

## 2배체 기수산 일본재첩 *Corbicula japonica*와 3배체 담수산 재첩 *C. fluminea*의 핵형분석 및 번식 특성

최기호, 정의영<sup>1</sup>, 박오열<sup>2</sup>

군산대학교 대학원 수산과학과, <sup>1</sup>군산대학교 해양생명과학부, <sup>2</sup>건설교통부 정책조정팀

### Karyotype and Reproductive Characteristics of the Diploid Brackish Water Clam, *Corbicula japonica* and the Triploid Freshwater Marsh Clam, *C. fluminea*

Ki-Ho Choi, Ee-Yung Chung<sup>1</sup> and Oh-Yeol Kwak<sup>2</sup>

Department of Fisheries Science, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

<sup>1</sup>School of Marine Life Science, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea

<sup>2</sup>Policy Coordination Team, Ministry of Construction and Transportation, Gwacheon 427-712, Korea

#### ABSTRACT

We investigated to understand the differences in the karyotypes and the reproductive characteristics between the diploid clam, *Corbicula japonica* in the brackish water and the triploid clam, *C. fluminea* in the freshwater. The number of chromosomes of the diploid *C. japonica* were 38, which can be grouped into 19 pairs of two homologues. These can be divided into 11 pairs of telocentric, 4 pairs of subtelocentric, 3 pairs of submetacentric and one pair of metacentric chromosomes. *C. japonica* is oviparous and dioecious. The clam has two pairs of gills, with the inner and outer-demibranchs, however, they do not act mainly as marsupia. External fertilization occurs in the brackish water. The triploid marsh clam, *C. fluminea* has 54 chromosomes, which can be grouped into 18 sets of three homologues. These 18 sets can be divided into one metacentric group, five submetacentric groups and 12 subtelo- or telocentric groups. *C. fluminea* is ovoviviparous and functional hermaphrodite. The triploid condition may be closely related to hermaphroditism. This species has the inner-demibranchs acting mainly as marsupia. The

depletion of ripe eggs occurred in the inner-demibranchs of the gill during the incubatory periods, and ripe eggs produced in the hermaphroditic follicles in the gonad during the non-incubatory periods. The gonad developmental stages of two marsh clams (*C. japonica* and *C. fluminea*) can be divided into five stages: early active stage, late active stage, ripe stage, partially spawned stages, and spent/inactive stage.

**Keywords:** *Corbicula japonica*, *Corbicula fluminea*, Karyotypes, Diploid, Triploid, Reproductive Characteristics.

#### 서론

재첩류 (*Corbicula* spp.)는 한국, 일본, 중국, 미국 등지에 분포하고 강과 호수의 담수역과 강 하구의 기수역의 사질에 서식한다 (Kwon *et al.*, 1993). 재첩류는 연체동물 문 (Mollusca), 이매패강 (Bivalvia), 이치아강 (Heterodonta), 백합목 (Veneroidea) 재첩과 (Corbiculidae)에 속하는 종으로 현재까지 우리나라에서는 1속 6종이 보고되어 있다 (Yoo, 1972; Kwon *et al.*, 1993).

지금까지 재첩속 (*Corbicula*)에 관하여 국외 및 국내에서 연구 보고된 것으로는 분류 (Hatsumi *et al.*, 1995; Lee and Kim, 1997; Park and Kim, 2003), 생태 (Araujo *et al.*, 1993; Jo *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2002), 생식과 발생 (Maru, 1981; Kraemer and Galloway, 1986; Komaru

Received May 1, 2007; Accepted June 8, 2007  
Corresponding author: Chung, Ee-Yung  
Tel: +82 (63) 469-4592 e-mail: eychung@kunsan.ac.kr  
1225-3480/23106  
© The Malacological Society of Korea

and Konishi, 1996; Komaru *et al.*, 1997; Byrne *et al.*, 2000; Byun and Chung, 2001; Kim *et al.*, 2003), 유전 (Park *et al.*, 2000; Park and Chung, 2003) 등이 보고되어 있다.

최근 기수역에 서식하는 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 에 관하여, 일본산 일본재첩을 대상으로 핵형을 분석한 결과 2배체 (diploid) 로 밝혀졌고 (Okamoto and Arimoto, 1986), 한국산 일본재첩은 난소와 정소가 뚜렷하게 구분된 자웅이체로 보고되어 있다 (Byun and Chung, 2001). 그러나 담수에 서식하는 재첩 (*C. fluminea*) 에 관하여는 일본산 재첩을 대상으로 핵형분석을 조사한 결과, 3배체로 밝혀졌고 (Okamoto and Arimoto, 1986), 담수산 재첩류인 참재첩 (*C. leana*) 은 3배체이고, 정자 편모의 수가 2 개로 보고되어 있다 (Komaru and Konishi, 1996). 그러나 이들 보고는 주로 일본산을 대상으로 조사된 것이다. 한국산 재첩 (*C. fluminea*) 에 관한 보고는 일부 특정지역에 국한되어 있어 (Park *et al.*, 2000; Park and Chung, 2003), 좀 더 많은 지역을 조사하지 못한 관계로 아직도 모호한 점이 많아 이들에 대한 상세한 연구가 요망된다. 따라서 본 연구의 목적은 한국에 서식하는 재첩류 중 일본재첩 (*C. japonica*) 과 재첩 (*C. fluminea*) 의 핵형을 분석하여 이들 종의 배수체를 규명하고, 배수체가 다르게 나오는 경우, 이들의 핵형별 생식유형 (reproductive mode) 을 조직학적 관찰에 의해 조사하여 종별 생식특성의 차이점을 비교하고자 조사하였다. 특히, 생식유형 조사를 위해서 종의 자웅성 (sexuality) 을 조직학적으로 조사하였고, 난생종과 난태생 종의 생식고유의 특성을 상세히 규명하기 위해, 우선 난과 정자의 수정이 아가미의 보육낭 속에서 일어나는 체내수정을 하는 종인지 또는 기수 (brackish water) 에서 수정이 일어나는 체외수정을 하는 종인지 조직학적 관찰에 의해 명확히 조사하여 생식유형의 차이점을 밝히고자 조사하였던바, 몇 가지 새로운 사실을 발견하였기에 보고한다.

**재료 및 방법**

본 실험에 사용한 실험 재료인 기수산인 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 은 강원도 고성 송지호 일대 (Fig. 1) 에서 2004년 1월부터 2004년 12월까지 매월 채집하였고, 담수산인 재첩 (*C. fluminea*) 은 2003년 1월부터 12월까지 강원도 춘천시 의암저수지 (Fig. 2) 에서 매월 채집하여, 이들 두 종을 대상으로 핵형분석을 조사하였다. 그리고 2배체와 3배체의 생식소 발달단계의 특징을 확인하기 위해 생식소 발달 및 아가미 구조를 조직학적 방법으로 조사하였다.

**1. 핵형분석**

세포유전학적 연구를 위해 강원도 고성 기수역 송지호에서

채집한 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 과 강원도 춘천시 의암 저수지에서 채집한 재첩 (*C. fluminea*) 을 사육수조에 넣고 기포발생기를 이용하여 사육하였다. 핵형분석 연구는 살아있는 표본 재료에 0.025% colchicine을 생식소 부위에 주사한 후, 다시 수조에 넣어 16-24 hr 동안 방치시킨 다음, 즉시 재첩의 생식소 (gonad) 를 1 g 정도 적출하여 0.075 M KCl 또는 0.01% NaCl 10 ml가 들어있는 petri dish에 집어넣었다. 이후, cell을 5 분 이내에 분리하고 20 분간 방치시킨 다음, Carnoy solution (methanol 3: glacial acetic acid 1) 으로 즉시 고정시켜 얼음에 보관한 후, 원심분리기에 의해 1500 rpm으로 10 분간 원심분리하여 상등액을 제거한 후,

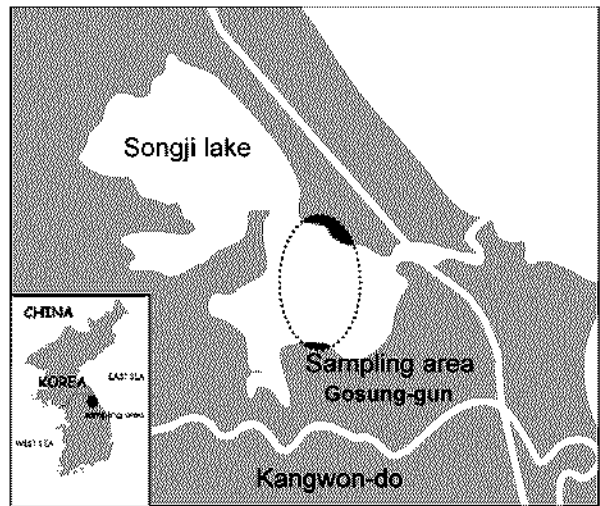


Fig. 1. Map showing the sampling area of *Corbicula japonica*.

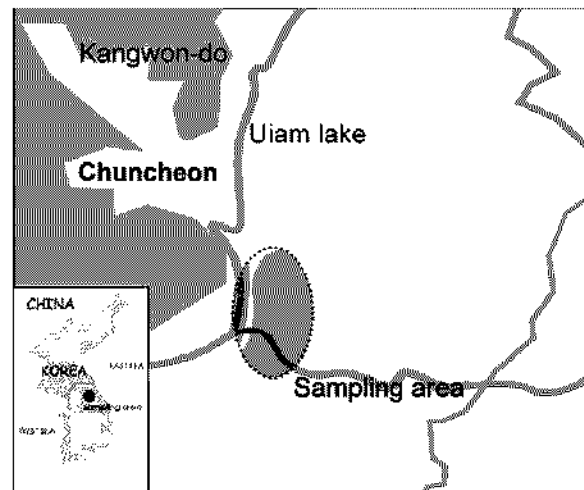


Fig. 2. Map showing the sampling area of *Corbicula fluminea*.

Carnoy solution 고정액에 넣고 잘 섞어 얼음에 다시 15 분 방치 한 후, 한 번 더 원심분리기 (1500 rpm) 로 10 분 동안 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 이 방법을 1 회 더 실시 한 후, 상등액을 제거하고 스포이드로 슬라이드 글라스에 한 방울씩 떨어뜨린 다음 air dry한 후 Giemsa 염색을 하였다. 염색체 관찰은 현미경으로 1000 배에서 유사분열 단계 및 감수분열시 염색체의 형태적 변화와 중기 분열상을 관찰하였으며, 사진은 oil immersion을 사용 1000에서 green filter를 이용, ASA/32 film으로 촬영하였다.

염색체는 배수체 및 이배체의 중기단계시 수를 파악한 후 핵형분석을 위해 사진으로부터 염색체를 오려내어 염색체의 크기와 centromeric index는

$$\frac{\text{length of short arm}}{\text{chromosome relative length}} \times 100 \text{으로 계산하였다.}$$

염색체 형태는 동원체의 위치를 중심으로 centromeric index range가 46-49이면 metacentric, 23-35이면 submetacentric (less metacentric) 으로 분류하였다 (Paris conference, 1971). 또 염색체의 전체길이와 단완의 길이를 자로 재어 염색체의 상대적 길이를 계산하였다. 한편 본 종의

생식소 부위를 측정하기 위하여 내장낭을 절취하여 10% 중성 formalin으로 고정하였으며, alcohol 과정을 통해 탈수시키고 4 μm 두께로 절편을 만들어 Hansen's haematoxylin과 0.5% Eosin에 이중 염색한 후 Canada balsam으로 봉하였다 (Park and Chung, 2000).

**2. 생식소 발달단계 및 아가미 조직 구조의 조직학적 연구**

생식소 발달단계와 아가미 조직구조의 변화를 조직학적 방법에 의해 조사하기 위해 매일 30-40 개체씩 채집하여 개체의 내장낭 (생식소, 소화맹낭, 중장선) 부위와 아가미 부위를 절취하여 Bouin 용액에 24 시간 고정한 후 24 시간동안 수세하여 생식소 부위를 paraffin 절편법으로 5-7 μm로 연속절편을 만들어 Hansen's haematoxylin과 0.5% Eosin에 비교 염색 하였다. 제작된 생식소 조직표본을 현미경하에서 검경하여 월별로 개체들의 생식소 발달 단계와 아가미 구조의 변화를 조사 하였다.

**결 과**

**Table 1.** Relative lengths and total lengths (micrometers) of chromosomes of *Corbicula japonica*.

| Chromosome No. | RL ± SE     | TL ± SE     | Type |
|----------------|-------------|-------------|------|
| 1              | 8.55 ± 0.74 | 4.92 ± 0.34 | T    |
| 2              | 7.14 ± 0.65 | 4.10 ± 0.32 | T    |
| 3              | 6.41 ± 0.36 | 3.70 ± 0.25 | T    |
| 4              | 6.41 ± 0.36 | 3.70 ± 0.25 | T    |
| 5              | 6.27 ± 0.58 | 3.61 ± 0.24 | T    |
| 6              | 6.06 ± 0.55 | 3.49 ± 0.22 | ST   |
| 7              | 5.84 ± 0.58 | 3.36 ± 0.20 | SM   |
| 8              | 5.77 ± 0.62 | 3.32 ± 0.20 | ST   |
| 9              | 5.70 ± 0.60 | 3.28 ± 0.28 | SM   |
| 10             | 5.56 ± 0.59 | 3.20 ± 0.18 | T    |
| 11             | 4.99 ± 0.54 | 2.87 ± 0.16 | T    |
| 12             | 4.99 ± 0.54 | 2.87 ± 0.14 | T    |
| 13             | 4.85 ± 0.46 | 2.79 ± 0.14 | T    |
| 14             | 4.85 ± 0.46 | 2.79 ± 0.13 | M    |
| 15             | 4.70 ± 0.43 | 2.71 ± 0.13 | ST   |
| 16             | 4.56 ± 0.41 | 2.62 ± 0.12 | T    |
| 17             | 4.42 ± 0.40 | 2.54 ± 0.11 | SM   |
| 18             | 4.28 ± 0.43 | 2.46 ± 0.10 | ST   |
| 19             | 3.35 ± 0.37 | 1.92 ± 0.09 | T    |

RL: Relative length; TL: Total length; T: Telocentric; ST: Submetacentric; M: metacentric.

**1. 핵형분석**

본 실험 재료로 채집된 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 과 재첩 (*C. fluminea*) 은 외부 형태에 의해 Kwon *et al.* (1993) 의 원색한국패류도감을 참고로 분류·동정하였고, 염색체의 핵형분석을 위해 광학현미경하에서 1000 배로 관찰한 결과는 다음과 같다.

**1) 일본재첩 (*Corbicula japonica*)**

25 개 세포에서 세포당 38 개의 염색체가 관찰되었다. 일본재첩의 핵형은 2배체 (2n) 로 상동염색체 2 개가 19 set를 구성하였다 (Fig. 3). 염색체는 11 set의 telocentric과 3 set의 subtelocentric 그리고 3 set의 submetacentric으로 구성되어 있으며 1 set의 metacentric chromosome으로 구성되어 있다. 6 개 세포를 측정된 결과, 총 염색체 길이는  $60.25 \pm 0.68 \mu\text{m}$ 이었다 (Table 1).

**2) 재첩 (*Corbicula fluminea*)**

28개의 세포에서 세포당 54 개의 염색체가 관찰되었다. 본 종의 핵형은 3배체 (3n) 로 상동염색체 3 개가 18 set를 구성하였다 (Fig. 4). 이들 염색체는 18 set는 1개의 metacentric group과 5 개의 submetacentric group 그리고 12 개의

subtelo or telocentric group으로 나누어져 있다. 6 개 세포의 염색체를 측정된 결과, 염색체의 평균 총 길이는  $44.3 \pm 2.80 \mu\text{m}$  (Table 2) 이었다. 그러나 본 종에서 감수분열된 염색체는 관찰되지 않았다.

**2. 생식소 발달단계의 조직학적 조사**

기수산인 일본재첩과 담수산인 재첩의 생식소 발달단계는 생식세포의 형태 및 분화에 따라 편의상 초기활성기, 후기활성기, 완숙기, 부분산란기, 퇴화 및 비활성기의 5 단계로 나누어 조사하였다. 이들 2종 모두 생식세포 형성은 소화망낭과 외측 섬유근층 사이에 있는 난소소낭과 정소소낭 또는 자웅동체소낭 내에서 일어났다.

**1) 일본재첩**

본 종은 자웅이체이며, 생식소는 수많은 난소소낭 또는 정소소낭으로 구성되어 있다.

**초기활성기 (early active stage):**

암컷의 경우, 난소는 수많은 난소소낭들로 이루어져 있다. 비교적 두터운 생식상피상에서는 크기가  $10 \mu\text{m}$  정도인 난원 세포들이 호산성 과립세포들과 불분화간충직 (undifferentiated mesenchymal tissue) 사이에서 분열 증식이 일어나

**Table 2.** Relative lengths and total lengths (micrometers) of chromosomes of *Corbicula fluminea*.

| Chromosome | RL $\pm$ SE     | TL $\pm$ SE    | Type |
|------------|-----------------|----------------|------|
| 1          | 8.55 $\pm$ 1.03 | 3.7 $\pm$ 0.38 | M    |
| 2          | 6.11 $\pm$ 0.82 | 2.6 $\pm$ 0.20 | SM   |
| 3          | 5.51 $\pm$ 0.71 | 2.5 $\pm$ 0.17 | SM   |
| 4          | 5.51 $\pm$ 0.70 | 2.5 $\pm$ 0.17 | SM   |
| 5          | 5.51 $\pm$ 0.65 | 2.5 $\pm$ 0.17 | SM   |
| 6          | 5.41 $\pm$ 0.67 | 2.5 $\pm$ 0.18 | SM   |
| 7          | 5.54 $\pm$ 0.41 | 2.4 $\pm$ 0.18 | ST   |
| 8          | 5.54 $\pm$ 0.40 | 2.4 $\pm$ 0.19 | ST   |
| 9          | 5.54 $\pm$ 0.38 | 2.4 $\pm$ 0.19 | ST   |
| 10         | 5.54 $\pm$ 0.48 | 2.4 $\pm$ 0.18 | ST   |
| 11         | 5.43 $\pm$ 0.80 | 2.3 $\pm$ 0.17 | ST   |
| 12         | 5.43 $\pm$ 0.70 | 2.3 $\pm$ 0.17 | ST   |
| 13         | 5.22 $\pm$ 0.69 | 2.3 $\pm$ 0.15 | ST   |
| 14         | 5.22 $\pm$ 0.68 | 2.3 $\pm$ 0.14 | ST   |
| 15         | 4.95 $\pm$ 0.41 | 2.1 $\pm$ 0.12 | ST   |
| 16         | 4.95 $\pm$ 0.41 | 2.1 $\pm$ 0.08 | ST   |
| 17         | 4.95 $\pm$ 0.38 | 2.1 $\pm$ 0.09 | ST   |
| 18         | 4.95 $\pm$ 0.36 | 2.1 $\pm$ 0.09 | ST   |

RL: Relative length; TL: Total length; T: Telocentric; ST: Submetacentric; M: metacentric.

고 있고, 전난황형성단계 난모세포들이 출현하였다. 이들 난모세포의 난경은 20  $\mu\text{m}$  전, 후로 뚜렷한 핵을 가지며 핵 내에는 뚜렷한 한 개의 인을 가졌다. 이 시기에 난소소낭 내 내강은 텅 비어 있었다 (Fig. 5A).

수컷의 경우, 정소는 여러 개의 정소세관들로 이루어져 있으며, 세관의 상피상에는 약 8-9  $\mu\text{m}$ 인 정원세포들이 불분화간충직들과 호산성과립세포들 사이에서 분열증식이 활발히 일어나고 있고, 또한 크기가 7-8  $\mu\text{m}$ 인 정모세포들이 나타나 중층배열을 나타내었다. 이 시기에는 정소세관의 내강이 텅 비어 나타났었다 (Fig. 6A). 초기활성기의 생식소를 갖는 일본재첩의 암, 수 개체들은 모두 2-4월 사이에 나타났었다.

**후기활성기 (late active stage):**

암컷의 경우, 난소소낭 내에서 발달 중인 난황형성단계 난모세포들은 서양배 모양을 하고 있는데 난병 (egg-stalk) 을 소낭 상피상에 부착하여 내강의 중앙부를 향해 발달하였다. 그러나 난모세포들의 난경이 대략 50-60  $\mu\text{m}$ 가 되면 모양이 다각형 또는 타원형으로 발달하여 난소소낭의 약 70-80%를 채웠다. 이 때 발달 중인 난모세포들은 배포상의 핵을 가지며, 핵 내에는 한 개의 뚜렷한 인이 나타났었다 (Fig. 5B).

수컷의 경우, 정소세관이 좀 더 발달하면 세관 내에는 소수의 정원세포들과 정모세포들, 정세포들이 중앙 내강을 향해 중

상 배열을 하였고 세관의 중앙에는 일부 변태중인 정자들이 환상 정자속 (sperm ball) 을 형성하였다 (Fig. 6B). 후기활성기의 생식소를 갖는 암, 수 개체들은 모두 4-7월 사이에 나타났었다.

**완숙기 (ripe stage):**

암컷의 경우, 난소소낭 내강 중앙부에는 크기가 70-90  $\mu\text{m}$ 인 완숙 난모세포가 70% 이상 차지하였다. 난소소낭들은 그 수가 증가하여 족부의 망상 결체조직층까지 차지하게 되는데 타원형 내지 원형인 완숙난모 세포들은 커다란 배포상의 핵을 가지며, 핵 내에 1-3 개의 인이 뚜렷하게 나타났었다. 그리고 난황막 주변은 젤라틴성 물질에 의해 둘러 싸였다. 이 시기에 난소소낭 상피는 아주 얇아지고 호산성 과립세포들과 불분화간충직들의 수도 극감된다 (Fig. 5C, D).

수컷의 경우, 완숙 정소의 세관상피 두께는 아주 얇아지며, 정모세포들과 정세포들이 중상 배열을 하고 있고 세관의 내강 중앙에는 변태된 정자들이 밀집되어 정자의 미부가 생식상피 쪽을 향한채 다수의 가락지 모양의 환상 정자속 (sperm ball) 을 형성하여 내강을 가득 채웠다. 이 시기에 호산성 과립세포들과 불분화 간충직들은 찾아보기 어렵게 된다 (Fig. 6C). 완숙기의 난소 및 정소를 갖는 암, 수 개체들은 모두 6-8월 사이에 출현하였다.

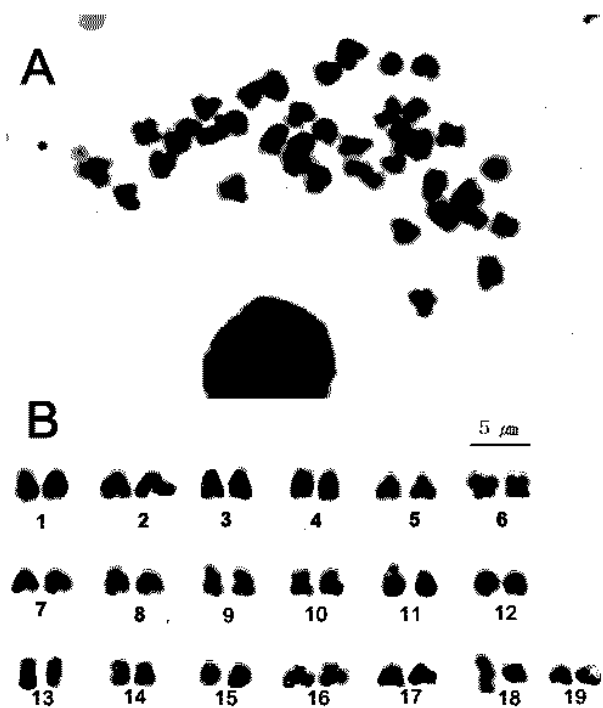


Fig. 3. A, Metaphase chromosome of *Corbicula japonica*; B, Karyotype constructed from A.

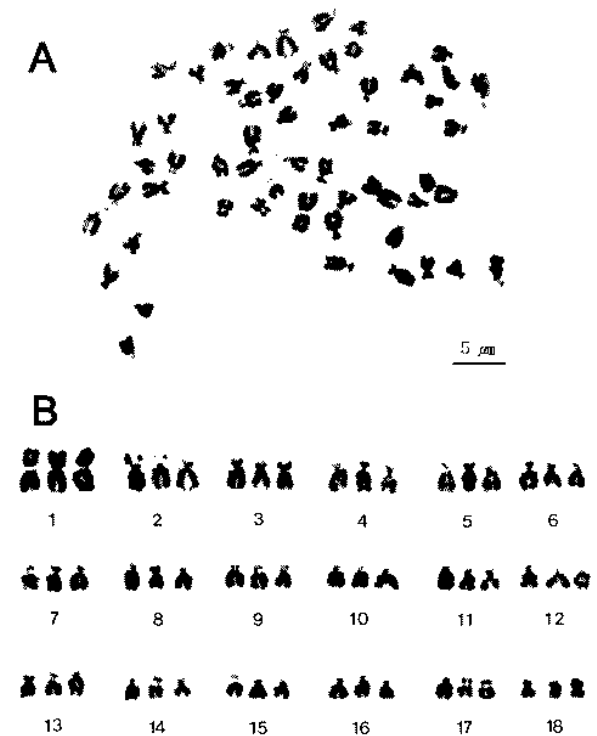


Fig. 4. A, Metaphase chromosome of *Corbicula fluminea*; B, Karyotype constructed from A.

**부분산란기 (partially spawned stage):**

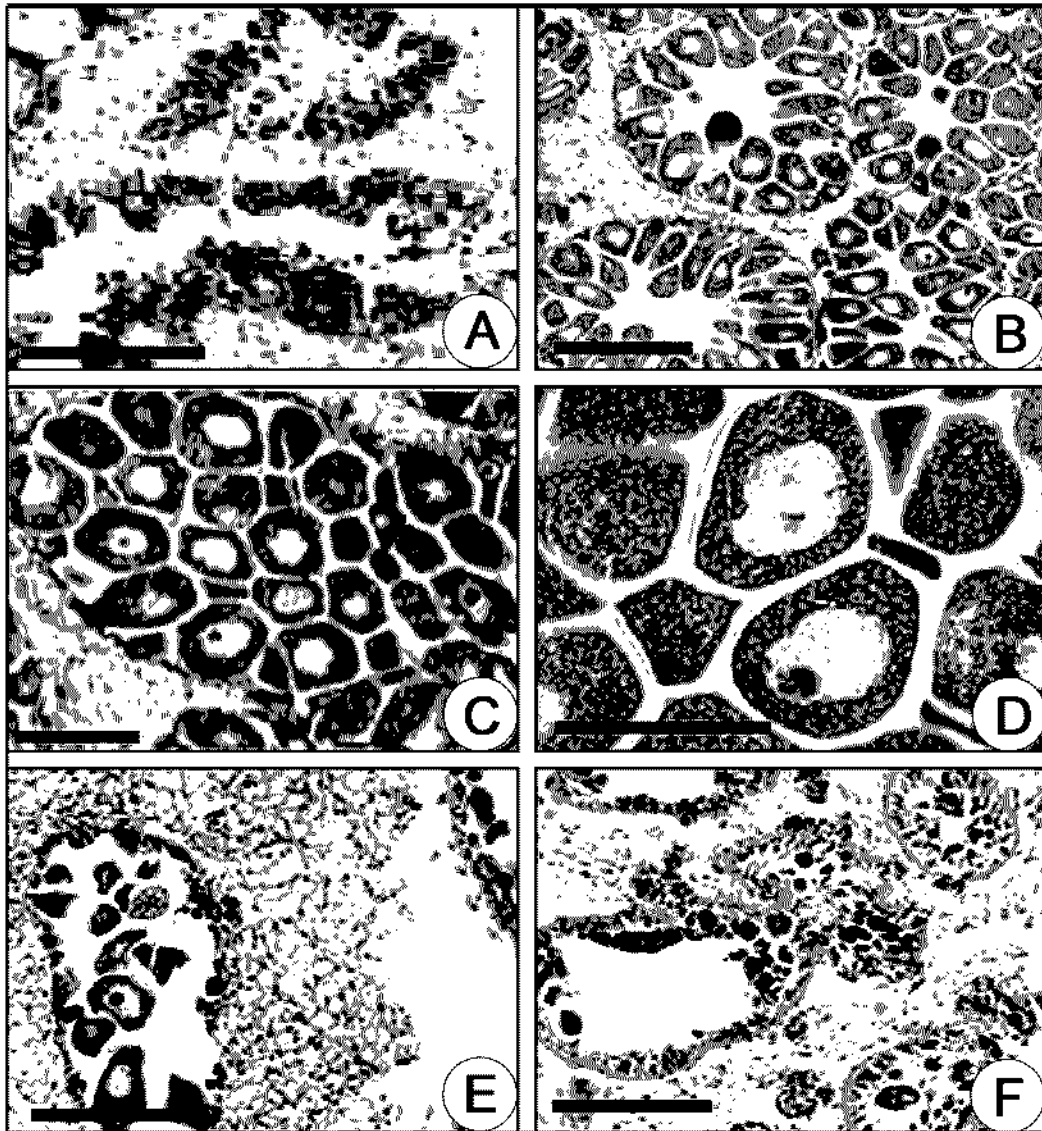
암컷의 경우, 난소소낭의 내강 중앙부에 자리 잡고 있던 완속란들은 방란 되어 소낭의 중앙부는 텅 비게 되나, 미방출된 난모세포들이 소수 잔존하여 나타났으며, 이 시기에는 소낭벽이 부분적으로 파괴되었다 (Fig. 5E).

수컷의 경우, 정소세관 내강의 중앙부를 가득 채웠던 환상정자속들이 방정되어 내강은 텅 비게 되나 일부 미방출된 정자들이 정세포들과 함께 잔존하였다 (Fig. 6D). 암, 수 개체들

의 방란과 방정은 모두 7-9월 사이에 일어났고, 주 산란은 수온이 25.0°C 전, 후인 8월 이었다.

**퇴화 및 비활성기 (spent/inactive stage):**

암컷의 경우, 방란을 마친 후 퇴화·붕괴 중인 난소소낭 내에는 잔존 난모세포들이 세포질 붕괴를 일으켜 퇴화·흡수되었다. 그 후 소실되었던 망상결체조직들이 빈 공간을 다시 채우고 세포 분화가 시작되어 새로이 형성된 난소소낭 상피상에 난원세포들이 일부 출현하여 장기간 잔존하였다 (Fig. 5F). 수컷의



**Fig. 5.** Photomicrographs of oogenesis of the female *Corbicula japonica*. **A**, section of follicles containing oogonia in the oogonial phase and oocytes in the previtellogenic phase; **B**, section of follicles containing oocytes in the early and late vitellogenic phases; **C**, section of follicles containing mature oocytes in the mature phase; **D**, magnified ripe oocytes; **E**, section of follicles containing undischarged oocytes in the follicles; **F**, section of follicles containing degenerating oocytes and a few oogonia. Scale bars = 100  $\mu$ m.

경우, 방정 후 퇴화·붕괴 중인 정소세관 내에는 일부 잔존하는 정모세포들, 정세포들 그리고 퇴화·흡수 중인 정자들이 출현하였다. 그 후 망상결체조직들이 빈 공간을 채우고 새로이 생긴 소수의 생식세포들의 분화가 일어나 정소세관의 생식상피에는 일부 소수의 정원세포가 출현하여 장기간 잔존하였다 (Fig. 6E, F). 퇴화 및 비활성기의 암, 수 개체들은 9월부터 3월에 걸쳐 장기간에 걸쳐 출현하였다.

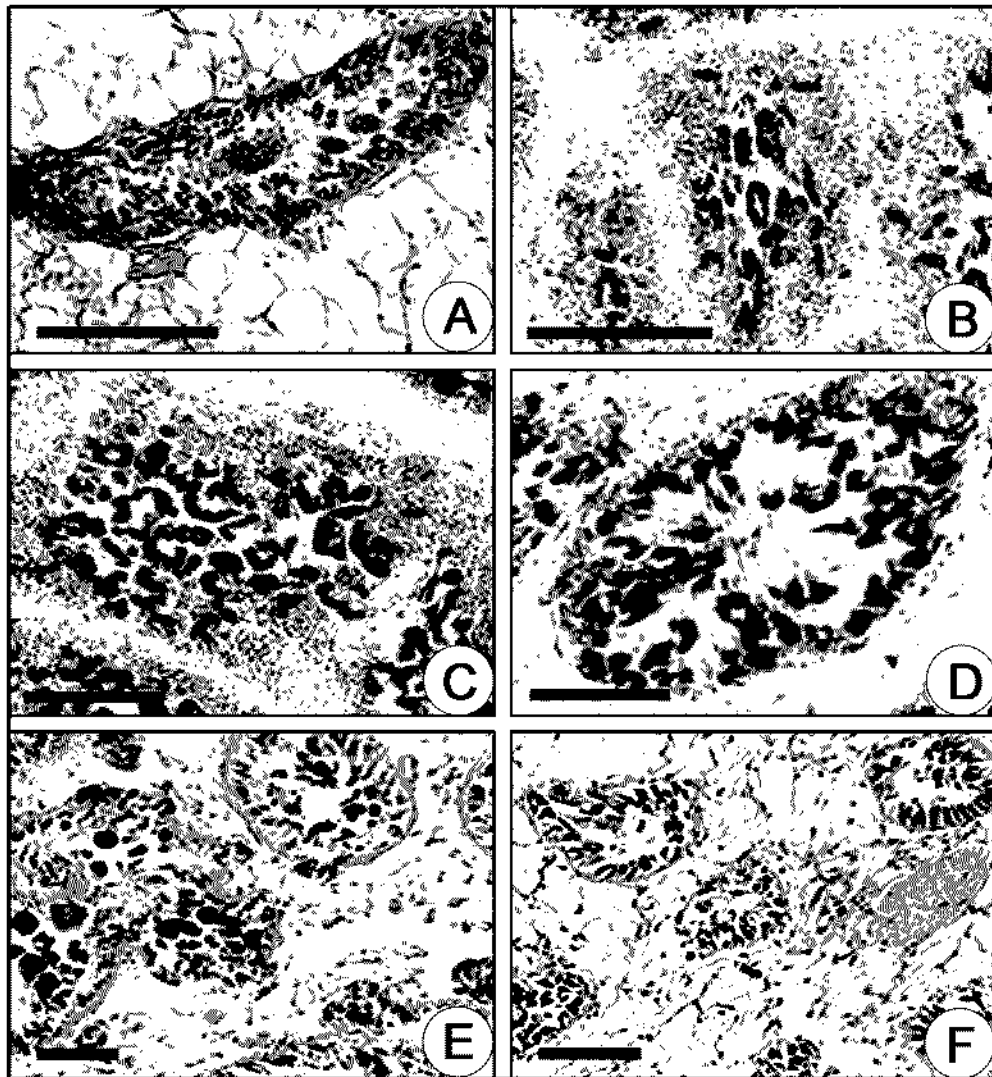
**2) 재첩**

본 종은 자웅동체이며, 생식소는 수많은 난소소낭, 정소소낭

및 자웅동체 소낭으로 구성되어 있다. 자웅동체의 특징을 나타내고 생식세포들의 발달이 매우 불규칙하게 출현하는 관제로 생식소 발달단계는 뚜렷하지는 않으나 다음과 같은 특징을 나타내었다.

**초기활성기 (early active stage):**

난소소낭 (follicle) 내에는 난원세포들과 생식상피에 난병을 부착하고 성장 하는 초기 발달 중인 난모세포들이 출현하였다. 난소와 함께 출현하는 정소는 여러 개의 정소소낭 (acini)들로 이루어져 있고, 소낭 내에는 생식상피에 출현하는 정원세포들과 정모세포들이 출현하는 특징을 보였다 (Fig. 7A).



**Fig. 6.** Photomicrographs of spermatogenesis in *Corbicula japonica*. **A**, spermatogonia and spermatocytes in the spermatogenic follicle; **B**, spermatids and a few spermatozoa during spermiogenesis; **C**, a number of spermatozoa and spermatids in the spermatogenic follicles; **D**, undischarged spermatozoa in the follicles; **E**, degenerated spermatozoa; **F**, a few newly formed spermatogonia in the follicles. Scale bars = 50  $\mu$ m.

**후기활성기 (late active stage):**

난소소낭 내에는 난병을 갖는 난모세포들이 중앙 내강을 향해 발달하였다. 난소소낭에 인접하고 있는 정소소낭 내에는 다수의 정모세포들과 정세포들 그리고 일부 변태중인 소수의 정자들이 출현하는 특징을 보였다 (Fig. 7B).

**완숙기 (ripe stage):**

난소소낭 내에는 성숙란이 내강을 채우고, 인접하고 있는 정소소낭 내에는 성숙한 정자들이 내강 내에서 출현하였다 (Fig. 7C).

**부분산란기 (partially spawned stage):**

난소소낭 내강에서 출현하였던 성숙한 난모세포들이 산란하

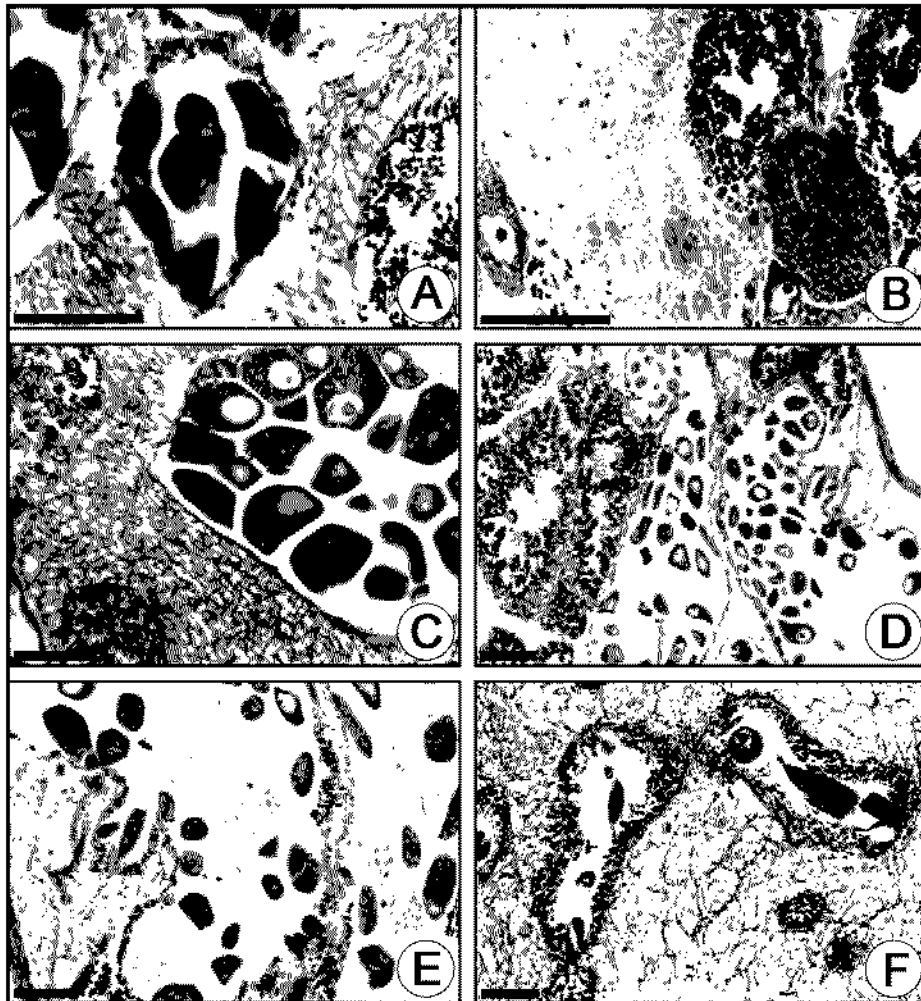
여 소낭 내강이 텅 비게 되며, 정소소낭도 방정하여 정소소낭 내강이 비게 된다 (Fig. 7D).

**퇴화 및 비활성기 (spent and inactive stage):**

산란 후 퇴화, 붕괴 중인 난소소낭 내강에는 잔존 난모세포들이 퇴화·붕괴되고, 정소소낭 내강에 잔존하는 정세포와 정자들이 퇴화·붕괴되는 특징을 보였다 (Fig. 7E, F).

**3. 생식세포 발달단계에 따른 재첩 아가미 조직 구조의 주기적 변화**

기수산 2배체인 일본재첩은 난생으로서 외반새나 내반새에 보육낭을 갖지 않았고 아가미 조직이 생식세포 변화에 따라 주



**Fig. 7.** Photomicrographs of gonadal phases of hermaphroditic *Corbicula fluminea*. **A**, section of hermaphroditic follicles in the early active stage; **B**, section of hermaphroditic follicles in the late active stage; **C**, section of hermaphroditic follicle in the ripe stage; **D**, section of hermaphroditic follicles in the partially spawning stage; **E, F**, section of hermaphroditic follicles in the spent / inactive stage. Scale bars = 50  $\mu$ m.



기적으로 변하지 않았다. 따라서 일본재첩은 자용이체로 난의 수정이 체외수정 및 유생생식을 하고 있음을 알 수 있었다.

그러나 3배체 재첩의 경우는 한 쌍의 내반새가 주된 보육낭 기능을 하며 아가미로서 기능을 한다. 그러나 보육낭을 갖지 않는 아가미는 분리되지 않았고, 제 2격벽과 3 개 부분으로 나누어진 보육구조를 갖지 않는 것이 특징이다. 이런 경우는 아가미의 외막이 좀 더 두텁게 나타났다 (Fig. 8A). 비임란기에 내반새의 내부 층상간격에 연결되어 있는 상피세포는 두터웠다 (Fig. 8B). 보육낭을 가지는 아가미의 경우에는 내반새의 형태와 구조적 변화가 뚜렷하게 계절적 변화를 나타내었으며, 특히, 임란기 (incubatory period) 중에는 성숙난의 방란과 관련하여 구조적 주기성을 나타내었다.

내반새에서 초기임란기 중 (성숙난의 방란 또는 난소소낭에서 초기발달 중인 배가 아가미로 이동)에는 내반새의 두터운 내부 층상공간이 수많은 완숙난과 D-상기 피면자 유생들로 가득 채워졌다 (Fig. 8C). 그리고 후기임란기(생식소 발달단계는 산란 후 퇴화)에는 임란된 수많은 D-상기 피면자유생이나 후기 피면자 유생들이 내반새의 내부 층상 공간에서 발견되었다 (Fig. 8D). 그 후 유생들의 방출로 보육낭을 갖는 아가미에서는 제 2차 격벽이 분리되기 시작함으로써, 제 2차 격벽은 제 2차 수관을 형성하였다. 결국, 초기 비임란기에는 보육낭이 제 2차 격벽과 수관에 의해 세 부분으로 구분되었다. 비임란기에는 3부분으로 나누어진 보육낭 아가미의 내층공간이 수많은

D-상기 피면자들이 방출됨으로써 텅 비게 된다 (Fig. 8E). 보육낭 아가미내의 구조적 변화와 생식소 내에서의 배우자형성 사이의 몇 가지 관련된 특징이 관찰되었다. 즉, 대부분의 생식소들은 퇴화되었고, 임란기 및 유생방출기 중에는 생식소내의 압수 배우자들의 방란과 방정이 일어났다. 그러므로 배우자형성이 억제되는 시기는 임란기로 특히, 한 여름철과 초가을 중의 임란기와 D-상기 피면자 유생이 방출되는 때에 일어났다. 특히, 비임란기 (non-incubatory period) 중에는 성숙란이 생식소의 자용동체소낭 내에서 생성되었다. 후기임란기 (late incubatory period) 또는 유생이 방출되기 전에는 세 부분으로 나누어진 보육낭 구조를 관찰할 수 없었다.

### 고 찰

이매패류 (Bivalvia) 에 대한 염색체의 연구로는 Ahmed and Sparks (1976) 의 해양 부족류 염색 연구를 비롯하여 Menzel and Menzel (1965) 및 Menzel (1968) 은 5 종의 부족류의 난으로부터 aceto-orcein 압착법 (squash method) 에 의해  $n = 19$ ,  $2n = 38$ 을 관찰한 보고 등이 있다. 또 Ieyama and Inaba (1974), Ieyama (1975, 1977) 등은 익형류 이매패 강 7 과 15 종의 염색체 연구를 통해  $n = 7-16$  을 보고하였다.

Faustino *et al.* (1979) 은 *Crassostrea rhizophorae*의

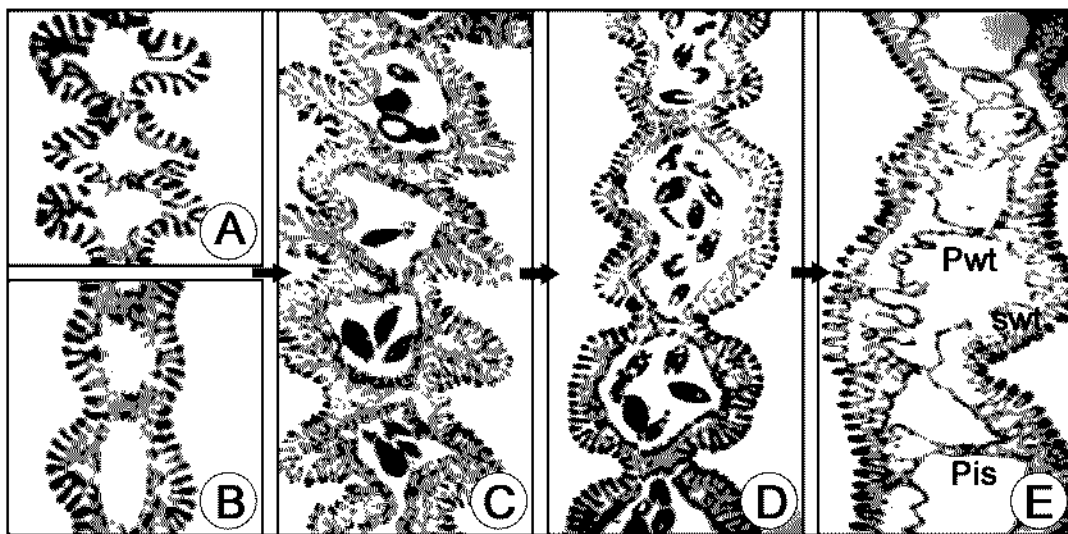


Fig. 8. Photomicrographs of the structures of the demibranchs of the gills in *Corbicula fluminea*. A, outer-demibranch; B, inner-demibranch during the non-incubatory period; C, a number of ripe eggs and D-shaped veliger larvae in the thick inter-lamellar spaces of the inner-demibranch during the incubatory period; D, marsupial demibranch was separated by the secondary septa during the incubatory period; E, tripartites appeared during the early non-incubatory period. Abbreviations: Pis, primary interlamellar septum; Pwt, primary water tube; swt, secondary water tube.

핵형분석을 통해 염색체가 중부 (metacentric chromosome) 와 차중부 (submetacentric chromosome) 로 구성되었음을 보고하였고, 또한 tetraploid도 관찰하였다고 보고하였다. 재첩을 대상으로 한 염색체 연구로는 *Corbicula leana*, *C. japonica* 및 *C. sandai* (Okamoto and Arimoto, 1986), *C. fluminea*, *C. papyracea*, *C. colorata* (Park et al., 2000) 등이 있다. Okamoto and Arimoto (1986) 는 담수산 이매패류인 재첩과 3 종 (*C. leana*, *C. japonica*, *C. sandai*) 의 그룹 사이에 계통발생학적 관계가 분류학적인 특징만으로 불분명하기 때문에 이들의 염색체 연구를 시행하였으며, *C. japonica*는 38 개의 염색체를, *C. sandai*는 36 개, *C. leana* 는 54 개의 염색체를 갖고 있다고 보고하였다. 한편 이들 3 종의 염색체 수와 핵형분석을 비교한 결과 *C. leana*를 포함한 자웅동체종의 조상종은 일본재첩의 조상종으로부터 기원된 *C. sandai*의 ancestral species로부터 유래되었다고 가정하였다. 본 실험 결과, 재첩의 염색체 수는  $3n = 54$ 이었으며 12 쌍의 subtelocentric chromosome, 5 쌍의 submetacentric chromosome, 그리고 1 쌍의 metacentric chromosome으로 나타내어 *C. leana*와 동일한 염색체 수 (54개) 를 보였다. 그러나 일본재첩의 염색체 수는  $2n = 38$ 이었으며, 11 쌍의 telocentric chromosome, 4 쌍의 subtelocentric chromosome, 3 쌍의 submetacentric chromosome, 그리고 1 쌍의 metacentric chromosome으로 분류되어 Okamoto and Arimoto (1986) 의 결과와는 약간의 차이를 보였다.

3배체 재첩은 난태생으로써 담수역에 서식하는 석패 과에 속하는 종과 마찬가지로 성숙란이 반새 (inner-demibranch) 내에서 수정하여 수정란이 된 후, 담륜자 및 피면자 유생으로 성장하여 체외로 방출된다. 그러나 석패 과 패류의 종들은 수정란이 glochidium으로 성장과 발달이 이루어지는 곳이 외반새 (outer-demibranch) 로 이를 보육낭으로 이용하는 것과는 달리, 주로 내반새 (inner-demibranch) 를 이용하나 간혹 외반새도 보육낭으로 이용하기도 한다.

재첩의 유생은 석패 과 패류 유생과 달리 어류 등에 부착, 기생생활을 하지 않고 직접 독립적인 영양생활을 하는 것으로 생각된다. 난태생으로 성장된 유생은 아가미 속에 또 하나의 막이 있어 이 속에서 성장을 계속하여 나중에 이 막을 뚫고 모패에서 방출된다고 생각된다. 난태생을 하는 외반새 속에 들어 있는 유생은 그 수가 매우 적었으며 평균 3 개에서 최고 36 개의 유생들이 들어있었다. 그러나 기수산 일본재첩은 난생으로서 외반새나 내반새에 보육낭을 갖지 않았다. 따라서 일본재첩은 자웅이체로 난의 수정이 체외수정 및 유성생식을 하고 있으나, 담수산 재첩은 자웅동체로 난의 수정이 체내수정이며 난태생이며, 단위생식을 하고 있어 이들의 생식 mode는 뚜렷하게

다른 특징을 보였다.

## 요 약

우리나라 고성군 송지호의 기수역에서 채집된 2배체 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 과 춘천 의암호 담수에서 채집된 3배체 재첩 (*C. fluminea*) 을 대상으로 핵형 및 번식특성의 차이점을 확인하기 위해 조사하였다. 2배체인 일본재첩은 25 개 세포들에서 세포당 38 개의 염색체가 관찰되었다. 이들의 핵형은 상동염색체 2 개가 19 쌍을 이루고 있다. 염색체는 11 쌍의 telocentric과 3 set의 subtelocentric 그리고 3 쌍의 submetacentric 그리고 1 쌍의 metacentric 염색체로 구성되어 있었다. 일본재첩은 난생이며 자웅이체로 내반새와 외반새를 갖는 두 쌍의 아가미를 가지나, 이들은 보육낭으로 기능을 하지 않는다. 난들과 정자들은 기수역에서 체외수정을 한다. 3배체인 재첩은 세포당 54 개의 염색체가 관찰되었다. 이들의 핵형은 상동염색체 3 개가 18 set를 이루고 있었다. 이들 염색체 18 set는 1 개의 metacentric group과 5 개의 submetacentric group, 그리고 12 개의 subtelo 또는 telocentric group으로 이루어져 있었다. 재첩은 난태생이며 기능적 자웅동체이다. 3배체 조건은 자웅동체성과 밀접한 관련을 가진다. 재첩의 경우는 주로 보육낭으로 기능을 하는 내반새 (inner-demibranch) 를 갖는 2 쌍의 아가미를 가진다. 아가미의 내반새 구조에서는 임란기 중에는 완숙란들이 소모되고, 비임란기 중에는 완숙란들이 생식소의 자웅동체 소낭 내에서 생산되어 주기적 변화가 나타났다. 일본재첩과 재첩의 생식 소발달 단계들은 조직학적 관찰에 의해 초기활성기, 후기활성기, 완숙기, 부분산란기, 퇴화 및 비활성기의 5 단계로 나눌 수 있었다.

## REFERENCES

- Ahmed, M. and Sparks, A.K. (1976) Chromosomes of oyster, clams, and mussels. *Proceedings of National Shellfisheries Association*, **53**: 10.
- Araujo, R., Moreno, D. and Ramos, M.A. (1993) The Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Muller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *American Malacological Bulletin*, **10**: 39-49.
- Byun, K.S. and Chung, E.Y. (2001) Distribution and ecology of marsh clam in Gyeongsangbuk-do. II. reproductive cycle and larval development of the *Corbicula japonica*. *Korean Journal of Malacology*, **17**: 45-55.
- Byrne, M., Phelps, H., Church, T., Adair, V. Selvakumaraswamy, P. and Potts, J. (2000) Reproduction and development of the freshwater clam *Corbicula australis* in southeast Australia. *Hydrobiologia*, **418**: 185-197.
- Faustino, R.R., Manuel, U.A., Alfredo, L.F. and Maria,

- E.D.C. (1979) The karyotype of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). *Venus*, **38**: 135-140.
- Hatsumi, M., Nakamura, M., Hosokawa, M. and Nakao, S. (1995) Phylogeny of three *Corbicula* species and isozyme polymorphism in the *Corbicula japonica* populations. *Venus*, **54**: 185-193.
- Ieyama, H. and Inaba, A. (1974) Chromosome numbers of ten species in four families of Pteriomorphia (Bivalvia). *Venus*, **33**: 129-137.
- Ieyama, H. (1975) Chromosome numbers of three species in three families of Pteriomorphia (Bivalvia). *Venus*, **34**: 26-32.
- Ieyama, H. (1977) Studies on the chromosome numbers of two species in Mytilidae (Pteriomorphia, Bivalvia). *Venus*, **36**: 25-28.
- Jo, M.K., Byun, K.S. and Jang, M.H. (1998) Distribution and ecology of genus *Corbicula* in the North Kyungsang province. I. Distribution and classification of genus *Corbicula* in the North Kyungsang province. *Journal of Aquaculture*, **11**: 581-592. [in Korean]
- Kim, W.K., Lee, C.S., Lee, J.Y. Baik, K.K. and Hur, S.B. (2002) Environmental factors and population density of brackish water clam, *Corbicula japonica* on Namdae stream in Yangyang, Gangwon. *Journal of Aquaculture*, **15**: 1-6.
- Kim, W.K., Lee, J.Y., An, C.M., Kim, H.S., Choi, C.Y., Kim, J.W., Chung E.Y. and Kim, B.S. (2003) Reproductive cycle and the sex ratio of *Corbicula japonica* from Namdae stream in Gangwon-do, Korea. *Korean Journal of Malacology*, **19**: 117-124. [in Korean]
- Komaru, A. and Konishi, K. (1996) Ultrastructure of biflagellate spermatozoa in the freshwater clam, *Corbicula leana* (Prime). *Invertebrate Reproduction and Development*, **29**: 193-197.
- Komaru, A., Konishi K., Nakayama, I., Kobayashi, T., Sakai, H. and Kawamura, K. (1997) Hermaphroditic freshwater clams in the genus *Corbicula* produce non-reductional spermatozoa with somatic DNA content. *Biological Bulletin*, **193**: 320-323.
- Kraemer, L.R. and Galloway, M.L. (1986) Larval development of *Corbicula fluminea* (Muller) (Bivalvia: Corbiculacea): an appraisal of its heterochony. *American Malacological Bulletin*, **4**: 61-79.
- Kwon, O.K., Park, K.M. and Lee, J.S. (1993) Coloured Shells of Korea. 371 pp. Academy Publishing Co., Seoul. [in Korean]
- Lee, J.S. and Kim, J.B. (1997) Systematic study on the genus *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in Korea. *Korean Journal of Systematics Zoology*, **13**: 233-246. [in Korean]
- Maru, K. (1981) Reproductive cycle of the brackish-water bivalve, *Corbicula japonica*, in Lake Abashiri. *Report from Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station*, **23**: 83-85.
- 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. *Biological Bulletin (Woods Hole)*, **129**: 181-188.
- Okamoto A. and Arimoto B. (1986) Chromosomes of *Corbicula japonica*, *C. sandai* and *C. (Corbiculina) leana* (Bivalvia: Corbiculidae). *Venus*, **45**: 194-202.
- Paris Conference (1971) Standardization in human cytogenetics. *Birth defects: Original article series*, **8**: 1-46.
- Park, G.M., Yong, T.S., Im, K.I. and Chung, E.Y. (2000) Karyotypes of three species of *Corbicula* (Bivalvia: Veneroida) in Korea. *Journal of Shellfish Research*, **19**: 979-982.
- Park, G.M. and Chung, E.Y. (2003) Molecular phylogenetics of five *Corbicula* species determined by partial 28S ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Shellfish Research*, **22**: 481-485.
- Yoo, J.S. (1972) The Korean Shells in Color. p. 125. Iljisa, Seoul. [in Korean]