9+2"의 구조를 나타냈다(Fig. 3, G).

고 찰

본 연구에서 관찰된 대복의 전체적인 정자형성과정은 brown mussel, *Perna perna* (Bernard & Hodgson, 1985), *Lasaea subviridis*와 *Mysella tumida* (Ó Foighil, 1985), *Pecten maximus* (Dorange & Pennec, 1989), hard clam, *Meretrix rusoria* (Chung & Kim, 2000) 등 앞서 보고된 대부분 조개류의 정자형성과정 유사하였다.

조개류의 정자형성과정의 전체적인 기간이나 또는 각 단계별 소요기간은 보고된 바 없으나 제 1 정세포 시기에 연접사복합체(synaptonemal complex)의 관찰이나 침체형성과정에서 골기체 활성 관찰의 용이성 차이로 볼 때 분류군에 따라 다소 다를 것으로 판단된다. 즉 제 1 감수분열의 전기 가운데 태사기(pachytene stage)가 긴 중에서는 연접사복합체의 관찰이 비교적 쉬운 것이며, 침체형성과정이 서서히 진행되는 중에서는 이 과정의 세부적인 특징을 관찰하기 쉬운 것이다.

정자형성과정 가운데 정원세포로부터 원숙정자로 이르는 동안 가장 커다란 형태학적 변화는 세포형태의 변화와 침체 및 편모 형성을 들 수 있다. 세포형태의 변화는 주로 핵질의 응축과 세포질의 소실에 따른 것인데, 핵질 가운데 이형염색질의 응축은 기본적으로 과립상(granular pattern), 섬유상(fibrillar pattern) 및 판상(lamellar pattern) 세 가지로 구분된다(Yasuzumi, 1974).

본 연구에서 관찰된 대복의 경우 초기 정세포의 핵질은 전자밀도가 높은 과립상이며, 이 후 핵에서는 과립상의 염색질 분포가 증가되며, 정세포 분화 말기에 과립상의 염색질은 중합과정을 통해 전자밀도가 높은 섬유상으로 밀집되어 나타나면서 핵은 신장되는 것을 관찰할 수 있었으므로 염색질의 응축은 섬

유상에 해당된다.

정자의 침체는 주로 침체포(acrosomal vesicle)와 침체기둥(perforatorium, acrosomal rod 또는 axial rod)이라고 불리는 subacrosomal substance로 구성되는데, 침체포를 형성하는 proacrosomal granule은 골기체로부터 유래되며(Dohnen, 1983), 이들 골기체의 활성화 및 침체포의 형성 시기는 보통 제2정모세포 또는 초기 정세포 단계이다(Hodgson & Bernard, 1986).

대복 정자의 침체도 침체포와 섬유상의 침체기둥으로 구성되어 있었다. 침체포는 제2 정모세포 시기부터 초기 정세포 사이에 형성되며, 침체기둥은 정세포 후기에 형성되는 것으로 관찰되었는데, 이러한 섬유상의 침체기둥은 *Musculus discors* (Franzén, 1983)와 *Lasaea subviridis* (Ó Foighil, 1985)에서도 발달되어 있다.

동물의 정자는 연구자와 분류 기준에 따라 다소 차이가 있다. Franzén (1956)은 정자를 체외수정형 종들이 가지는 "primitive type"과 체내수정형 종들이 가지는 "modified type"으로 구분하였으며, Jamieson (1991)은 정자를 수정장소에 따라 체외수정형(aquasperm)과 체내수정형(introsperm)으로 구분하였으며, 침체의 유무에 따라 침체형 정자(acrosomal sperm)과 무침체형 정자(anacrosomal sperm)로 구분하였다.

Primitive type 정자들의 형태학적 특징은 두부는 핵과 침체로 구성되는데 침체의 모양은 종에 따라 다양하며, 중편은 4~5개의 미토콘드리아로 구성되며 작은 편이고, 편모는 하나로 길이는 약 50 μm 이며 (Franzén, 1956), 조개류의 정자는 보통 primitive type에 속한다(Popham, 1979).

이러한 기준으로 볼 때, 본 연구 결과 대복의 정자는 체외수정형으로 두부는 핵과 침체로 구성되고, 중편에는 4개의 미토콘드리아를 가지며, 편모는 하나로 전형적인 조개류의 primitive type이었다.

조개류 가운데 백합과(Veneridae)에 속하는 종들의 정자의 미세구조에 관한 연구에서도 민들조개, *Gomphina melanaegis* (Lee et al., 1999; Kim, 2001), 바지락, *Ruditapes philippinarum* (Chung et al., 1998; Kim, 2001), 개조개, *Saxidomus purpuratus* (Chung & Kim, 1999; Kim, 2001), 백합, *Meretrix lusoria* (Chung & Kim, 2000; Kim, 2001) 등의 정자들도 모두 primitive

type으로 보고되어, 본 연구결과와 동일하였다.

정자의 형태, 미세구조 및 크기 등의 특징은 종에 따라 다양하게 보고되고 있으며, 조개류의 계통과 분류군의 분류에도 이용된다(Popham, 1979).

백합과 조개류에서 정자 두부의 길이는 민들조개는 3.5 μm (Lee et al., 1999), 바지락은 6.23 μm (Kim, 2001), 개조개는 4.59 μm (Kim, 2001), 백합은 2.5 μm (Chung & Kim, 2000), 가무락, *Cyclina sinensis*은 3.42 μm (Kim, 2001)로 보고되었으나 본 연구 결과 대복 정자의 두부 길이는 약 8.5 μm 로 가장 긴 것으로 나타났다.

정자의 침체 발달정도는 같은 종의 난모세포 막 구조와 연관되는데, *Mytilus* 정자들의 큰 침체는 이들 종의 난모세포의 두꺼운 젤리층을 투과하는 것과 연관성이 있다(Popham, 1979).

홍합과(Mytilidae) 조개류 가운데 *Choromytilus meridionalis*의 정자 두부의 길이는 약 3.6 μm 이며 침체의 길이는 2 μm , *Mytilus galloprovincialis*의 정자 두부의 길이는 6.4 μm 이며, 침체의 길이는 5 μm , *Aulacomya ater*의 정자 두부의 길이는 3.7 μm 이며, 침체의 길이는 약 4 μm 로 두부의 길이에 대한 침체의 길이는 매우 길다(Hodgson & Bernard, 1986).

침체의 길이는 백합과 조개류에서 짧은 것은 개조개의 경우 0.39 μm , 긴 것은 바지락의 경우 2.36 μm 였으나, 보통 0.5 μm 내외였는데 (Kim, 2001), 대복에서는 약 1.1 μm 로 상대적으로 긴 편이었다. 하지만 백합과 조개류의 경우에 전체적인 두부의 길이에 대한 침체의 길이는 비교적 짧은 편이다.

하지만 백합과 패류에서 정자 두부 및 침체의 길이와 난모세포 막 구조의 연관성에 대해서는 보고된 바 없으므로 이들의 연관성에 대해서는 추후 연구되어야 할 과제로 판단된다.

참 고 문 헌

- Bernard RTF, Hodgson AN: The fine structure of the sperm and spermatid differentiation in the brown mussel *Perna perna*. S Afr J Zool 20:5 9, 1985.
- Chung EY, Kim YM, Lee SG: Ultrastructure study of germ cell development and reproductive cycle of the purplish

- Washington clam *Saxidomus purpuratus*. The Yellow Sea 5:51-58, 1999.
- Chung EY, Kim YM: Ultrastructure study of germ cell development and sexual maturation of the hard clam, *Meretrix rusoria* (Bivalvia: veneridae), on the west coast of Korea. J Med & Appl Malacol 10: 181-202, 2000.
- Chung EY, Park GM, Kim BS: Ultrastructure of germ cell development and sexual maturation of the shortnecked clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), on the west coast of Korea. The Yellow Sea 4: 17-29, 1998.
- Dohnen MR: 1. Gametogenesis. In: Verdonk NH, Van Den Biggelaar JAM, Tompa AS, eds, The Mollusca, Vol. 3. Development, 1-48, Academic Press, New York, 1983.
- Dorange G, Pennec M Le: Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca: Bivalvia). Invert Reprod Dev 15: 109-117, 1989.
- Franzén Å: On spermiogenesis, morphology of the spermatozoon, and biology of fertilization among invertebrates. Zool Bidr Uppsala 31:355-482, 1956.
- Franzén Å: Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. Gamete Res 7: 199-214, 1983.
- Hodgson AN, Bernard RTF: Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of mytilidae (Mollusca: Bivalvia). Gamete Res 15: 123-135, 1986.
- Jamieson BGM: Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. Cambridge University Press, New York, p. 319, 1991.
- Kim JH: Spermatogenesis and comparative ultrastructure of spermatozoa in several species of Korean economic bivalves (13 Families, 34 Species). Thesis Ph D Pukyong Nat'l Univ. p. 161, 2001.
- Lee JY, Park YJ, Chang YJ: Gonadal development and reproductive cycle of *Gomphina melanaegis* (Bivalvia: Veneridae). J Korean Fish Soc 32(2): 198-203, 1999.
- Morse MP, Zardus JD: Bivalvia. In: Harrison FW, Kohn AJ, eds, Microscopic anatomy of invertebrates. Vol 6A, pp. 7-118, Wiley-Liss Inc, New York, 1997.
- Popham JD: Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny. Malacol Rev 12: 1-20, 1979.
- Yasuzumi G: Electron microscope studies on spermatogenesis in various animal species. Int Rev Cytol 37: 53-119, 1974.
- Ó Foighil D: Fine structure of *Lasaea subviridis* and *Mysella tumida* sperm (Bivalvia: Galeommatacea). Zoomorphology 105: 125-132, 1985.

< 국문초록 >

우리나라 동해안에 가장 많이 서식하는 조개류인 대북의 정소구조와 정자형성과정을 광학현미경과 투과전자현미경으로 조사한 결과는 다음과 같다. 대북의 정소는 소성결합조직으로 구성된 다수의 정자형성 소낭을 가진다. 동일한 정자형성 소낭 내에서는 여러 단계의 생식세포들이 관찰되었다. 정원세포들은 정자형성 소낭벽에 부착되어 있으며, 커다란 핵과 뚜렷한 인을 가진다. 정모세포에서는 연접사복합체와 골기체의 발달을 확인할 수 있었다. 정세포의 핵은 전자밀도가 높은 과립상의 염색질로 구성되며, 정자변태과정 동안에 핵의 응축 및 침체와 편모의 형성을 관찰할 수 있었다. 정소 내에서 완숙 정자들은 다발을 형성하고 있으며, 두부, 중편, 미부로 구성되어 있었다. 두부의 길이는 약 8.5 μm 로, 침체부와 핵 부위로 구분된다. 침체는 길이 약 1.1 μm 의 총알 형태였다. 두부와 침체 사이에서는 미세섬유로 구성된 침체기둥이 확인되었다. 중편에는 4개의 미토콘드리아를 가지며, 꼬리의 횡단면은 "9+2"의 구조를 나타냈다.