박사학위논문

오분자기, *Haliotis diversicolor aquatilis*의 성 분화와 생식소 발달

제주대학교 대학원

해양생명과학과

김 성 훈

2008년 8월

오분자기, *Haliotis diversicolor aquatilis*의 성 분화와 생식소 발달

지도교수 이 영 돈

김 성 훈

이 논문을 이학 박사학위 논문으로 제출함

2008년 8월

김성훈의 이학 박사학위 논문을 인준함

심사위원장 송 춘 복

위 원 최 광 식

위 원 김 형 배

위 원 여 인 규

위 원 이 영 돈

제주대학교 대학원

2008년 8월

Sex differentiation and gonad development of small abalone, *Haliotis diversicolor aquatilis*

Seong-Hoon Kim

(Supervised by Professor Young-Don Lee)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY

DEPARTMENT OF MARINE LIFE SCIENCE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

August 2008

목 차

List of figures ····· viii
List of tables ····· xi
Abstract ····· xii

제 1장. 성 분화 ····· 1

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 3
1. 치패사육 및 채집 ····· 3
2. 조직학적 관찰 ····· 3
3. 성 분화 ····· 3

Ⅲ. 결 과 ····· 5
1. 치패 성장 ····· 5
2. 생식소 형성 및 생식원세포 출현 ····· 7
1) 생식소강 형성 및 위치 ····· 7
2) 생식원세포 출현 ····· 8
3) 격막 형성 ····· 11
4) Ridge 형성 ····· 11
3. 성 분화 ····· 16
1) 난소 분화 ····· 16
2) 정소 분화 ····· 18
3) 성 결정 ····· 22

Ⅳ. 고찰 ····· 26

제 2장. 생식소 발달 ····· 29

Ⅰ. 서 론 ····· 29

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 31
1. 오분자기 시료 ····· 31
2. 조직학적 관찰 ····· 31
3. 생식세포 형성 ····· 32
1) 난 형성 ····· 32
2) 정자 형성 ····· 32

Ⅲ. 결 과 ····· 33
1. 난소 발달 ····· 33
1) 난 형성 과정 ····· 33
2) 난황 형성 ····· 42
3) 난황층과 젤리층 형성 ····· 48
2. 정소 발달 ····· 50
1) 정자 형성 과정 ····· 50
2) 첨체 분화와 형성 ····· 66
3. 생식소 구성 조직의 형태 ····· 70
1) 상피조직 ····· 70
2) 결합조직과 생식상피 ····· 72
3) 황색과립세포 ····· 74

Ⅳ. 고찰 ····· 76

제 3장. 생식주기와 산란특성 ····· 83

Ⅰ. 서　　론 ····· 83

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 85
1. 오분자기 채집 ····· 85
2. 환경요인 ····· 86
3. 조직학적 관찰 ····· 86
4. 생식소지수 ····· 86
5. 생식주기 ····· 88
6. 성비 ····· 88

Ⅲ. 결　　과 ····· 91
1. 생식소의 해부 형태학적 구조 ····· 91
2. 환경요인 ····· 93
1) 생식주기에 따른 월별 환경변화 ····· 93
2) 산란시기의 달주기에 따른 주별 환경변화 ····· 93
3. 월별 생식소지수 ····· 96
4. 생식주기 ····· 98
1) 분열증식기 ····· 98
2) 성장기 ····· 98
3) 성숙기 ····· 98
4) 산란 및 방정기 ····· 99
5) 퇴행기 ····· 99
6) 회복기 ····· 99
5. 산란시기의 달주기에 따른 주별 생식소지수 ····· 104
6. 산란시기의 달주기에 따른 주별 생식세포 발달 ····· 106
7. 성비 ····· 110

Ⅳ. 고　　찰 ····· 113

요 약 ····· 117

참고문헌 ····· 120

감사의 글 ····· 133

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

List of figures

Chapter 1. Sex differentiation

Fig. 1. Dorsal view of the soft body part of the juveniles *H. diversicolor* with growing horn-shape conical appendage. ····· 4

Fig. 2. Monthly changes of rearing seawater temperature from August, 2006 to June, 2007 and monthly growth curve of juvenile *H. diversicolor* in the rearing tank from 2 to 12 months after hatching. ····· 6

Fig. 3. Photographs of the gonad cavity formation in juvenile *H. diversicolor*. ····· 8

Fig. 4. Photographs of gonocytes appearance in juvenile *H. diversicolor*. ··· 10

Fig. 5. Photographs of the septum formation in juvenile *H. diversicolor*. ··· 12

Fig. 6. Photographs of the ridge formation in juvenile *H. diversicolor*. ····· 13

Fig. 7. Photographs showing sex differentiation into ovary in juvenile *H. diversicolor*. ····· 17

Fig. 8. Photographs showing sex differentiation into testis in juvenile *H. diversicolor*. ····· 19

Fig. 9. Photographs showing sex determination of gonad in juvenile *H. diversicolor*. ····· 23

Chapter 2. Gonad development

Fig. 1. Photographs of oogenesis in *H. diversicolor*. ····· 35

Fig. 2. Ultrastructure of oogonium in *H. diversicolor*. ····· 36

Fig. 3. Ultrastructure of early and late oil droplet stage oocytes in *H. diversicolor*. ····· 37

Fig. 4. Ultrastructure of yolk globule stage oocyte in *H. diversicolor*. ····· 39

Fig. 5. Light micrographs and ultrastructure of follicle cells. ····· 41

Fig. 6. Ultrastructure of early vitellogenic stage oocyte in *H. diversicolor*. 43

Fig. 7. Ultrastructure of late vitellogenic stage oocyte in *H. diversicolor*. ·· 45

Fig. 8. Ultrastructure of mature stage oocyte in *H. diversicolor*. ····· 47

Fig. 9. Ultrastructure of showing the successive formation process of jelly layer and vitelline layer. ····· 49

Fig. 10. Photographs of testicular gonad showing the three layers of gonadal tissue and ultrastructure of spermatogonium. ····· 51

Fig. 11. Ultrastructure of spermatogenesis in *H. diversicolor*. ····· 54

Fig. 12. Ultrastructure of secondary spermatocytes in *H. diversicolor*. ····· 57

Fig. 13. Ultrastructure of several type spermatids during spermiogenesis. ·· 59

Fig. 14. Ultrastructure of various immature spermatozoa in *H. diversicolor*. 62

Fig. 15. Ultrastructure of mature spermatozoon in *H. diversicolor*. ····· 64

Fig. 16. Ultrastructure of showing the successive stages of acrosomal formation in *H. diversicolor*. ····· 67

Fig. 17. Photographs of epithelial cells covering on the surface of gonad and ultrastructure of epithelial cells appearing the surface of the gonad in *H. diversicolor*. ····· 71

Fig. 18. Ultrastructure of germinal epithelium and connective tissue in an ovary of *H. diversicolor*. ····· 73

Fig. 19. Photographs of yellowish granular cells and ultrastructure of yellowish granular cell existing together with undifferentiation mesenchymal tissue in gonad lumen in *H. diversicolor*. ····· 75

Chapter 3. Reproductive cycle and spawning characteristics

Fig. 1. Map of sampling site on the northeast Seong-san coastal area of Jeju-Do. ····· 85

Fig. 2. Schematic drawing on center point of gonad *H. diversicolor*. ····· 87

Fig. 3. Anatomical external structure of conical appendage in *H. diversicolor*. ····· 92

Fig. 4. Monthly changes of seawater temperature and photoperiod in sampling site (Seong-san coastal area) according to investigating reproductive cycle in *H. diversicolor*. ····· 94

Fig. 9. Weekly variations of seawater temperature and photoperiod in sampling site (Seong-san coastal area) of spawning seasons according to lunar cycle in *H. diversicolor*. ····· 95

Fig. 10. Monthly changes of gonad index (GI) in *H. diversicolor*. ····· 97

Fig. 11. Photographs of various ovarian development stages in *H. diversicolor*. ····· 101

Fig. 12. Photographs of various testicular development stages in *H. diversicolor*. ····· 102

Fig. 13. Monthly variations of relative frequency of various gonad development stages from May, 2006 to April, 2007 in *H. diversicolor*. ····· 103

Fig. 14. Weekly changes of gonad index (GI) by lunar cycle at spawning seasons in *H. diversicolor*. ····· 105

Fig. 15. Weekly changes on relative frequency of various gonad development stages by lunar cycle in spawning seasons in *H. diversicolor* from Jul. to Oct. 2007. ····· 107

Fig. 16. Photographs of various ovarian development stages by lunar cycle in spawning seasons of *H. diversicolor*. ····· 108

Fig. 17. Photographs of various testicular development stages by lunar cycle in spawning seasons of *H. diversicolor*. ····· 109

List of tables

Chapter 1. Sex differentiation

Table 1. Morphological features of sex undifferentiation stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 2 to 7 MAH ····· 14

Table 2. Morphological features of gonad development stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 8 to 10 MAH ····· 20

Table 3. Morphological features of gonad development stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 11 to 12 MAH ····· 24

Chapter 3. Reproductive cycle and spawning characteristics

Table 1. Criteria used to assesment of reproductive cycle according to gonad development of male in *H. diversicolor* ····· 89

Table 2. Criteria used to assesment of reproductive cycle according to gonad development of female in *H. diversicolor* ····· 90

Table 3. Sex ratios according to monthly sampling from May, 2006 to April, 2007 of *H. diversicolor* ····· 111

Table 4. Sex ratios according to weekly sampling in spawning seasons from July to October, 2007 of *H. diversicolor* ····· 112

Abstract

Small abalone species, *H. diversicolor aquatilis* widely inhabits under 3 to 6 m water depth in Jeju coastal regions and is one of small abalone species below 10 cm shell length. Recently an abalone resource is rapidly decreasing because of ecological environmental factors in Jeju Island. To try resources management and enhancement for small size abalone, *H. diversicolor*, many trials such as stocking projects of juveniles seed artificially produced have been conducted for several years.

In the present study, to obtain reproductive biological characteristics for resources management and enhancement of *H. diversicolor* was conducted to investigate of sex differentiation processes, reproductive cycle and spawning characteristics. The survey on the ultrastructure of germ cells and several cells which composed of gonad was carried out in this study.

Sex differentiation

Research on sex differentiation of juveniles (seed artificially produced in June 2006, 2-12 months after hatching (MAH), 4.1-31.0mm shell length (SL)) has been investigated by histological methods. The gonad cavity was formed 63% of all the juveniles at 2 MAH (<4.1mm SL). Gonocytes appeared on the gonad cavity inner wall of the juveniles at 3 MAH (<5.1mm SL). Septum was observed in the gonad cavity of the juveniles at 3 MAH (<5.1mm SL) and could divide into two compartments of gonad cavity.

Ridge originated from inner wall in the connective tissue of gonad cavity at 7 MAH (8.1 mm SL) and developed toward hepatopancreatic organs.

At 8 MAH in juveniles(<18.3 mm SL), initial sex differentiated into ovarian cavity. However, at 10 MAH in juveniles(<18.1 mm SL), sex differentiated into testicular cavity and spermatogenesis was observed on the ridges of the

testicular cavity.

At 10 MAH, the number of juveniles with ovarian cavity differentiation increased to 64% but the number of juveniles with testicular cavity differentiation increased to 36%. At 12 MAH (<17.1mm SL), sex differentiation into ovary and testis proceeded 96.3% of juveniles.

Gonad development

Being based on morphological features of germ cell size and shape, nuclear and nucleolus shape, oil droplet and yolk globule appearance aspects and non or presence of jelly layer, oogenesis of *H. diversicolor* could be divided into seven stages : oogonium, perinucleolus stage, early and late oil droplet stage, early and late yolk globule and degenerating stage oocyte.

Yolk synthesis processes could be classified into autosynthetic and heterosynthetic processes.

The autosynthetic process was vitellogenin synthetic (endogenous synthesis) process of early vitellogenic stage correlating with cellular organelles such as Golgi complex and rough endoplasmic reticulum in the oil droplet oocytes. Whereas, The heterosynthetic porcess was exogenous synthetic process of late vitellogenic stage corresponding with taking up mature yolk globules and oil droplets by pinocytosis of endocytosis. After jelly layer was first formed by exocytosis of high electron density membrane bounded granules lying in cortical layer of oocyte and later vitelline layer was formed.

Based on germ cells size and shape, nuclear shape and chromatin condensation patterns and cellular organelles development, spermatogenesis process of *H. diversicolor* could be divided into fourteen stages : spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, immature spermatozoon, and mature spermatozoon. Primary spermatocytes could be subdivided into leptotene, zygotene, pachytene, diplotene, diakinesis, and metaphase stages.

Mature spermatozoon was composed of three parts : head part consisted of

acrosome and nucleus, midpiece connected nucleus and flagellum, and tail part made up of axonemal structure of typically 9+2 microtubules. Especially midpiece consisted of six circular mitochondria surrounding radical satellite body, proximal and distal centrioles.

The origin of acrosome was proacrosomal granules of membrane bounded granules which appeared in spermatogonia and spermatocyte, and proacrosomal vesicle was formed in spermatids (Type Ⅲ). Proacrosomal vesicle seemed to form by fusion with various proacrosomal granules which originated from Golgi body in spermatid. After that, acrosome tansformed as kidney shape after nuclear envelope and proacrosomal vescle were slightly invaginated.

The epithelial tissue was made up of 2 types secretory epithelial cells by ultrastructual features and supporting cell and microvilli developed on the free surface of epithelial cells.

Yellowish granular cells in gonad lumen comprised rich membrane bounded vacuoles which fully filled with circular fibrous materials and were slightly observed rough endoplasmic reticulum in the cytoplasm. Yellowish granular cells were examined by high appearance frequency at multiplication, spawning and recovery stages in both sexes.

Follicle cells together existed with oogonium or oil droplet stage oocyte by cell junction and developed rough endoplasmic reticulum in the cytoplasm.

Reproductive cycle and spawning characteristics

The gonad index (GI) of male and female reached a peak in June (70.72±5.2) and July (55.39±11.73). Subsequently, GI decreased in September (Male, 21.27±2.91; Female, 27.75±4.76) and increased again in October (Male, 48.49±8.39; Female, 51.36±7.47), respectively. After that, GI gradually decreased. In March 2007, GI was reached the minimum (Male, 8.46±0.57; Female, 9.69±0.88).

The reproductive cycle of female could be divided into successive six stages ; multiplication (February and May), growing (February-May), mature ○

and recovery (September-October and December-February) stages. In male, multiplication (February and May), growing (March-May), mature (April-July), spawning (June-August and October), degenerating (November-February), and recovery (September-October) stages.

By judging from results of GI and histological observations, the spawning seasons of *Haliotis diversicolor* were estimated as major spawning seasons (August-November) and minor spawning seasons (June-July). So, spawning characteristics of *H. diversicolor* was assumed as multi-spawning characteristics with spawning more two times in spawning seasons.

The results of this research into spawning characteristics in spawning seasons were revealed as general spawning patterns independent of lunar cycle. But an investigations of spawning characteristics by lunar cycle needs to be studied following seasons and time. Especially after a typhoon (NARI, 16, Sep. 2007), the reproductive cycle was observed as mostly recovery stage after spawning in both sexes. So, typhoon event was regarded as one external environmental cue triggering spawning of *H. diversicolor*.

제 1장. 성 분화

Ⅰ. 서 론

연체동물 복족류의 성 특성은 자웅이체와 자웅동체로 대별되는데, 자웅이체 종은 전복, 소라, 고둥류와 자웅동체 종은 군소류, 갯민숭달팽이류 등에서 볼 수 있다. 복족류를 대상으로 성 분화에 관한 연구는 극히 미약한 설정이다. 최근 인공종묘 생산한 참전복, *Haliotis discus hannai*의 생식소 형성과 성 분화 그리고 성 성숙 과정에 대한 일련의 조직학적인 연구를 수행하였다(Awaji and Hamano, 2004). 전복류를 대상으로 한 생식특성 연구는 주로 생식주기에 따른 산란특성, 난 형성과 정자 형성과정에 따른 성 성숙에 관한 세포 소기관의 발달 그리고 생식소를 구성하는 세포의 미세구조 등에 관한 연구가 있다(Boolootain et al., 1962; Oba, 1964; Tomita, 1967; Webber and Giese, 1969; Young and DeMartini, 1970; Lee, 1974; Lee et al., 1978; Takashima et al., 1978; Tutschulte and Connell, 1981; Lee and Lee, 1982; Capinpin et al., 1998; Apisawetakan et al., 2001a; Sobhon et al., 2001; Campbell et al., 2003; Litaay and DeSilva, 2001, 2003).

오분자기, *H. diversicolor aquatilis*는 전복류 중 각장이 10 cm 미만인 소형종으로 분포서식 지역은 일본 남부, 대만 그리고 중국 남부 지역 등 북서 태평양 아열대와 열대 그리고 온대지역의 천해 지역에 분포하며, 우리나라 제주연안의 조간대 수심 3-6 m 지역에 서식하는 소형 전복류이다(Geiger, 1999). 그러나 최근 제주연안의 전복류 자원은 급격히 감소하는 추세이다. 연안 지역의 전복류 자원 회복을 위하여 인공 종묘 생산된 치패를 연안에 방류하고 있다. 연안 전복류 자원의 감소는 어획 강도의 증가와 서식 생태 환경 변화 그리고 환경오염 요인 등이 복합적으로 기인하고 있는 것으로 추정된다.

연안 환경 오염원인 내분비 교란물질 등이 전복류의 성 전환과 성 결정에 미치는 경향이 있다(Horiguchi et al., 2002, 2005). 성 스테로이드 호르몬인 estradiole, testosterone, estrogen 그리고 progesterone이 복족류(LeGuellec et al., 1987), 두족류(D'Aniello et al., 1996), 이매패인 굴, *Crassostrea gigas,* 조개류인 P*atinopecten*

*yessoensis*과 *Pecten hericius* (Matsumoto et al., 1997) 그리고 홍합, *Mytilus edulis* (Reis-Henriques et al., 1990) 등에서 성 분화와 성 전환 등을 유도하는 생리학적인 연구가 있다. 이 연구는 제주 연안 자원 관리 및 자원회복을 위하여 인공종묘 생산된 오분자기 치패를 대상으로 부화 후 2개월부터 12개월까지 성 분화와 생식세포 형성과정을 조직학적으로 조사하였다.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 치패 사육 및 채집

실험에 사용된 오분자기 치패는 제주특별자치도 해양수산자원연구소에서 2006년 6월에 채란·채묘 사육중인 오분자기 치패를 사용하였다. 치패 사육은 규조류가 배양된 파판에서 5-6 mm까지 약 6개월 사육하였고, 그 후 FRP 3톤 사각수조에 평균 300마리/㎡ 밀도로 수용하였다. 치패 먹이는 생미역, 생다시마를 주 3회 공급하였다. 실험에 사용한 치패는 2006년 8월부터 2007년 6월까지 부화 후 2개월부터 12개월 사이에 매월 20마리씩 채집하였다. 채집한 재료는 Vernier calliper를 이용하여 각장 0.01 cm까지 측정하였고, 전중량은 전자저울(Sartorius, BP 3100S)으로 0.01 g까지 측정하였다.

2. 조직학적 관찰

각장 10 mm 이하는 치패 전체를 Bouin's 용액에 고정 하였으며, 각장 10 mm 이상의 치패는 패각근을 중심으로 소화맹낭인 간췌장 조직의 쇠뿔 모양 돌기 전체의 조직 절편을 적출하여 Bouin's 용액에 고정하였다(Fig. 1). 조직학적 관찰은 paraffin 상법에 따라 microtome (Reichert-Jung 802)을 이용하여 5-6 ㎛ 두께로 연속절편을 만든 후, Hansen's hematoxylene과 eosin에 비교 염색한 후 광학 현미경 (Carl Zeiss, HB05)을 이용하여 관찰하였다.

3. 성 분화

생식소 형성과정은 생식소강 형성 전후, 생식원세포 출현, 성 분화 그리고 성 결정기 등 생식세포 발달 및 형태학적 특징에 따라 미분화기, 성 분화기 그리고 성 결정기 등 연속적인 3단계로 구분 하였다.

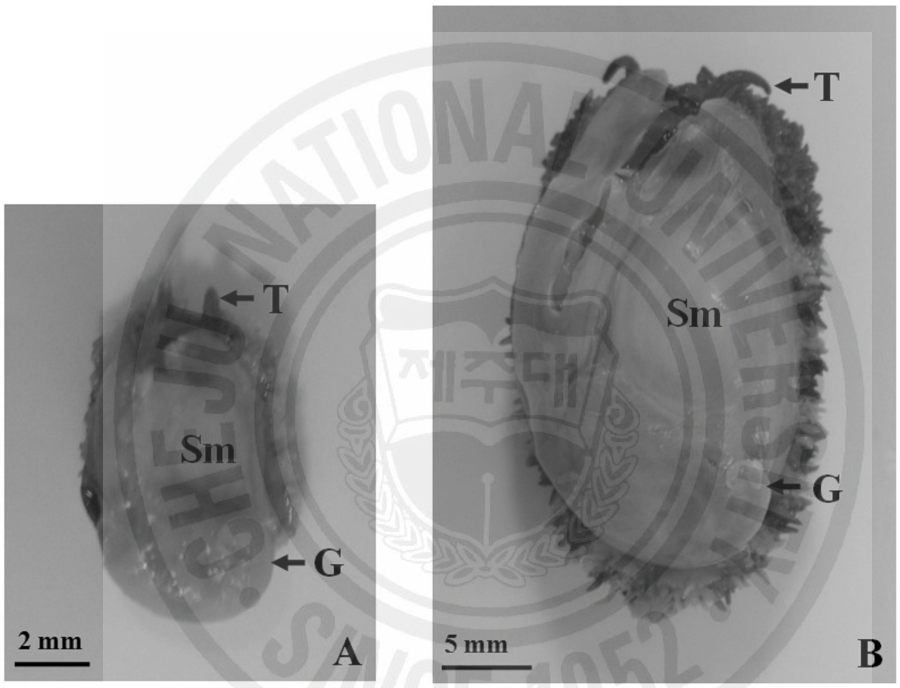


Fig. 1. Dorsal view of the soft body part of the juveniles *H. diversicolor* with growing horn-shape conical appendage. A, 7 months after hatching, MAH (10 mm shell length, SL). B, 12 MAH (33 mm SL). G, Gonad and hepatopancreatic organs; T, Tentacle; Sm, Shell muscle.

Ⅲ. 결 과

1. 치패 성장

시험기간 평균 사육수온은 지하해수와 자연해수를 혼합하여 사육한 결과 평균 사육수온은 18.3℃ (16.1-21.3℃) 범위이었다. 치패의 평균 각장(shell length)은 부화 후 2개월에 5.2±0.1 mm이였으며, 이후 성장하여 12개월에 24.5±0.5 mm까지 성장하였다. 치패의 평균 각고(shell height)는 부화 후 2개월에 3.7±0.1 mm이였으며, 이후 성장하여 12개월에 15.5±0.4 mm까지 성장하였다. 치패의 평균 전중량(total weight)은 2개월 97±9 mg이였으며, 이후 성장하여 12개월에 2.1±0.1 g까지 성장하였다 (Fig. 2)

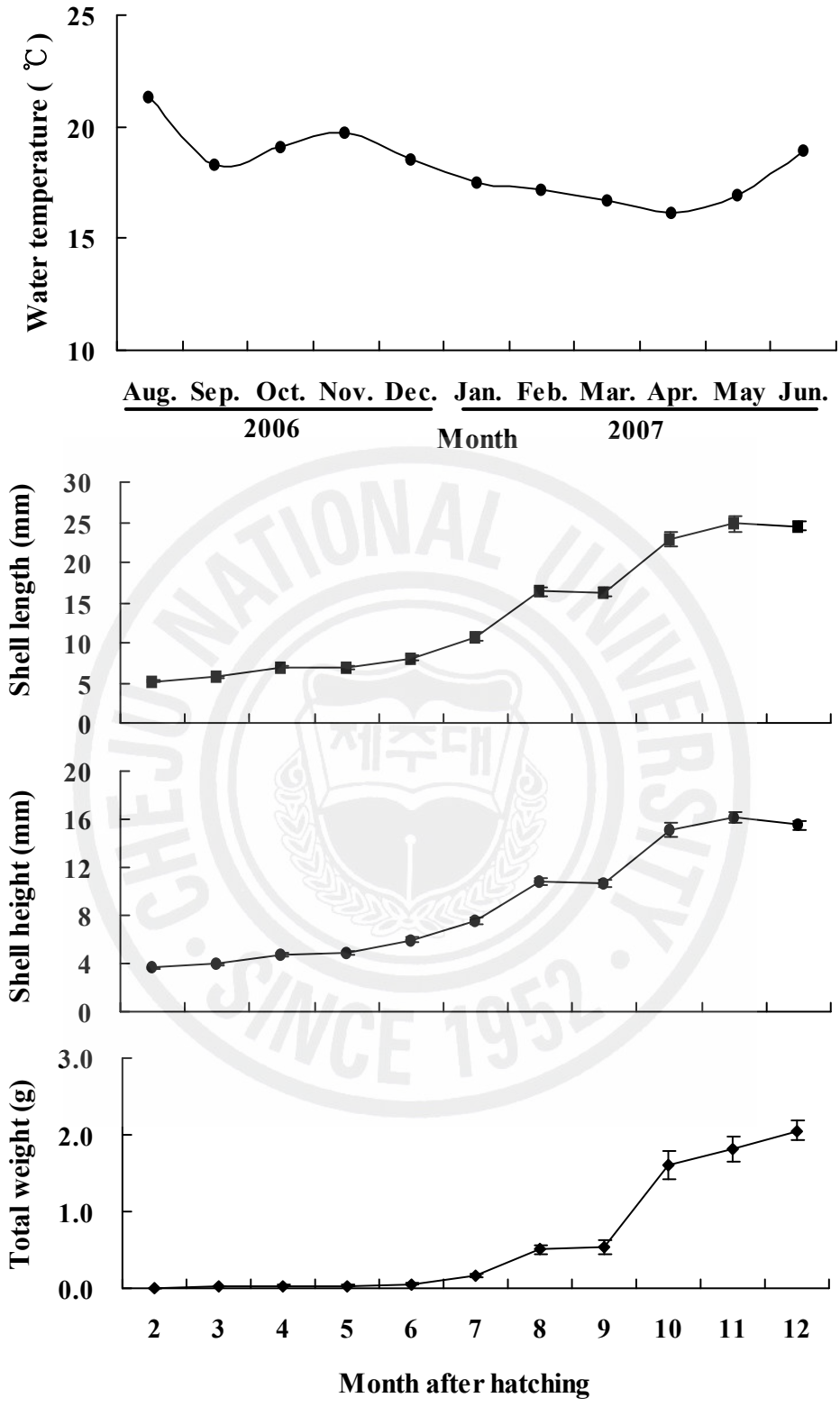


Fig. 2. Monthly changes of rearing seawater temperature from August, 2006 to June, 2007 and monthly growth curve of juvenile *H. diversicolor* in the rearing tank from 2 to 12 months after hatching.

2. 생식소 형성 및 생식원세포 출현

1) 생식소강 형성 및 위치

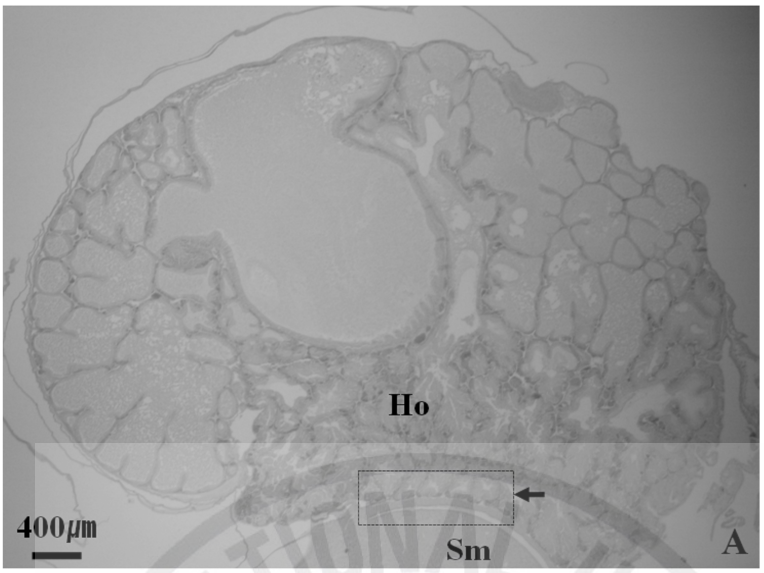
부화 후 2개월 치패(4.1 mm SL)의 생식소강 미형성 시기 돌기상 간췌장 조직의 조직학적 특징은 둥근형의 육질부인 패각근, 패각근과 연결된 가늘고 길다란 결합조직 그리고 소화 맹낭인 간췌장 조직 등 3부분으로 존재하였다(Fig. 3A, B).

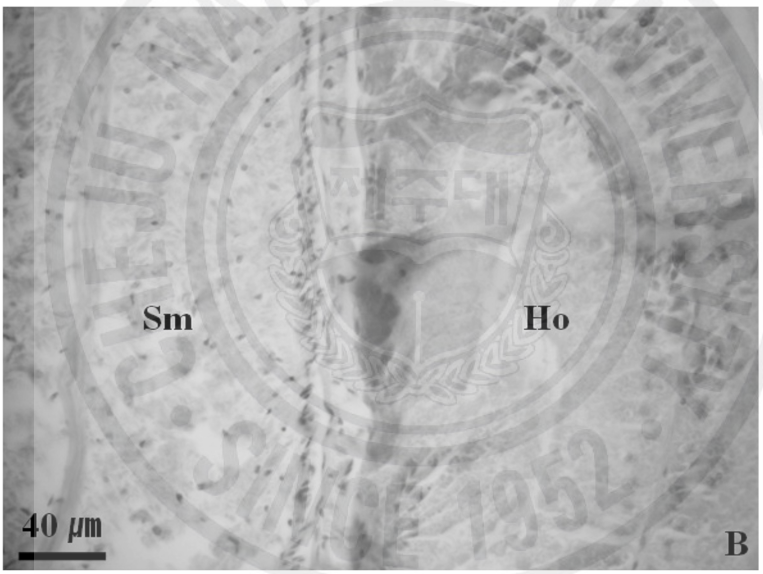
생식소강 형성과 위치는 부화 후 2개월 치패(4.1 mm SL)에서 패각근 인접부 간췌장의 중앙 가장자리 상피조직과 결합조직 사이 장타원형의 빈공간으로 존재하였다(Fig. 3B). 치패가 성장함에 따라 생식소강은 가늘고 길다란 결합조직과 평행하게 간췌장의 선단부와 기저부 쪽으로 신장 발달하였다(Fig. 3C).

2) 생식원세포 출현

부화 후 3개월 치패(5.1 mm SL)의 생식소강을 이루는 결합조직인 내강의 내벽에는 입방형 체세포인 내피세포(크기 2 ㎛)들과 생식원세포(크기 3 ㎛)들이 관찰되었다. 생식원세포는 주위의 체세포보다 다소 basophilic한 염색성을 띠며, 생식소강의 내벽에서 내강을 향하여 단층배열로 존재하였다(Fig. 4A). 생식원세포는 비교적 투명한 큰핵이 세포의 대부분을 차지하였고, 세포질은 매우 미약하였다. 세포의 모양은 사각형, 원형, 그리고 타원형 등 다양한 형태로 존재하였다(Fig. 4B).

부화 후 치패의 성 분화과정 중 성장발달 단계에 따른 형태학적 특징은 부화 후 2개월에 생식소강이 형성되며, 부화 후 4개월 치패는 생식소강 형성 및 생식원세포가 생식소강 내벽에 출현하였다. 부화 후 7개월 모든 치패의 생식소강 내벽에는 생식원세포가 관찰되었다(Table 1).


Ho
Sm
400㎛
A


Sm
Ho
40 ㎛
B

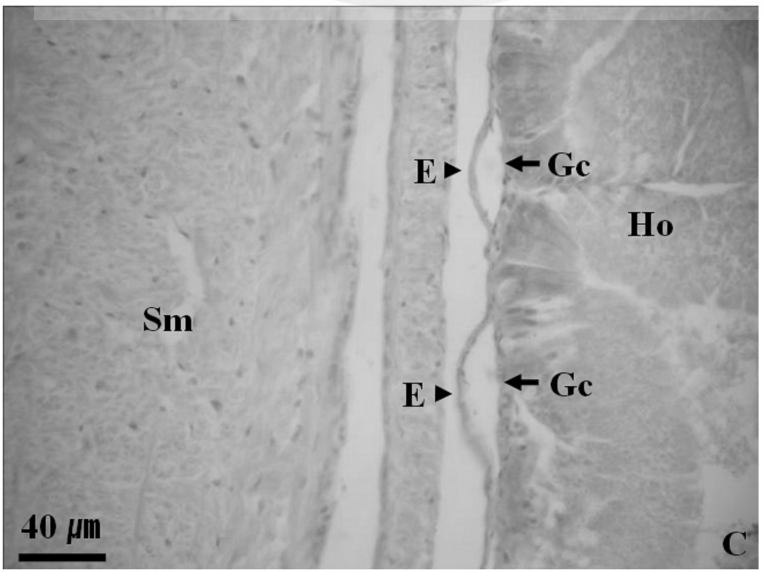

E
Gc
Ho
Sm
E
Gc
40 ㎛
C

Fig. 3. Photographs of the gonad cavity formation in juvenile *H. diversicolor*. A, Regions for histological observation (arrow) during sex differentiation in juvenile (2 MAH, 5.1 mm SL). B, Undifferentiation stage without gonad cavity in juvenile (2 MAH, 4.1 mm SL). C, The gonad cavity (GC) appeared a few vacant spaces between epidermis(E) and hepatopancreatic organs (Ho) in juvenile (2 MAH, 5.1 mm SL). Sm, shell muscle.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

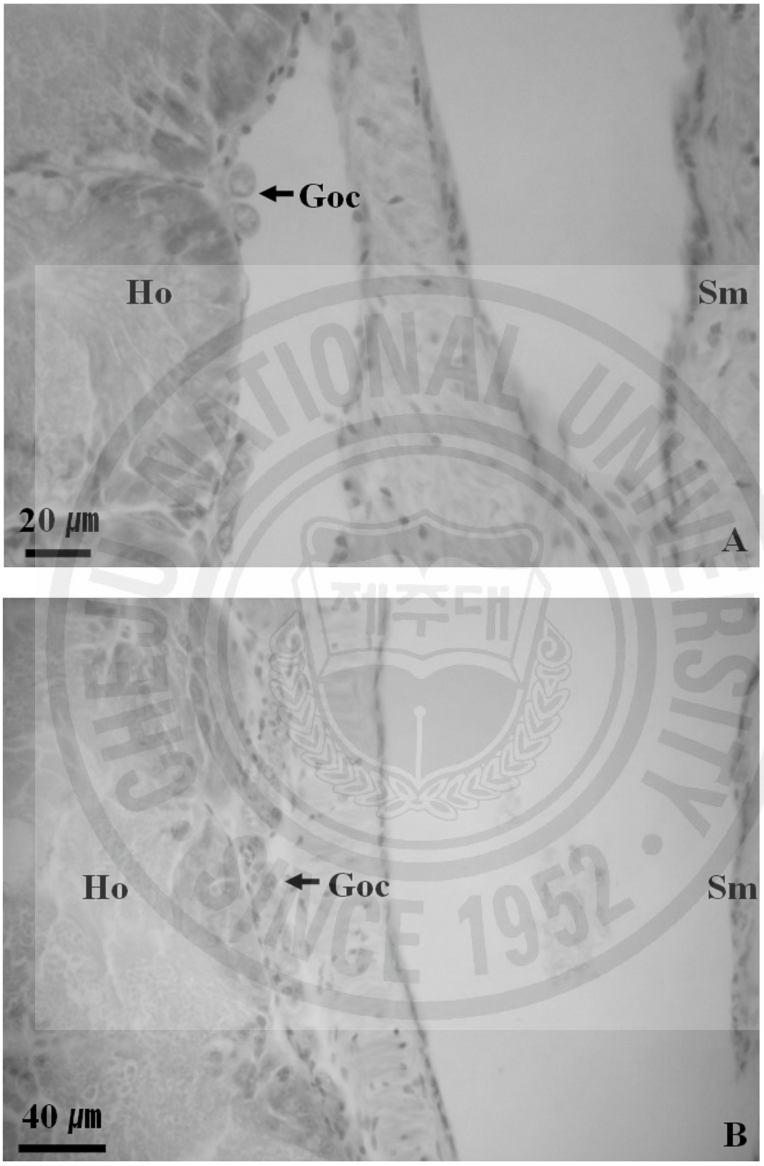


Fig. 4. Photographs of gonocytes appearance in juvenile *H. diversicolor*. A, A few gonocytes (Goc) appeared on the inner wall in the gonad cavity (3 MAH, 5.1 mm SL). B, Gonocytes increased in number in the gonad cavity (5 MAH, 4.1 mm SL). Sm, Shell muscle; Ho, Hepatopancreatic organs.

3) 격막 형성

격막은 부화 후 3개월 치패(5.1 mm SL)의 생식소강 내벽 결합조직에서 기원하여 간췌장쪽으로 신장 발달하였다. 이후 외막인 간췌장의 결합조직과 서로 연결하여 생식소강을 분할 구획하였다(Fig. 5).

4) Ridge 형성

Ridge는 돌기상 형태의 결합조직으로 부화 후 7개월 치패(8.1 mm SL)의 생식소 내강을 구성하는 결합조직 내벽에서 기원하여 간췌장쪽으로 신장발달하였다(Fig.6).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

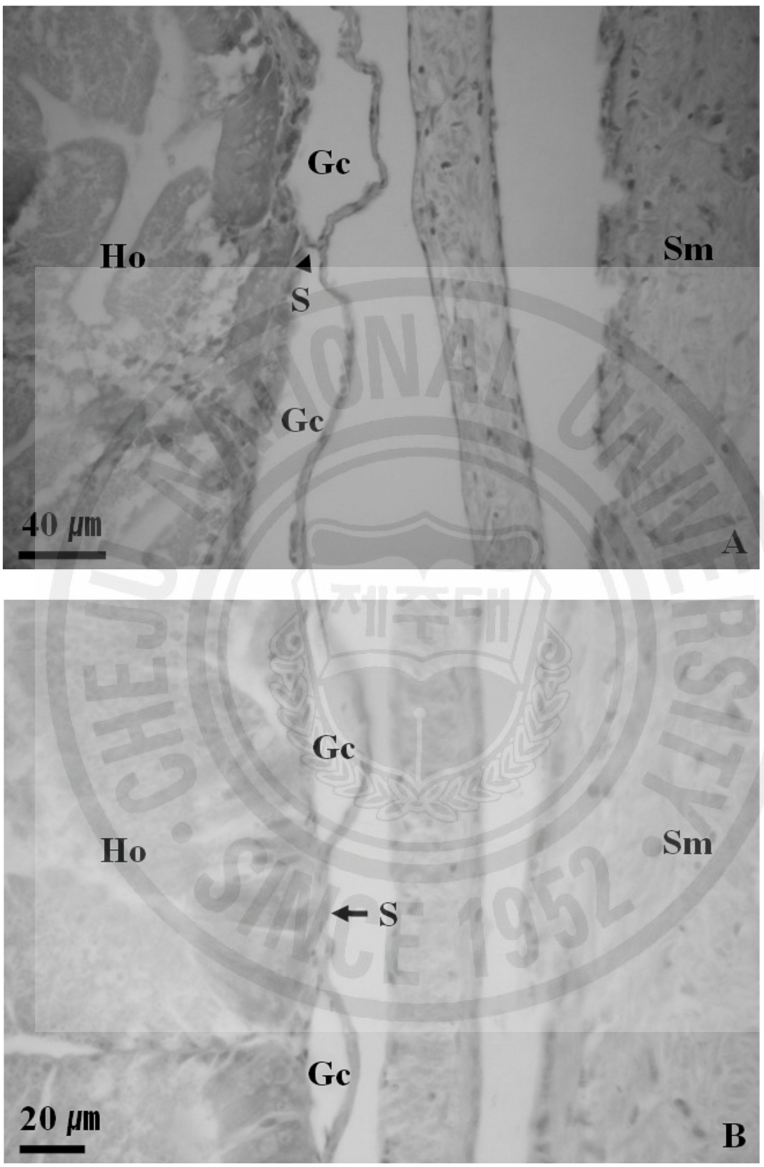


Fig. 5. Photographs of the septum formation in juvenile *H. diversicolor*. The septum (S) existed between two gonad cavities (Gc, 3 MAH, 5.1 mm SL). Ho, Hepatopancreatic organs; Sm, Shell muscle.

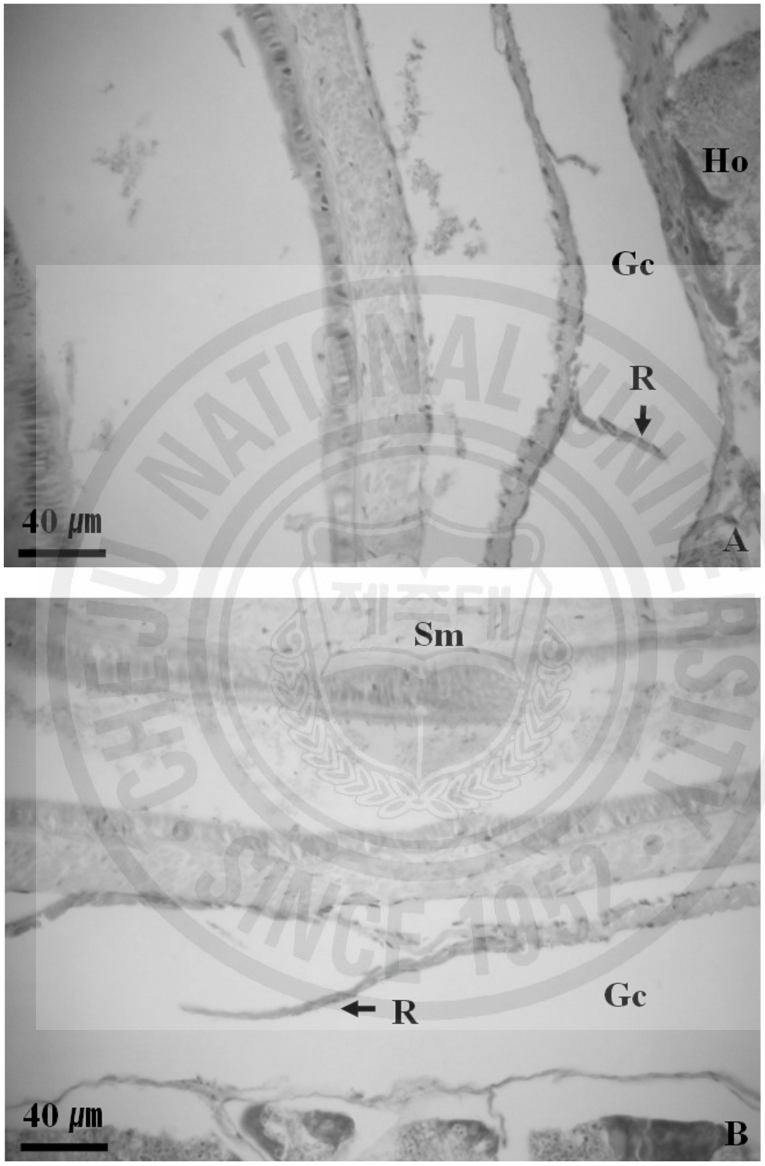


Fig. 6. Photographs of the ridge formation in juvenile *H. diversicolor*. The ridge (R) originated from the inner wall of connective tissue in the gonad cavity (Gc) and developed toward hepatopancreatic organs (7 MAH, <18.1 mm SL). Ho, Hepatopancreatic organs; Sm, Shell muscle.

Table 1. Morphological features of sex undifferentiation stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 2 to 7 MAH

Month after hatching	SL (mm)	N	Stages of sex undifferentiation		
			UD	GC	GOC
2 MAH	7.1-8.0	3	-	3	-
	6.1-7.0	6	3	3	-
	5.1-6.0	9	4	4	1
	4.1-5.0	1	-	1	-
	Total	19	7	11	1
3 MAH	8.1-9.0	3	2	1	-
	7.1-8.0	5	2	2	1
	6.1-7.0	3	1	1	1
	5.1-6.0	6	2	-	4
	4.1-5.0	1	1	-	-
	Total	18	8	4	6
4 MAH	9.1-10.0	1	-	1	-
	8.1-9.0	2	-	2	-
	7.1-8.0	5	-	2	3
	6.1-7.0	8	-	4	4
	5.1-6.0	2	1	-	1
	Total	18	1	9	8

Table 1. continued

Month after hatching	SL (mm)	N	Stages of sex undifferentiation		
			UD	GC	GOC
5 MAH	11.1-12.0	1	-	-	1
	10.1-11.0	-	-	-	-
	9.1-10.0	2	-	-	2
	8.1-9.0	4	-	1	3
	7.1-8.0	2	-	-	2
	6.1-7.0	2	-	-	2
	5.1-6.0	4	-	-	4
	4.1-5.0	3	-	3	-
	Total	18	0	4	14
6 MAH	11.1-12.0	1	-	-	1
	10.1-11.0	1	-	-	1
	9.1-10.0	1	-	-	1
	8.1-9.0	1	-	-	1
	7.1-8.0	1	-	-	1
	6.1-7.0	4	-	-	4
	5.1-6.0	7	1	1	5
	4.1-5.0	1	-	-	1
	Total	17	1	1	15
7 MAH	15.1-16.0	1	-	-	1
	14.1-15.0	1	-	-	1
	13.1-14.0	3	-	-	3
	12.1-13.0	3	-	-	3
	11.1-12.0	3	-	-	3
	10.1-11.0	2	-	-	2
	9.1-10.0	-	-	-	-
	8.1-9.0	2	-	-	2
	Total	15	0	0	15

GC, gonad cavities; GOC, gonocytes; N, number of the juvenile; SL, shell length; UD, undifferentiation stage.

3. 성 분화

1) 난소 분화

부화 후 8개월 치패(18.3 mm SL)의 난소는 생식원세포(크기 3 ㎛)들이 분열 증식하여 난원세포(크기 2.5 ㎛)와 투명한 둥근 핵을 갖으며, 세포질이 미약한 염색인기 난모세포와 유구기 난모세포 그리고 1차 난황구기 난모세포 등이 존재하는 난소 분화기의 개체가 관찰되었다(Fig. 7A). 부화 후 9개월 치패(<14.1 mm SL)들은 난소 분화가 26.3%로 증가하였다(Table 2).

유구기 난모세포의 세포질 외부 세포막에는 소수의 비생식 세포(크기 1.5 ㎛)들이 존재하였다. 비생식 세포의 핵은 hematoxylene에 농염되며, 세포질은 매우 미약하게 관찰되었다. 난소 분화기의 미숙 난모세포들은 내피세포와 연접하여 내강을 향해 단층배열로 존재하였다(Fig. 7B).

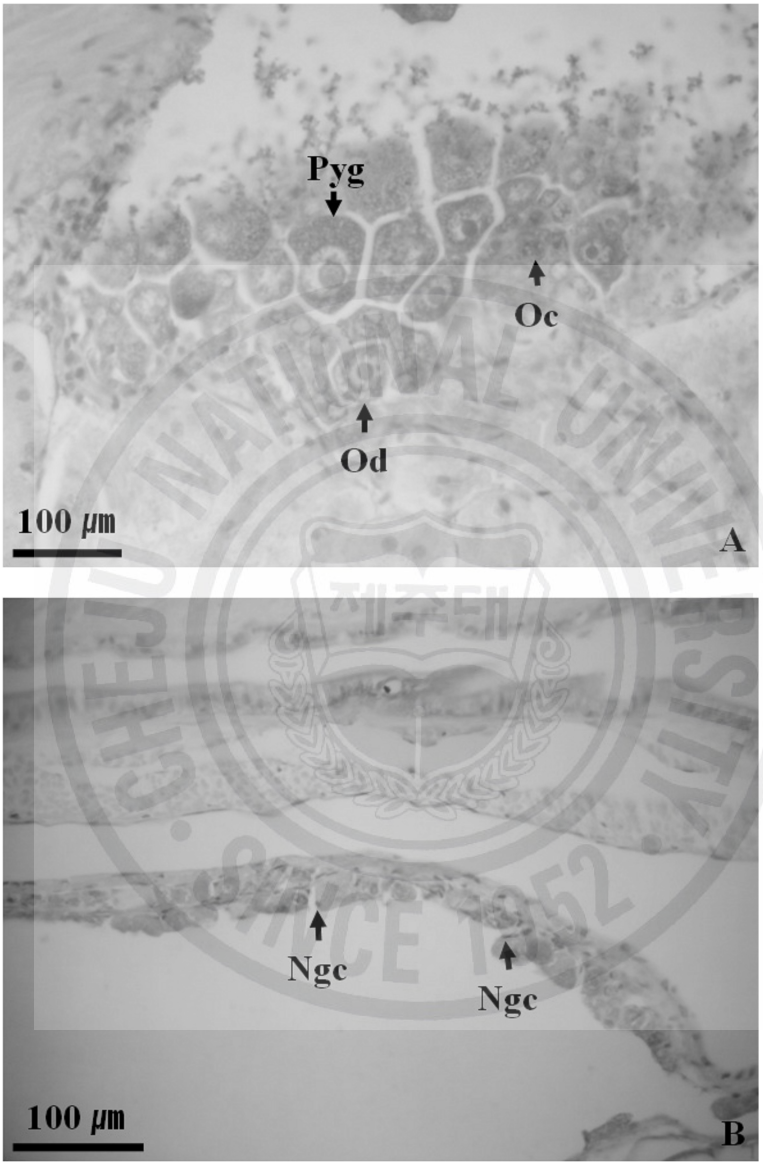


Fig. 7. Photographs showing sex differentiation into ovary in juvenile *H. diversicolor*. A, Photographs showing sex differentiation into ovary consisting of numerous oogonia, perinucleolus oocytes(Oc), oil droplet (Od) and primary yolk granule (Pyg) oocytes (8 MAH, <18.1 mm SL). B, Note non-germ cells (Ngc) existed together with immature germ cells in ovary (8 MAH, <18.1 mm SL).

2) 정소 분화

정소의 분화양상은 형태학적으로 난소 분화양상과는 다른 특징을 보였다. 부화 후 10개월 치패(<18.1 mm SL)의 정소내 결합조직에서 기원하여 간췌장쪽으로 신장발달하는 돌기상 ridge에는 투명한 원형의 핵과 미약한 세포질을 갖는 정원세포(크기 2 ㎛)와 호염기성의 정모세포들이 무리지어 다수 관찰되었다(Fig. 8).

부화 후 9개월 치패(<13.1 mm SL)에서 정소로 분화하는 정자 형성과정은 관찰할 수 없었으나 부화 후 10개월 치패(<18.1 mm SL)에서 35.7%가 정소로 분화하였다(Table 2).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

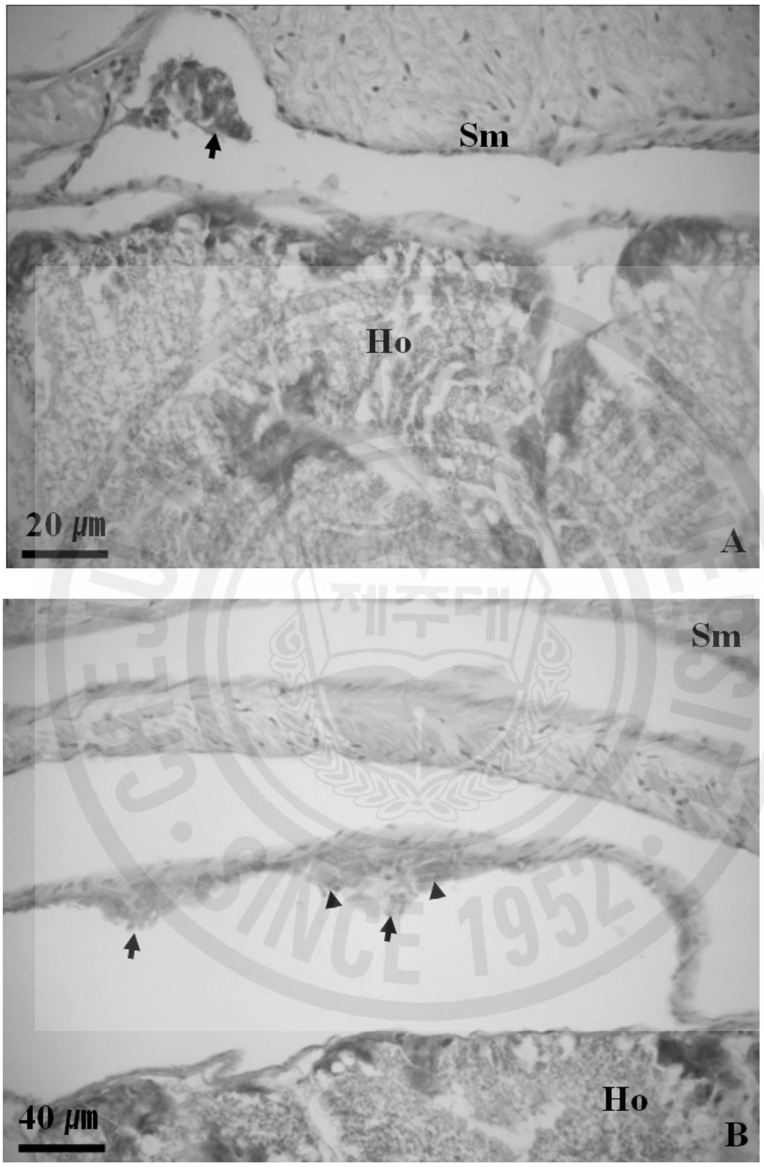


Fig. 8. Photographs showing sex differentiation into testis in juvenile *H. diversicolor*. A. Photographs showing sex differentiation into testis with clusters of numerous spermatogonia (arrowheads) and spermatocytes (arrows). B, Especially active spermatogenesis were observed on the ridge (10 MAH, <18.1 mm SL).

Table 2. Morphological features of gonad development stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 8 to 10 MAH

Month after hatching	SL (mm)	N	Stages of gonad development							
			Sex undifferentiation			Sex differentiation				
			UD	GC	GOC	Ov	pno	od	pyg	syg
						Te	sg	sc	st	sz
8 MAH	20.1-21.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	19.1-20.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	18.1-19.0	5	-	-	4	Ov	-	-	1	-
	17.1-18.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16.1-17.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	15.1-16.0	3	-	-	3	-	-	-	-	-
	14.1-15.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13.1-14.0	2	-	-	2	-	-	-	-	-
	Total	13	0	0	12	Ov	0	0	1	0
9 MAH	20.1-21.0	3	-	-	2	Ov	-	-	1	-
	19.1-20.0	1	-	-	-	Ov	-	-	1	-
	18.1-19.0	2	-	-	1	Ov	-	1	-	-
	17.1-18.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	16.1-17.0	2	-	-	1	Ov	-	1	-	-
	15.1-16.0	2	-	-	1	Ov	-	1	-	-
	14.1-15.0	4	-	-	4	-	-	-	-	-
	13.1-14.0	4	-	-	4	-	-	-	-	-
	Total	19	0	0	14	Ov	0	3	2	0

Table 2. continued

Month after hatching	SL (mm)	N	Stages of gonad development							
			Sex undifferentiation			Sex differentiation				
			UD	GC	GOC	Ov	pno	od	pyg	syg
						Te	sg	sc	st	sz
10MAH	28.1-29.0	1	-	-	-	Te	1	-	-	-
	27.1-28.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26.1-27.0	2	-	-	1	Te	-	1	-	-
	25.1-26.0	1	-	-	-	Ov	-	-	-	1
	24.1-25.0	2	-	-	1	Te	1	-	-	-
	23.1-24.0	2	-	-	1	Te	-	1	-	-
	22.1-23.0	1	-	-	-	Ov	1	-	-	-
	21.1-22.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20.1-21.0	2	-	-	-	Ov	-	-	2	-
	19.1-20.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18.1-19.0	3	-	-	2	Te	1	-	-	-
	Total	14	0	0	5	Ov	1	0	2	1
						Te	3	2	0	0

GC, gonad cavities; GOC, gonocytes; N, number of the juvenile; SL, Shell length; OD, oil droplet stage oocytes; Ov, Ovary; PNO, perinucleolar stage oocytes; PYG, primary yolk globule stage oocytes; SC, spermatocytes; SG, spermatogonia; ST, spermatids; SYG, secondary yolk globule stage oocytes; SZ, spermatozoa; Te, Testis; UD, undifferentiation stage.

3) 성 결정

부화 후 11개월 치패(<19.0 mm SL)에서는 난소 분화와 정소 분화가 각각 36.4%이며 생식소내 생식원세포들이 출현하는 미분화기의 개체들은 27.3%이였다. 부화 후 12개월 치패(<17.0 mm SL)는 성 분화가 96.3%가 이루어졌으며, 성 결정이 이루어져 난소와 정소가 발달하였다(Table 3). 난소내의 생식상피에는 난원세포, 유구기, 1차 난황구기 그리고 젤리층을 갖는 2차 난황구기인 난모세포 등을 관찰 할 수 있었다(Fig. 9A). 정소는 생식상피를 중심으로 정원세포, 정모세포, 그리고 변태과정중인 정세포와 성숙정자들로 구성된 위층상 다층배열구조로 존재하였다(Fig. 9B).

부화 후 12개월에 조사한 26개체의 치패 중 암컷은 15마리(57.7%)이었으며, 수컷은 10마리(38.5%)이었다. 그리고 성분화가 이루어지지 않은 1개체 치패(3.8%)가 관찰 되었다(Table. 3).

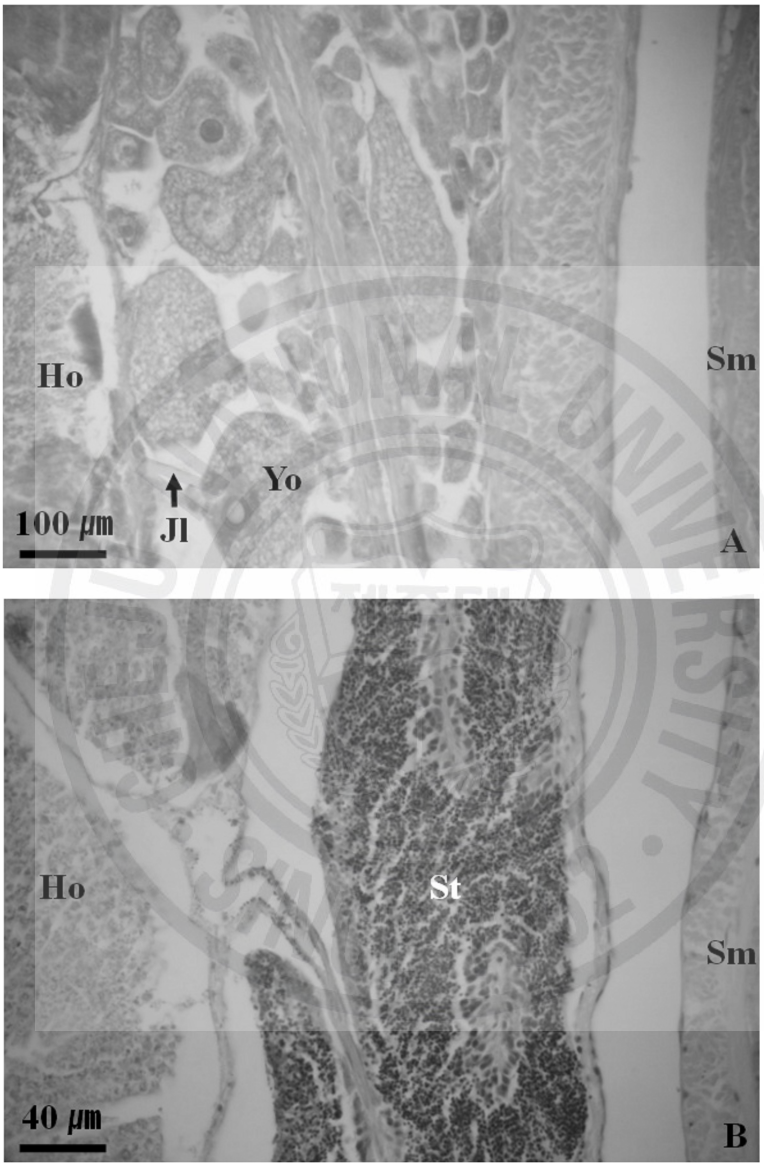


Fig. 9. Photographs showing sex determination of gonad in juvenile *H. diversicolor*. A, Ovary contained immature oocytes and secondary yolk globule stage oocyte (Yo) with jelly layer (Jl). B, Testis showed psedostratified arrangement structure with active spermatogenesis (St). Ho, Hepatopancreatic organs; Sm, Shell muscle.

Table 3. Morphological features of gonad development stage during sex differentiation in juveniles *H. diversicolor* from 11 to 12 MAH

Month After Hatching	SL (mm)	N	Stages of gonad development							
			Sex undifferentiation			Sex differentiation				
			UD	GC	GOC	Ov	pno	od	pyg	syg
						Te	sg	sc	st	sz
11 MAH	28.1-29.0	2	-	-	-	Ov	-	-	1	-
						Te	1	-	-	-
	27.1-28.0	2	-	-	-	Ov	-	-	1	-
						Te	1	-	-	-
	26.1-27.0	1	-	-	-	Ov	-	-	1	-
	25.1-26.0	1	-	-	-	Te	1	-	-	-
	24.1-25.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	23.1-24.0	1	-	-	-	Te	1	-	-	-
	22.1-23.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21.1-22.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	20.1-21.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	19.1-20.0	1	-	-	-	Ov	-	-	1	-
	Total	11	0	0	3	Ov	0	0	4	0
						Te	4	0	0	0

Table 3. continued

Month After Hatching	SL (mm)	N	Stages of gonad development							
			Sex undifferentiation			Sex differentiation				
			UD	GC	GOC	Ov	pno	od	pyg	syg
						Te	sg	sc	st	sz
12MAH	30.1-31.0	2	-	-	-	Ov	-	-	2	-
	29.1-30.0	1	-	-	-	Ov	-	-	1	-
	28.1-29.0	1	-	-	-	Te	-	-	-	1
	27.1-28.0	2	-	-	-	Ov	2	-	-	-
	26.1-27.0	1	-	-	-	Te	-	-	1	-
	25.1-26.0	2	-	-	-	Ov	-	-	1	-
						Te	-	-	-	1
	24.1-25.0	4	-	-	-	Ov	-	1	1	1
						Te	-	-	1	-
	23.1-24.0	2	-	-	-	Ov	-	-	-	1
						Te	-	-	-	1
	22.1-23.0	5	-	-	-	Ov	-	-	1	1
						Te	1	-	2	1
	21.1-22.0	2	-	-	-	Ov	-	-	-	1
						Te	-	-	-	1
	20.1-21.0	1	-	-	1	-	-	-	-	-
	19.1-20.0	2	-	-	-	Ov	-	1	-	-
						Te	1	-	-	-
	18.1-19.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17.1-18.0	1	-	-	-	Ov	-	-	1	-
	Total	26	0	0	1	Ov	2	2	7	4
						Te	2	0	3	5

GC, gonad cavities; GOC, gonocytes; N, number of the juvenile; SL, Shell length; OD, oil droplet stage oocytes; Ov, Ovary; PNO, perinucleolar stage oocytes; PYG, primary yolk globule stage oocytes; SC, spermatocytes; SG, spermatogonia; ST, spermatids; SYG, secondary yolk globule stage oocytes; SZ, spermatozoa; Te, Testis; UD, undifferentiation stage.

Ⅲ. 고 찰

해양 동물의 성 분화 양상은 시원생식세포의 유래, 생식소강 형성, 생식원 세포의 출현과 분열상을 토대로 성 분화 과정을 조사하고 있다. 생식소강 형성에 있어서 열대 전복류인 참전복의 생식소강 형성은 부화 후 2개월(각장 <7.1 mm)인 개체에서 생식소강 형성이 이루어진다(Awaji and Hamano, 2004). 이 연구에서 오분자기는 부화 후 2개월(각장 <4.0 mm) 치패에서 생식소강이 형성되었다. 이와같은 결과는 참전복과 오분자기에서 생식소강 형성은 부화 후 2개월부터 이루어지며, 개체 크기 차이는 종 특이성이라고 사료된다.

전복류의 생식소강 위치는 참전복의 경우 소화맹낭을 에워싸고 있는 결합 조직층 내의 좁은 빈공간으로 존재한다(Awaji and Hamano, 2004). 오분자기의 생식소강의 최초 형성 위치와 형태는 참전복과 일치하나 치패가 성장발달 함에 따라 외층인 육질부와 중간층인 육질부에 연결된 가느다란 결합조직인 근육층 그리고 내층 간췌장의 상피조직으로 이루어진 중앙부위에서 빈공간인 생식소강이 최초 형성된 후 간췌장의 상피조직을 따라 선단부와 후단부로 격막으로 분할 구획되어 생식소강이 형성되어 신장하였다. 이후 치패가 성장함에 따라 중간부인 근육층과 외층인 육질부의 일부분에서도 생식소강이 존재하였다.

생식원세포의 출현은 부화 후 3개월(각장 <7.1 mm SL) 참전복의 생식소강내에는 시원생식세포들이 관찰되며(Awaji and Hamano, 2004), 중복족목 *Viviparus viviparus*의 시원생식세포는 위심강 조직에서 기원한다(Griffond, 1977). 오분자기 치패의 경우 생식소강에 정사각형, 원형 등 다양한 모양의 생식원세포(gonocyte)가 단층배열로 체세포인 내피세포들과 존재하였다. 생식원세포는 체세포인 내피세포와는 형태학적으로 다른 비생식세포와 함께 존재하였다. 오분자기 치패의 생식원세포는 성 분화 전단계 시기부터 비생식세포와 함께 존재하는 것으로 볼 때 비생식세포는 생식원 세포들이 성장발달 및 성 분화에 생리적인 상호 연관성이 있는 것으로 판단되나 보다 구체적인 세포학적 및 생리학적인 연구가 필요하다.

참전복의 성 분화 양상 중 난소 분화는 부화 후 8개월(각장 <21 mm) 치패의 28%가 최초로 난소로 성 분화가 이루어졌다(Awaji and Hamano, 2004). *H. tuberculata*에서도 난소로 성 분화가 먼저 이루어진 후 정소로 성 분화가 이루어 졌

다(Hayashi, 1980). 오분자기 치패의 성 분화는 부화 후 8개월(각장 18.1 mm)인 치패에서 난원세포, 유구기 난모세포 그리고 1차 난황구기 난모세포가 존재하는 난소 분화를 관찰할 수 있었다.

참전복의 성 분화시기 난소내에는 생식세포가 아닌 2가지 유형의 세포 즉 호산성 과립세포와 유구기 생식세포와 함께 존재하는 여포세포 등이 존재하였다(Awaji and Hamano, 2004). 오분자기의 난소 분화시 호산성과립세포는 관찰할 수 없으나, 유구기 난모세포의 세포막에 여포세포가 존재하여 참전복의 경우와 유사하였다.

참전복의 정소 분화는 부화 후 18개월 치패(각장 ≤29 mm)의 생식소에서 활발한 정자 형성과정을 관찰할 수 있는 정소 분화가 이루어진다(Awaji and Hamano, 2004). 오분자기 치패의 정소 분화는 부화 후 10개월 치패(각장 ≤18 mm)에서 정소 분화가 이루어졌다. 참전복과 오분자기 정소 분화 형성시기 차이는 종 특이성과 환경요인에 기인된다고 사료된다. 오분자기 정소 분화는 난소 분화와는 상이한 조직형태학적인 특징을 보여 생식상피에서 간췌장쪽으로 신장 발달하는 돌기상 ridge에서 활발한 정자 형성과정을 관찰할 수 있었다. 오분자기는 성 분화시기에 정소와 난소로 각각 분화하는 자웅이체임을 알 수 있었다.

참전복의 성 분화 이후 생식소 발달 과정을 조사한 연구에서 부화 후 18개월(각장 29-43 mm) 치패에서 암컷의 38%개체가 1차와 2차 난황구기 난모세포가 존재하였으며, 수컷의 82%개체에서 성숙 정자가 존재하였다. 그리고 성숙한 난소내에 존재하는 유구기와 난황구기 난모세포에는 여포세포와 생식상피에는 과립세포가 존재하며, 성숙 정소에는 정원세포들 사이에 신장된 핵을 갖는 비생식세포가 관찰되었다(Awaji and Hamano, 2004).

부화 후 12개월 오분자기 치패(각장 ≤17 mm)의 난소내 난모세포에는 여포세포가 존재하나 참전복의 생식상피에 존재하는 호산성 과립세포는 관찰할 수 없었다(Awaji and Hamano, 2004). 전복류의 여포세포에 대한 미세구조적 특징은 밝혀졌으나(Apisawetaka et al., 2001a), 최근 연구에서 전복류의 여포세포는 난황전구물질인 vitellogenin를 형성한다는 연구가 있다(Matsumoto et al., 2008). 따라서 난모세포의 세포막에 존재하는 여포세포는 난모세포의 성장발달에 직·간접적으로 생리적인 상호관련이 있다고 판단된다. 호산성 과립세포는 참전복 치패 난소 생식상피에 존재하나 오분자기 치패 난소 생식상피에서는 관찰 할 수 없었다. 그러나 오분자기 성패 암·수 생식상피에는 호산성 과립세포를 다수 관찰할 수 있었다. 이와같이 생식

상피에 존재하는 호산성과립세포는 생식세포의 산란과 방정에 관여하는 egg-laying hormone 세포라는 연구 결과가 보고되었다(Apisawetakan et al., 2001b; Chanpoo et al., 2001). 호산성 과립세포의 기능과 형태적인 특징에 대한 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY
제주대
SINCE 1952

제 2장. 생식소 발달

Ⅰ. 서 론

생식세포 발달 과정의 형태학적 특징은 종 특이적이며 종 연속성을 유지하는 번식 생물학적인 특성을 갖는다. 난 형성과 정자 형성 과정 등의 미세구조적 특징을 탐색하는 것은 해양동물의 번식특성과 효율적인 자원관리 평가에 중요한 요소 중에 하나가 된다.

전복류의 정자 형성 과정은 참전복, *H. rufescens*, 그리고 오분자기 등에 대한 조직 형태학적인 연구가 수행되었다(Tomita, 1968; Young and DeMartini, 1970; Takashima et al., 1978). 전복류인 *H. asinina*의 정자 형성 과정의 미세구조적 특징에 관한 연구가 있다(Sobhon et al., 2001).

전복류의 난 형성 과정은 생식세포의 세포 소기관의 발달 정도에 따라 참전복은 7 단계, 오분자기는 9 단계 발달 과정으로 분류하고 있다(Tomita, 1967; Takashima et al., 1978). 그리고 *H. rufescens*는 4 단계 또는 5 단계 발달 과정으로 구분하였으며(Martin et al., 1983; Young and DeMartini, 1970), *H. asinina*는 6 단계로 구분하였다(Apisawetakan, 2001a). 전복류의 생식세포 발달과정은 생식세포의 세포 소기관의 발달 과정에 따라 서로 다른 분류 단계로 구분하는 경향이 있다.

생식소의 상피조직과 생식상피에 관한 연구는 참전복(Tomita, 1967), *H. cracherodii* (Webber and Giese, 1969), *H. rufescens* (Young and DeMartini, 1970; Giorgi and DeMartini, 1977), 오분자기(Takashima et al., 1978), *H. ovina* (Jarayabhand et al., 1994; Minh, 1998) 그리고 *H. asinina* (Apisawetakan et al., 1997; Sobhon et al., 1999) 등을 대상으로 미세구조와 조직학적 연구가 수행되었다.

전복류의 난 형성 과정 중 난황 물질 형성과 난황층 및 젤리층의 형성 과정 등 일련의 미세구조적인 특징에 대한 연구는 미비한 실정이며, 오분자기의 정자 형성 과정 중 첨체 분화 형성 및 성숙 정자의 미세구조적 특징에 대한 연구가 미진하다.

이 연구는 오분자기 생식세포 발달 과정에 따fms 정자 형성 과정, 난 형성 과정,

생식소의 결합조직 그리고 생식상피 내에 존재하는 세포 등에 대한 미세구조적 특징에 따라 구조와 기능을 탐색하여 오분자기의 번식특성을 규명하고자 하였다.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY
제주대
SINCE 1952

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 오분자기 시료

이 연구에 사용된 오분자기는 생식소가 성숙시기인 2006년 7월과 8월과 분열증식기인 2007년 3월 제주특별자치도 서귀포시 성산읍 성산포 연안에서 해녀들이 채집하였다. 채집한 재료는 Vernier calliper를 이용하여 각고와 각장을 0.01 ㎝까지 측정하였으며, 전중량, 육중량 그리고 생식소 중량(간췌장 포함) 등은 전자저울(Sartorius, BP 3100s)을 이용하여 0.01 g까지 측정하였다.

2. 조직학적 관찰

광학 현미경적 관찰을 위한 조직절편은 오분자기 생식소 선단부에서 길이가 1 cm 지점의 중심점 부위 조직절편(약 4 mm×5 mm)을 적출한 후 Bouin's 용액에 고정하여 Paraffin 상법에 따라 microtome (Reichert-Jung 820)을 사용하여 5-6 ㎛ 두께로 조직절편을 만들었다. 광학 현미경 관찰은 Hansen's haematoxylin과 0.5 % eosin으로 비교 염색 반응 후 광학 현미경(Carl Zeiss, HBO5)으로 조직 표본을 검경하였다.

전자 현미경적 관찰은 생식소 중심점 부위 소편을 적출하여 2.5% paraformaldhyde-glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.4) 용액에 2시간 전고정을 한 후 1% OsO_4 (phosphate buffer, pH 7.4)에 2시간 후고정을 하여 농도 상승순 에탄올로 탈수한 후 Epon 812에 포매 하였다. LKB-V ultramicrotome을 이용하여 1 ㎛두께로 절편을 만들어 toluidine blue로 단일 염색한 후 광학 현미경하에서 관찰부위를 확인한 후 80 nm의 초박절편을 만들었다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색을 한 후 JEOL JEM 1200 EX-Ⅱ 투과형 전자 현미경(60 Kv)으로 검경하였다.

3. 생식세포 형성

1) 난 형성

난 형성 과정은 광학 및 전자 현미경을 이용한 세포의 모양과 크기, 핵과 인의 형태, 유구와 난황구의 출현 양상 그리고 젤리층의 유무 등 형태학적인 특징에 따라 난원세포, 주변인기 난모세포, 초기 유구기 난모세포, 후기 유구기 난모세포, 초기 난황구기 난모세포, 후기 난황구기 난모세포 그리고 퇴행란 등 7 발달 단계로 구분하였다.

2) 정자 형성

정자 형성 과정은 광학 및 전자 현미경을 이용하여 세포의 모양과 크기, 핵의 모양과 염색질의 응축성과 과립성의 변화 양상, 그리고 세포 소기관의 발달 정도에 따라 세사기, 접합기, 태사기, 복사기, 이동기 등의 전기 과정인 1차 정모세포, 2차 정모세포, 정자변형 과정인 정세포, 미숙정자 그리고 성숙 정자 등으로 구분하였다.

Ⅲ. 결과

1. 난소 발달

1) 난 형성 과정

(1) 난원세포

난원세포(크기 8.0 ㎛)는 생식상피의 내벽에 존재하고, 핵(크기 5 ㎛)은 구형으로 핵질과 세포질은 투명하였다(Fig. 1A). 전자 현미경 관찰 결과 난원세포 대부분을 차지하는 난형인 핵(크기 5 ㎛)의 핵질은 euchromatin과 heterochromatin이 균일하게 분포하며 heterochromatin은 핵막을 따라 존재하거나 핵질에 덩어리 형태로 관찰되었다. 세포질내에는 크리스테가 변형된 미토콘드리아, 다수의 리보솜, 미로형의 조면 소포체 그리고 전자 밀도가 높은 섬유상의 Balbiani body (germinal dense body)가 존재하였다(Fig. 2).

(2) 주변인기 난모세포

초기 성장 단계인 주변인기 난모세포(크기 10 ㎛)는 구형의 핵이 세포질 대부분을 차지하며 핵질은 euchromatin이 발달하여 투명하게 관찰되었다. Hematoxylene에 농염된 4-5개 구형의 과립상 인을 갖는 주변인이 핵막 주변부를 따라 분포하였다(Fig. 1B).

(3) 유구기 난모세포

초기 유구기 난모세포(난경 50-70 ㎛)는 hematoxylene에 농염된 둥근 인을 갖으며 핵은 투명하게 관찰되었다. 세포질에는 공포상의 소수 유구 과립들이 세포질내에 존재하였다(Fig. 1C). 그 후 성장한 후기 유구기 난모세포(난경 100-120 ㎛)의 세포질내에는 다수의 공포상 유구 과립들이 분포하였다(Fig. 1D).

전자 현미경 관찰 결과 초기 유구기 난모세포는 둥근핵을 갖으며, 핵질은 euchromatin이 균질하게 분포하였다. 세포질에는 골지체, 조면소포체, 리보좀 그리고 유구가 존재하며 크기가 다양하고 전자밀도가 높은 과립들이 관찰되었다(Fig. 3A).

후기 유구기 난모세포의 핵질에는 euchromatin이 발달하여 투명하였고, 세포질에는 다양한 크기의 전자밀도가 높은 막성 과립(직경 0.3-2.0 ㎛)과 유구(크기 5-7 ㎛)가 관찰되었다. 세포막의 변형된 구조물인 미세융모는 유구기 난모세포의 세포막 유리면에 존재하였다(Fig. 3B).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY
제주대
SINCE 1952

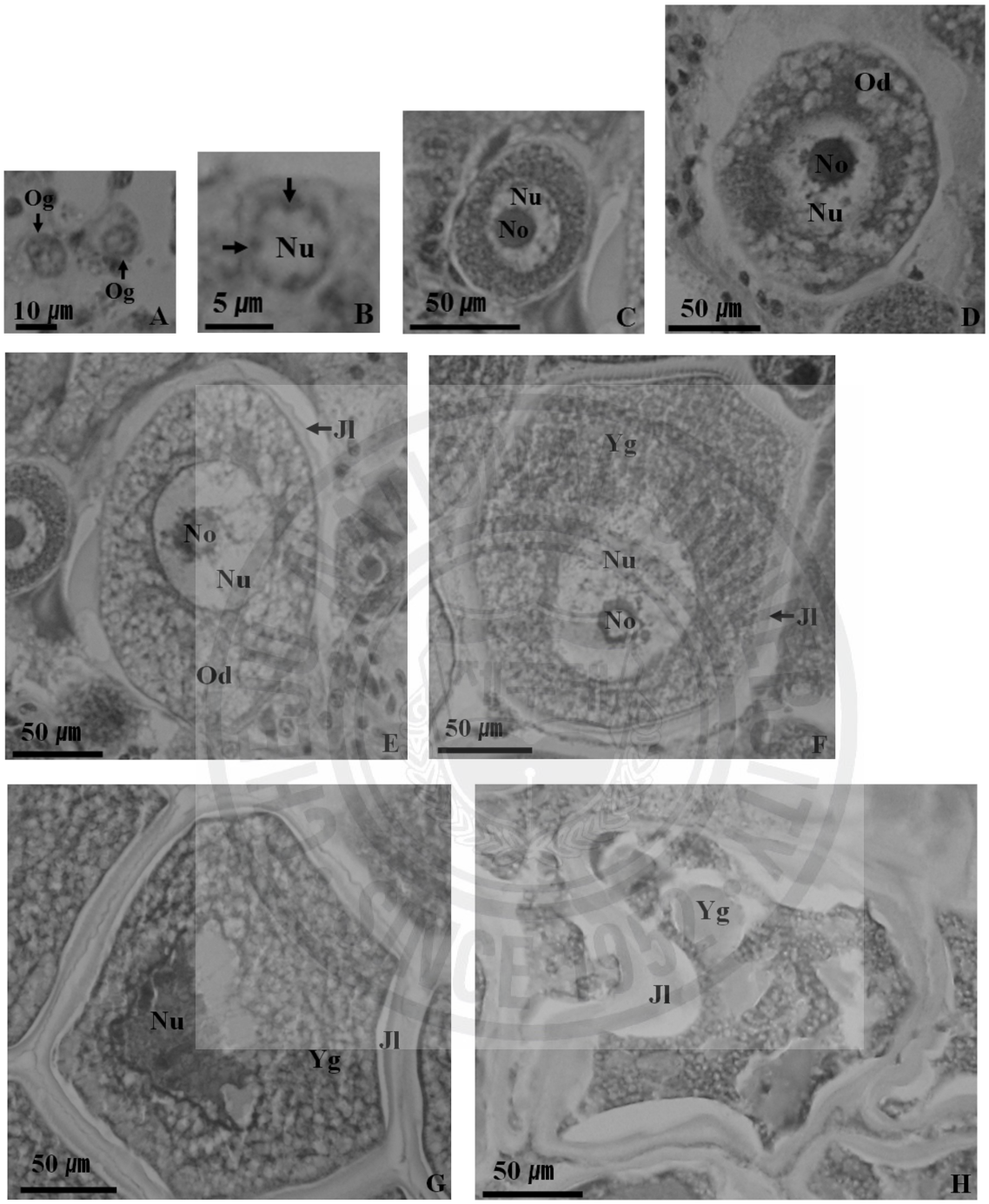


Fig. 1. Photographs of oogenesis in *H. diversicolor*. A, Oogonia; B, Perinucleolus stage oocyte; C, Early oil droplet stage oocyte; D, Late oil droplet stage oocyte; E, Primary yolk globule stage oocyte; F, Secondary yolk globule stage oocyte; G, Full mature stage oocyte; H, Degenerating stage oocyte. Jl, Jelly layer; No, Nucleolus; Nu, Nucleus; Od, Oil droplet; Og, Oogonia; Perinucleolus, arrows; Yg, Yolk globule.

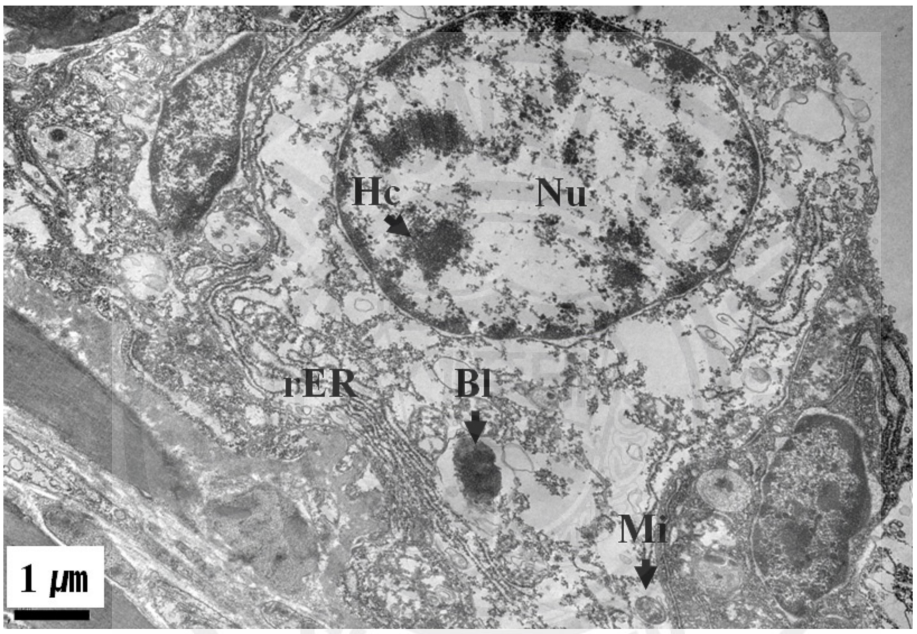


Fig. 2. Ultrastructure of oogonium in *H. diversicolor*. Oogonium (Og) surrounded by follicle cells (Fo) and containing oval nucleus (Nu). Patches of heterochromatin (Hc) distributed throughout nucleoplasm and lied close contact to the nuclear envelope. The cytoplasm contained transforming mitochondria (Mi), well developed rough endoplasmic reticulum (rER) and Balbiani body (Bl) consisting of high electron density fibrous materials.

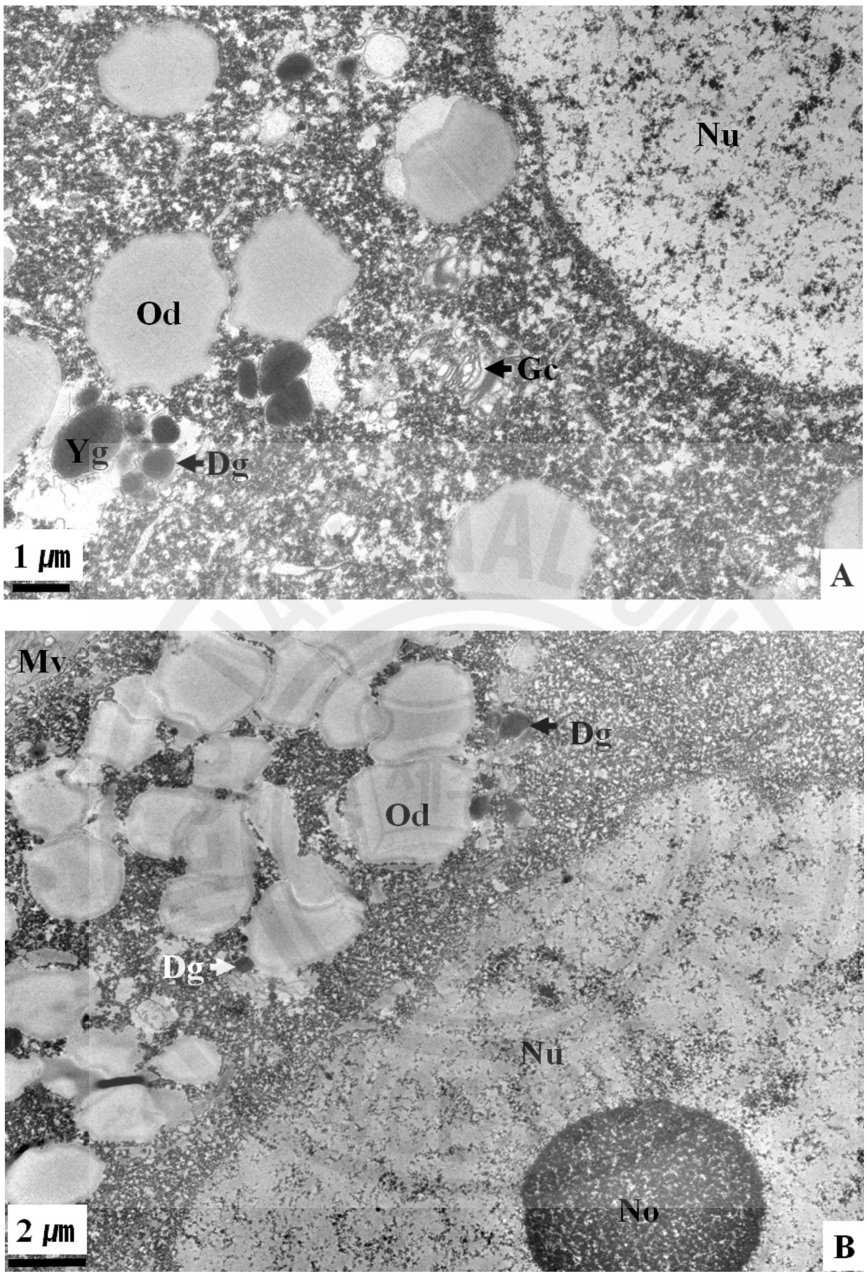


Fig. 3. Ultrastructure of early and late oil droplet stage oocyte in *H. diversicolor*. A, Early oil droplet stage oocyte showing the nucleus (Nu) with euchromatin. Cytoplasm consisted of several oil droplets (Od), a few high electron density granules (Dg) and well developed Golgi complex (Gc). B, Ultrastructure of late oil droplet stage oocyte. Its oocyte contained nucleus with prominent nucleolus (No). Cytoplasm was composed of several oil droplets and a few high electron density granules. Especially cell membrane of late oil droplet stage oocyte with microvilli (Mv).

(4) 난황구기 난모세포

광학 현미경 관찰 결과 초기 난황구기 난모세포(크기 120-150 ㎛)는 고리형의 뚜렷한 인을 갖는 둥근 핵은 투명하게 관찰되며, 세포질내에는 유구와 난황구 등이 존재하였다. 초기 난황구기 난모세포의 난막 외부는 비교적 불투명한 젤리층(두께 2.5 ㎛)이 관찰 되었다(Fig. 1E). 후기 난황구기 난모세포(난경 150-170 ㎛)는 세포질내에 유구와 난황구 등이 다수 분포하였다(Fig. 1F). 고리형의 뚜렷한 인을 갖는 난형의 핵이 존재하거나, 핵막이 거치화된 핵을 갖는 완숙단계인 후기 난황구기 난모세포가 관찰되었다(Fig. 1G).

전자 현미경 관찰 결과 초기 난황구기 난모세포의 세포질에는 조면소포체, 리보솜 그리고 발달한 골지체 등 세포 소기관이 발달하였다. 골지체의 성숙면에는 막성인 전자밀도가 높은 과립 등을 관찰할 수 있었다(Fig. 4A). 후기 난황구기 난모세포 세포질의 가장자리인 피질에는 다양한 모양의 피질과립(크기 1 ㎛), 성숙 난황구, 유구 그리고 전자밀도가 높은 과립(크기 0.2 ㎛) 등이 존재하였다(Fig. 4B). 성숙 난황구는 전자밀도가 높은 중심부인 crystalline core, 전자밀도가 낮은 electron lucent cortex 그리고 최외부를 둘러싸고 있는 한계막(limiting membrane) 등 3부분으로 구분되었다(Fig. 4C). 난막 외부에는 전자밀도가 낮은 난황층(두께 1 ㎛)과 전자밀도가 높은 젤리층(두께 4 ㎛)이 존재하였다(Fig. 4D).

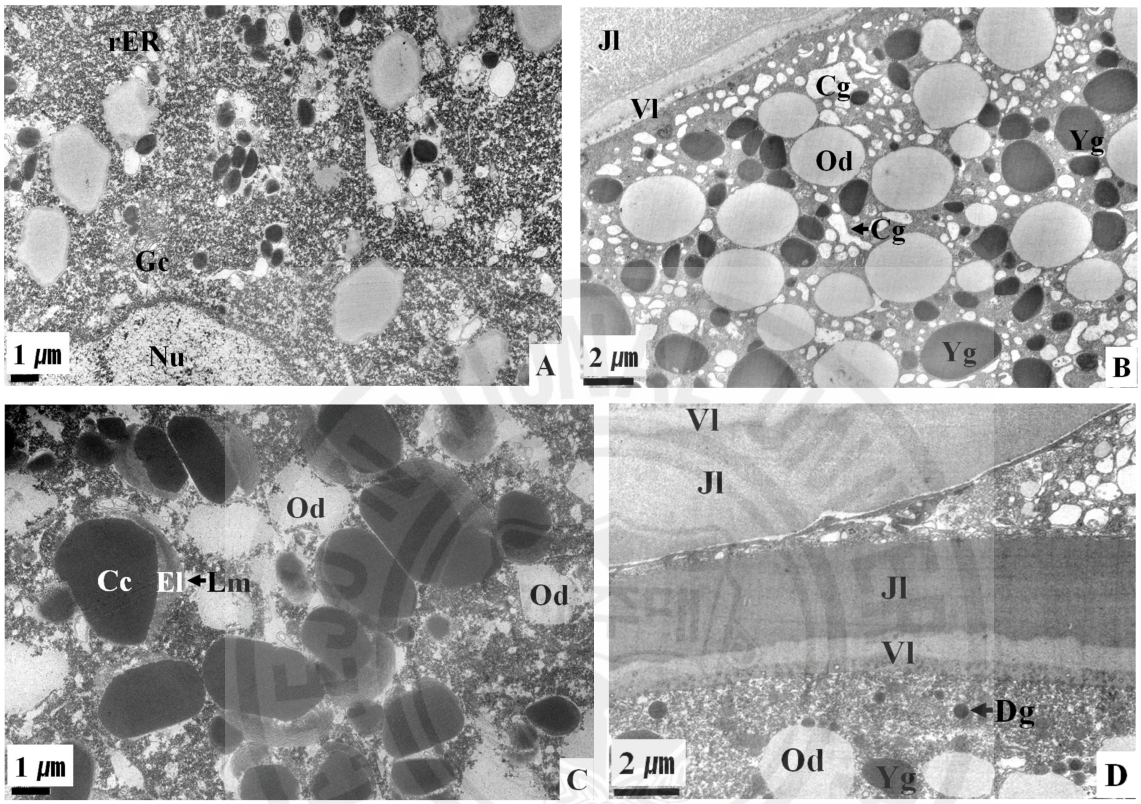


Fig. 4. Ultrastructure of yolk globule stage oocytes in *H. diversicolor*. A, Ultrastructure of early yolk globule stage oocyte. Cellular organelles such as rough endoplasmic reticulum (rER), ribosome and Golgi complex (Gc) developed in the cytoplasm. B, Ultrastructure of late yolk globule stage oocyte. In late yolk globule stage oocyte, mature yolk globules (Yg), oil droplets (Od), electron high density granules (Dg) and cortical granules (Cg) were observed in cytoplasm. C, Mature yolk globules consisted of a crystalline core (Cc), an electron lucent cortex (El) and a limiting membrane (Lm). D, The outer layer of egg envelope in late yolk globule stage oocyte was composed of two layers; vitelline layer (Vl) and jelly layer (Jl).

(5) 퇴행란

난소내에 잔존하여 퇴행에 접어든 퇴행난(크기 120-130 ㎛)은 동질성인 난황물질들이 서로 융합하여 유구와 난황구는 부정형의 덩어리 형태로 세포질에 존재하였다. 젤리층은 굴곡된 모양으로 잔여 난황물질을 에워싸고 있는 형태로 존재하였다(Fig. 1H).

(6) 여포세포

광학 현미경 관찰 결과 여포세포는 난 형성 과정 중 난원세포와 유구기 난모세포 등 세포막 외부에 존재하였고, 장타원형인 핵은 세포의 대부분을 차지하였다. 여포세포는 hematoxylene에 농염되었으며, 세포질은 매우 미약하게 관찰되었다. 여포세포는 난병의 생식상피 연접부와 유구기 난모세포의 세포막 외부에 2-3개가 존재하였다(Fig. 5A).

전자 현미경 관찰 결과 여포세포(크기 5 ㎛)에 존재하는 장타원형의 핵(크기 3 ㎛)은 세포질과 부분적으로 유리되어 관찰되었다. 핵의 중심부 핵질에는 euchromatin이 발달하나 핵질의 가장자리인 핵막 주변부에는 heterochromatin이 발달하였다. 세포질에는 크리스테가 변형된 미토콘드리아, 중심부에 전자밀도가 높은 섬유상의 물질을 갖는 액포, 조면소포체 그리고 리보솜 등 세포 소기관이 발달하였다(Fig. 5B, C).

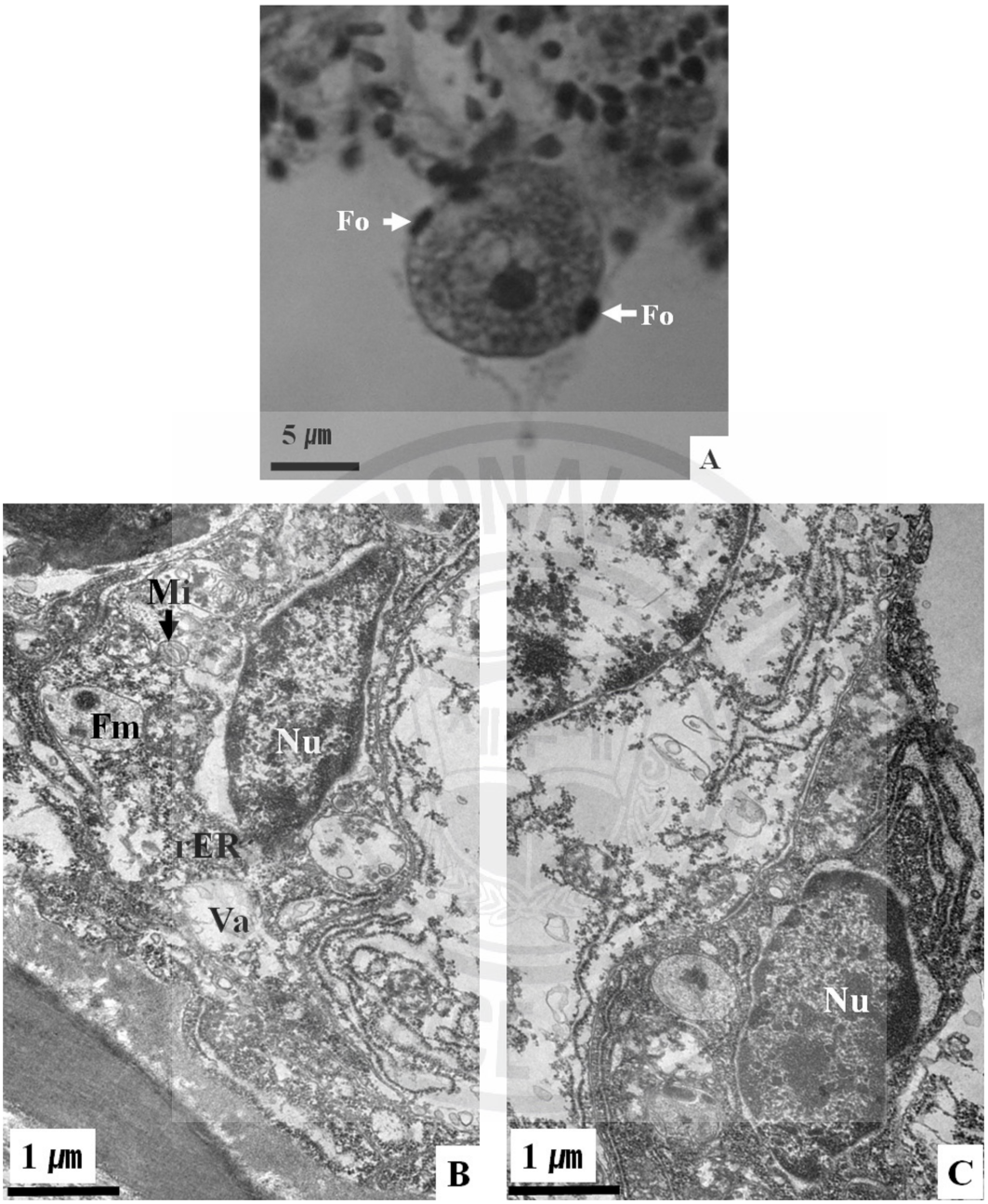


Fig. 5. Light micrographs and ultrastructure of follicle cells. A, Light micrographs of follicle cells (Fo) existing in oil droplet stage oocyte. B and C, Ultrastructure of follicle cells surrounding oogonium in *H. diversicolor*. A nucleus (Nu) characterized by a thick rim of heterochromatin lining inner regions of the nuclear envelope. The cyotoplasm contained a few mitochondria (Mi), flattened rough endoplasmic reticulum (rER) and membrane bound vacuoles (Va) filled with high electron density fibrous materials (Fm).

2) 난황 형성

난황 형성은 난 형성 과정의 형태학적인 특징인 난원세포와 난모세포의 세포 소기관의 미세구조적 형태, 난모세포의 세포 소기관에 의한 난황물질을 형성하는 자가형성 그리고 난모세포내로 난황물질이 유입되는 타가형성 등에 따라 난원세포기, 난황 형성 초기, 난황 형성 후기, 그리고 완숙 난모세포기 등으로 구분할 수 있었다.

(1) 난원세포기

난형의 난원세포(크기 8 ㎛)는 생식상피의 기저막에 존재하는 여포세포와 연접하여 존재하였다. 핵(크기 5 ㎛)은 원형으로 핵질에는 heterochromatin이 핵막을 따라 존재하거나,덩어리 형태로 관찰되며 대부분 euchromatin이 발달하였다. 세포질에는 미토콘드리아, 리보솜, 조면소포체 그리고 전자밀도가 높은 섬유상의 Balbiani body가 관찰되었다(Fig. 2).

(2) 난황형성 초기

난황형성 초기인 유구기 난모세포의 세포질에 존재하는 미로형의 골지체와 조면소포체 인접부에는 전자밀도가 높고 크기가 다양한 막성인 과립들이 관찰되었다(Fig. 6A). 난모세포의 세포질내에는 유구, 난황구 그리고 글리코겐 등이 존재하였고, 유구는 전자밀도가 높은 부분과 낮은 부분으로 구분되었다. 난모세포 유리면에는 세포막의 변형 구조물인 미세융모가 관찰되었다(Fig. 6B).

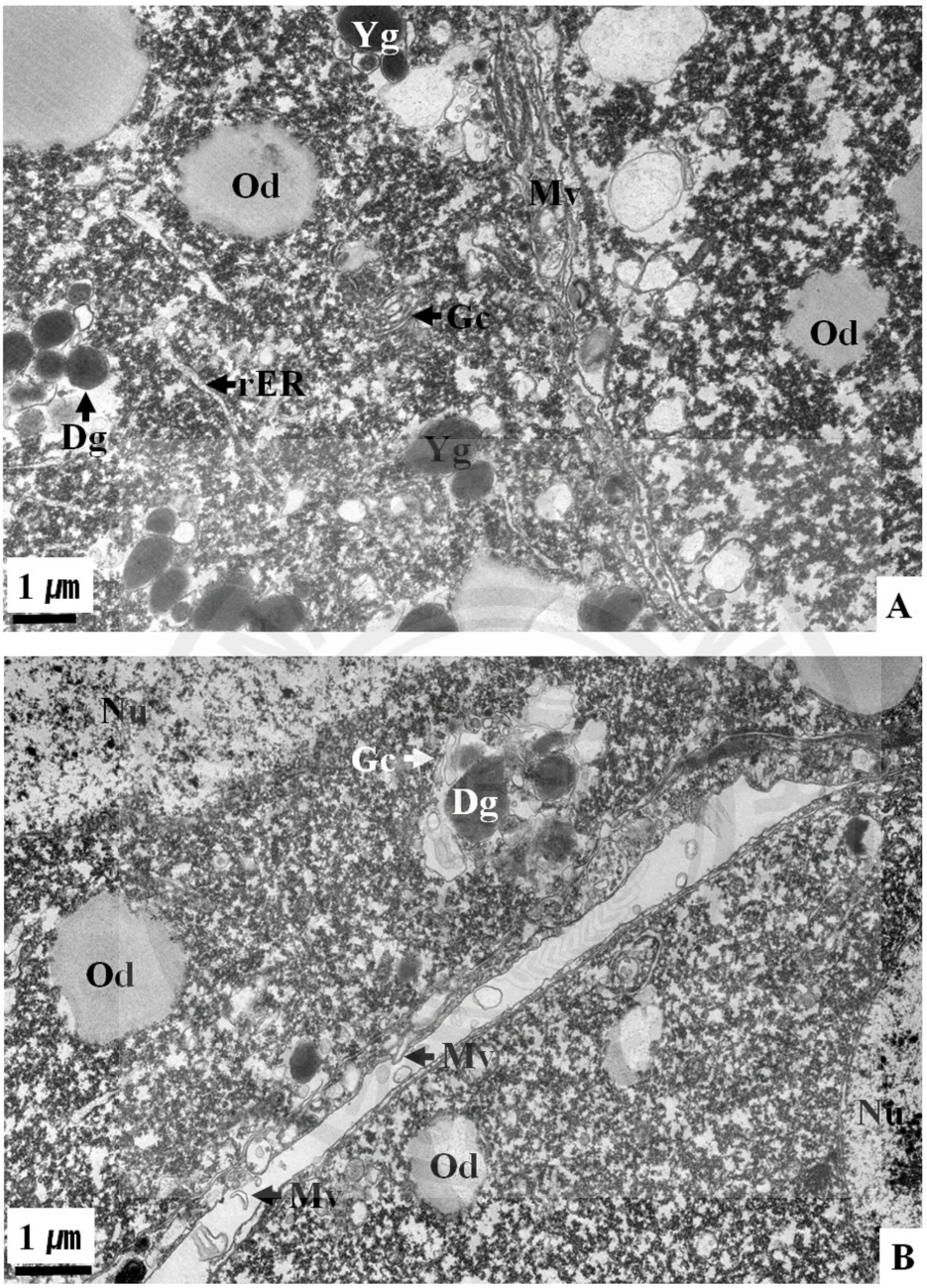


Fig. 6. Ultrastructure of early vitellogenic stage oocyte in *H. diversicolor*. A, Cytoplasm of early vitellogenic oocyte contained elements of rough endoplasmic reticulum (rER), well developed Golgi complex (Gc) with high electron density granules (Dg), yolk granules (Yg) and oil droplets (Od). B, Oil droplets, high electron density granules and Golgi complex were observed in the cytoplasm. Especially high electron density granules appeared in the mature surface of Golgi complex. Oil droplets were divided into two compartments; high electron density and low electron density parts. Cell membrane of early vitellogenic stage oocyte projected to form microvilli (Mv).

(3) 난황 형성 후기

난황 형성 후기인 난황구기 난모세포의 세포질에는 골지체와 조면소포체 등 세포 소기관이 발달하였고, 유구, 난황구, 전자밀도가 높은 과립 그리고 리보좀 등이 분포하였다(Fig. 7A). 성숙 난황구 주변부에는 과립의 크기가 다양하고, 전자밀도가 높은 과립들이 혼재하였다(Fig. 7B).

난황구기 난모세포들 사이의 공간에는 크기가 3-4 ㎛인 유구와 부정형의 난황물질이 미세융모의 pinocytosis에 의하여 난모세포의 세포질로 유입되는 현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 7C).

난황 형성 후기인 난황구기 난모세포는 젤리층에 존재하는 외인성인 성숙 난황구는 세포막의 변형된 돌기형 구조물에 에워싸여 있는 endocytosis인 pinocytosis 현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 7D).

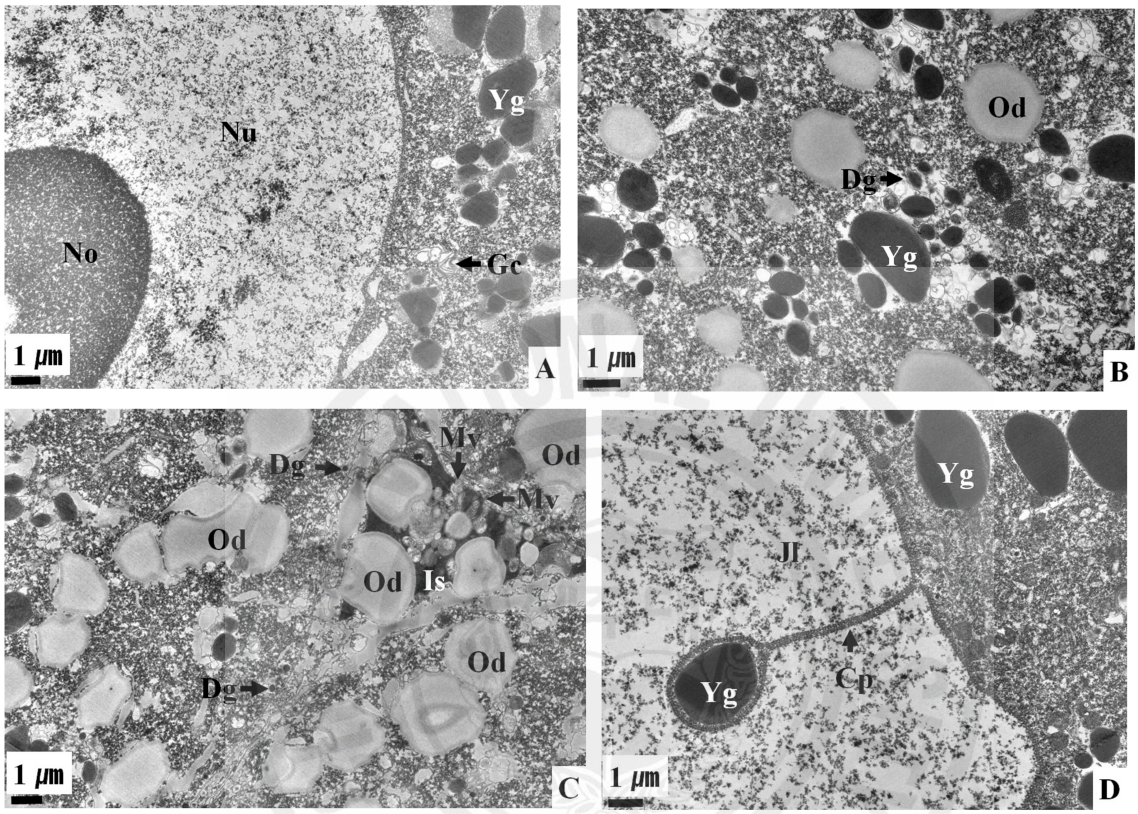


Fig. 7. Ultrastructure of late vitellogenic stage oocyte in *H. diversicolor*. A, Late vitellogenic stage oocyte showing the circular nucleus (Nu) with prominent nucleolus (No) and nucleoplasm was slightly condensed by heterochromatin. Cytoplasm consisted of Golgi complex (Gc), numerous yolk granules (Yg), high electron density granules (Dg) and oil droplet (Od). B, Membrane bounded granules of various sizes and high electron density existed near the peripheral region of mature yolk granule. C, Note a few oil droplets existed in the intercellular space (Is). Oil droplet was absorbed by pinocytosis by processes of microvilli (Mv). D, Mature yolk globule in jelly layer (Jl) was captured by process of cell membrane (Cp).

(4) 완숙 난모세포기

완숙난의 세포질에는 크기가 다양한 난형의 유구, 난황구 그리고 부정형의 피질과립 등이 혼재하였다(Fig. 8A). 완숙 난모세포의 성숙 난황구는 타원형과 장타원형 등 모양은 다양하나, 전자밀도가 높은 중심부인 crystalline core, 전자밀도가 낮은 electron lucent cortex 그리고 난황구를 둘러싸고 있는 한계막 등 3부분으로 구분되어 관찰되었다(Fig. 8B).

완숙 난모세포의 난막 외부를 둘러싸고 있는 층은 전자밀도에 따라 전자밀도가 낮은 난황층(두께 1 ㎛)과 높은 젤리층(두께 5 ㎛) 등으로 구분할 수 있었다(Fig. 8C).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

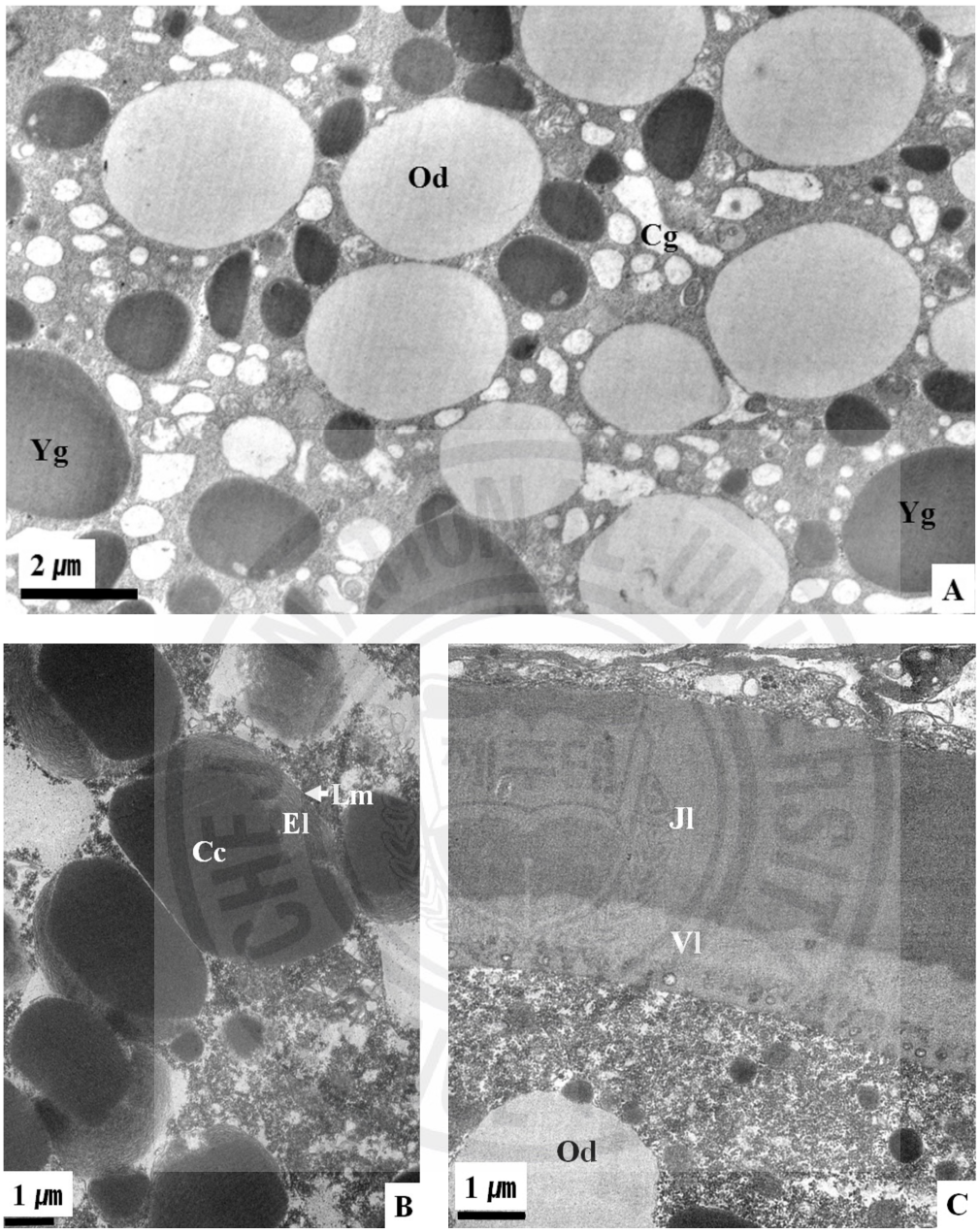


Fig. 8. Ultrastructure of mature stage oocyte in *H. diversicolor*. A, Mature stage oocyte showing each other compact arrangement with oil droplets (Od), yolk granules (Yg) and cortical granules (Cg). B, Ultrastructure of mature yolk granule. Mature yolk granules were composed of three parts : a crystalline core (Cc, electron density central core), an electron lucent cortex (El) and a limiting membrane (Lm). C, Fully mature oocyte with vitelline layer (Vl) and jelly layer (Jl). Note mature oocyte showing electron lucent internal layer (vitelline layer) and high electron density external layer (jelly layer).

3) 난황층과 젤리층 형성

초기 유구기 난모세포의 난막에는 세포막의 변형 구조물인 돌기상의 미세융모들이 존재하였다(Fig. 9A). 전자밀도가 높은 막성의 과립(크기 0.1-0.5 ㎛)들이 유구기 난모세포의 피질층 난막을 따라 분포하였다(Fig. 9B). 막성 과립이 미세융모에 의한 exocytosis에 의해서 섬유상의 물질로 구성된 젤리층 형성과정을 관찰할 수 있었다(Fig. 9C). 완숙 난모세포의 세포막 외부에는 전자밀도가 낮은 난황층(두께 1 ㎛)과 전자밀도가 높은 젤리층(두께 5 ㎛) 등으로 구분할 수 있었으며, 난황층은 전자밀도에 따라 막성 액포들이 존재하는 전자밀도가 높은 어두운 층과 비교적 전자밀도가 낮은 투명층 등 2층으로 구분되었다(Fig. 9D).

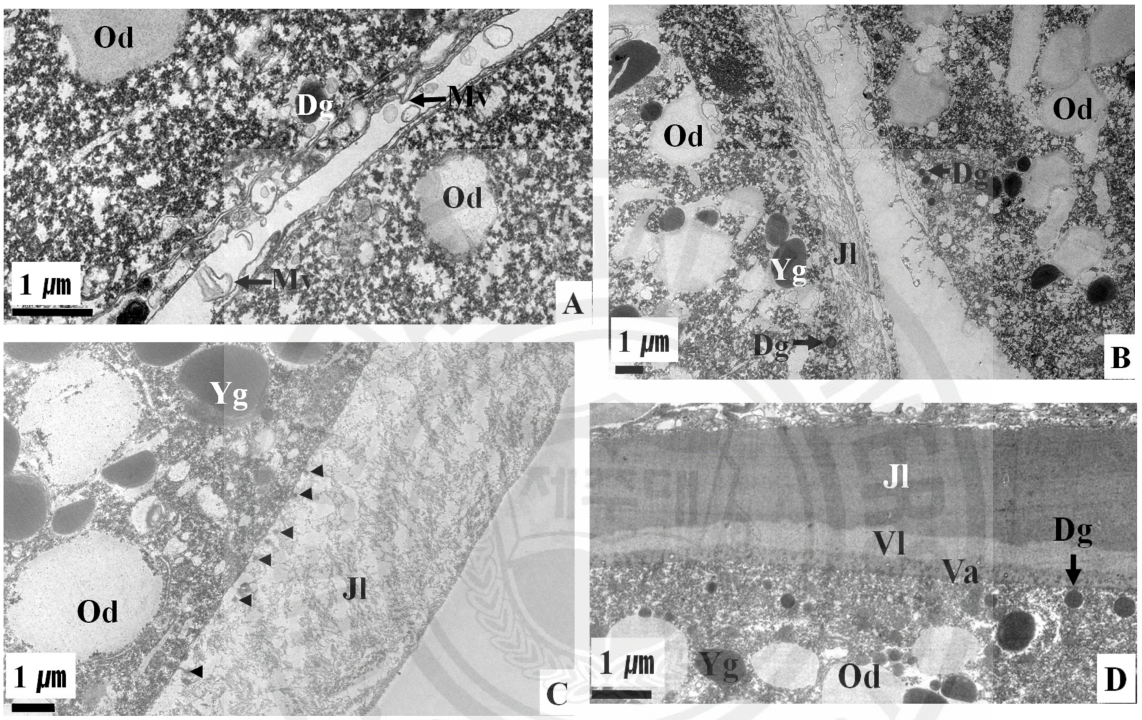


Fig. 9. Ultrastructure of showing the successive formation process of jelly layer and vitelline layer. A, Projections of cell membrane in oil droplet stage oocyte protruded to form microvilli (Mv). B and C, Jelly layer (Jl) was formed by exocytosis (arrowheads) of high electron density granules (Dg) in yolk granule stage oocyte. Note electron density granules lying in the cytoplasm. D, Later vitelline layer (Vl) was formed. Note vitelline layer consisted of numerous membrane bounded vacuoles (Va) appearing in dark regions and electron lucent fibrous materials (light regions). Finally mature oocytes with vitelline layer and jelly layer.

2. 정소 발달

1) 정자 형성 과정

(1) 정원세포

광학 현미경 관찰에서 정소는 생식상피를 중심으로 가장 안쪽 층은 다수의 정원세포와 소수 정모세포, 중앙층은 다수 정세포와 소수 정모세포 그리고 바깥층은 정세포와 성숙한 정자들로 구성된 동심원상의 위층상 다층배열 구조를 하였다(Fig. 10A). 전자 현미경 관찰결과 정원세포(크기 6 ㎛)의 타원형 핵의 핵질에는 euchromatin이 발달하나 핵막 주변과 핵질에는 heterochromatin이 덩어리 형태로 존재하였다. 세포질에는 전자밀도가 높은 막성 과립, 크리스테가 변형된 미토콘드리아, 조면소포체, 리보솜 그리고 전자밀도가 비교적 높은 섬유상 물질이 덩어리 형태로 Balbiani body가 관찰되었다(Fig. 10B).

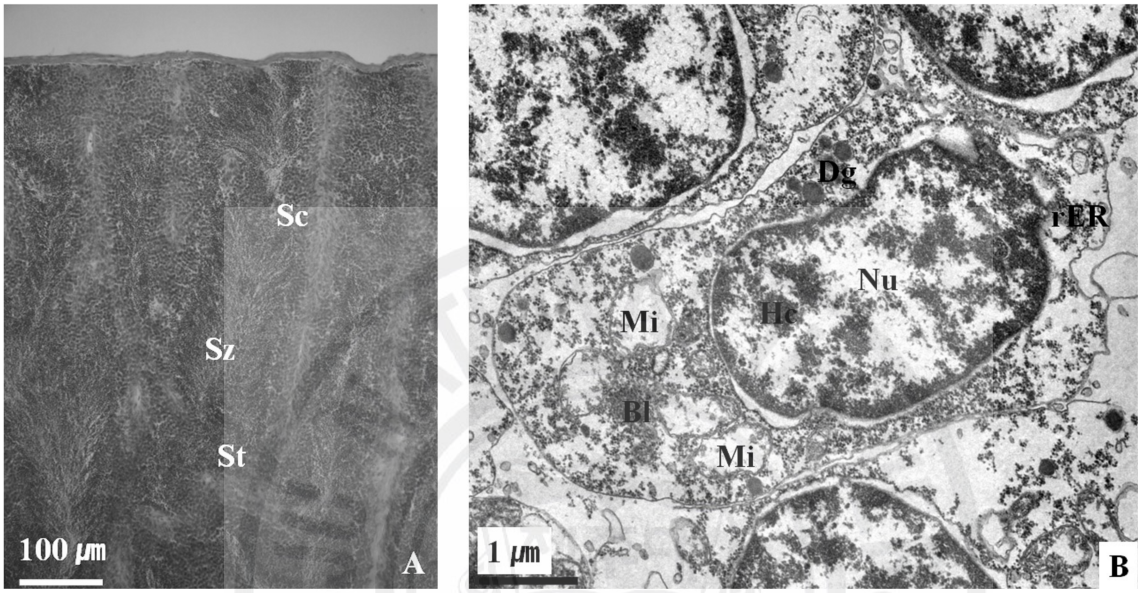


Fig. 10, Photographs of testicular gonad showing the three layers of gonadal tissue and ultrastructure of spermatogonium. A, Note different development stages of spermatogenic cells were distributed on the germinal epithelium : spermatogonia, spermatocytes (Sc), spermatids (St), spermatozoa (Sz). The most outer layer was composed of numerous spermatids and mature spermatozoa. In the middle layer existed a compact network of scattering numerous spermatids and a few spermatocytes. The most inner layer consisted of spermatogonia, spermatocytes and germinal epithelium. B, Ultrastructure of spermatogonium containing spheroidal nucleus (Nu). Patches of heterochromatin (Hc) scattered in the nucleoplasm and a clusters of heterochromatin lying along the nuclear envelope distributed. The cytoplasm contained a few transforming mitochondria (Mi), high electron density granules (Dg), rough endoplasmic reticulum (rER) and Balbiani body (Bl) consisting of electron dense fibrous materials.

(2) 1차 정모세포

광학 현미경 관찰결과 정원세포와 정모세포는 1차 감수분열에 의하여 숫적으로 증가하여 생식상피를 중심으로 동심원상 위층상 다층배열 구조를 하고 있었다(Fig. 10A). 전자 현미경을 이용하여 세포의 크기와 모양, 핵의 모양, 염색질의 응축성과 과립성의 변화양상 그리고 세포질내 세포 소기관의 발달 정도에 따라서 1차 정모세포와 2차 정모세포로 구분되었고, 1차 정모세포는 세사기, 접합기, 태사기, 복사기 그리고 관동기 등으로 구분되었다.

① 세사기 정모세포(크기 11 ㎛): 세포의 모양은 장타원형이며, 난형의 핵(크기 7 ㎛)을 갖는다. 핵질에는 euchromatin이 발달하나, heterochromatin은 핵막 주위에 또는 핵질에 덩어리 형태로 분포하였다. 세포 소기관은 크리스테가 일부분 변형된 미토콘드리아, 조면소포체, 전자밀도가 높은 과립이 세포질내에 존재하였다. 핵막은 세포질과 유리되어 빈 공간들을 관찰할 수 있었다(Fig. 11A).

② 태사기 정모세포(크기 6.3 ㎛): 세사기 정모세포보다 크기가 작고, 핵(크기 4.2 ㎛)은 원형으로 존재하였다. 전자밀도가 높은 interconnecting cord의 역할을 하는 heterochromatin이 존재하는 것이 특징이며, 첨체의 전구물질인 전자밀도가 높은 막성 전첨체 과립(proacrosomal granule, 크기 0.2 ㎛)들이 분포하였다(Fig. 11B).

③ 접합기 정모세포: 세사기 정모세포와 크기는 유사하나 핵질에 접합사 복합체로 짝을 이룬 덩어리 형 heterochromatin의 크기와 밀도가 증가하여 존재하였다. 첨체의 전구물질인 전자밀도가 높은 전첨체 과립(크기 0.3 ㎛)들이 관찰되었다(Fig. 11C).

④ 복사기 정모세포(크기 5.6 ㎛): 타원형 핵(크기 3.7 ㎛)의 핵질에는 chromatin cord가 두꺼워지면서 핵질의 전자밀도가 높아졌다. 세포질내에는 공포상의 액포와 첨체의 전구물질인 전자밀도가 높은 막성인 전첨체 과립이 다수 관찰되었다(Fig. 11D).

⑤ 이동기 정모세포(크기 6.5 ㎛): 난형의 핵질에는 비교적 전자밀도가 높은 heterochromatin과 전자밀도가 낮은 euchromatin이 발달하였다. 첨체전구물인 전첨체 과립이 크기가 0.3-0.5 ㎛로 커지고 핵막의 일부분 소실되는 특징과 더불어 염색체의 형태를 이루기 위해 염색질은 대부분 큰 heterochromatin로 존재하였다(Fig. 11E).

⑥ 중기정모세포(크기 5.8 ㎛): 난형의 핵으로 핵막은 부분적으로 소실되었고, 핵질에는 heterochromatin이 대부분 차지하며, 크리스테가 변형된 미토콘드리아가 존재하였다. 전자밀도가 높은 첨체 전구물인 전첨체 과립이 다수 존재하였다(Fig. 11F).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

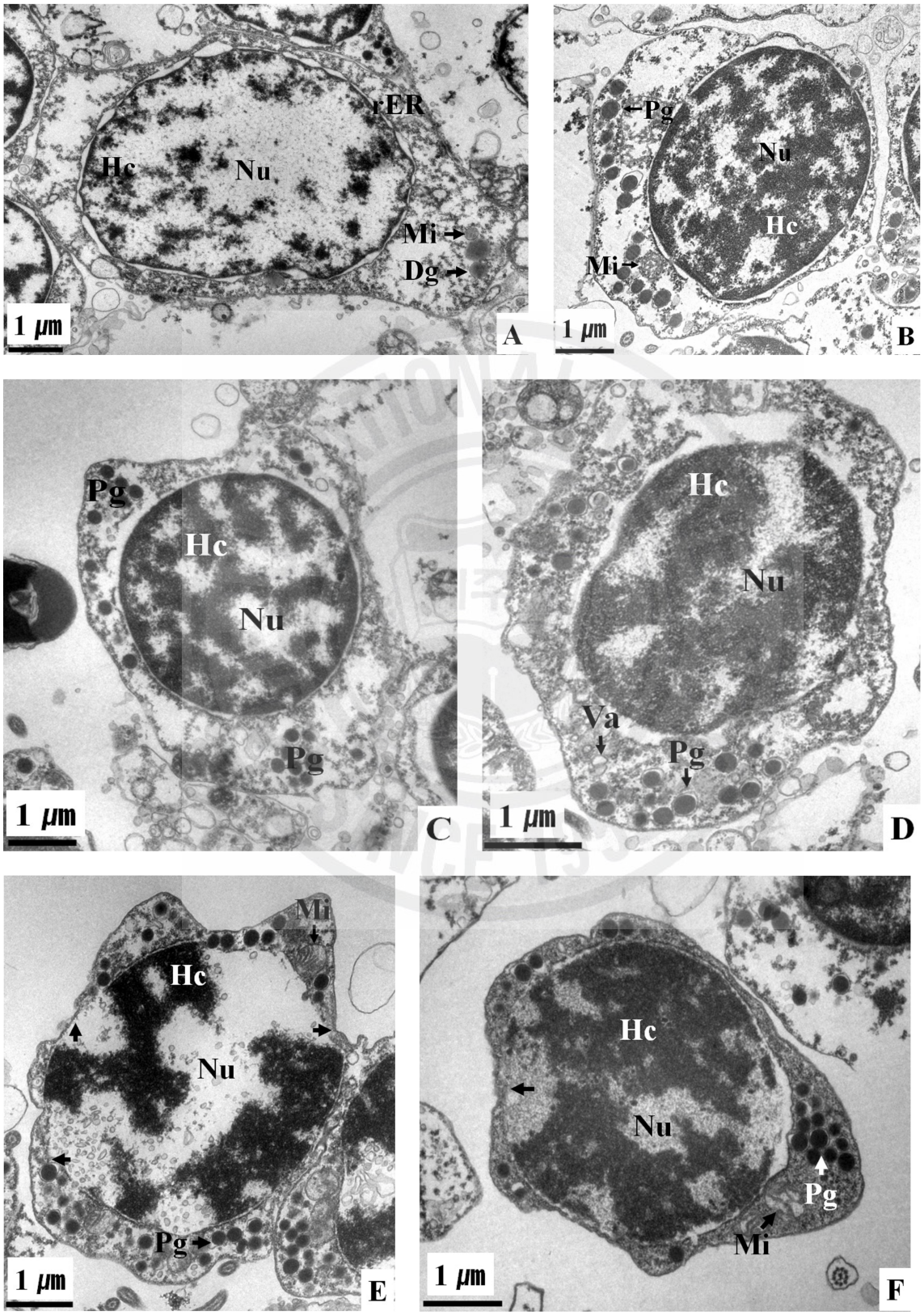

rER
Hc
Nu
Mi
Dg
1 μm
A
Pg
Nu
Hc
Mi
1 μm
B
Pg
Hc
Nu
Pg
1 μm
C
Hc
Nu
Va
Pg
1 μm
D
Mi
Hc
Nu
Pg
1 μm
E
Hc
Nu
Pg
Mi
1 μm
F

Fig. 11. Ultrastructure of spermatogenesis in *H. diversicolor*. A, Leptotene stage primary spermatocyte showing the oval nucleus (Nu). Numerous patches of heterochromatin (Hc) distributed throughout nucleoplasm and lied close contact with the nuclear envelop. The cytoplasm contained transforming mitochondria (Mi), high electron density granules (Dg) and rough endoplasmic reticulum (rER). B, Pachytene stage primary spermatocyte showing the oval nucleus, which contained large heterochromatin by interconnecting cord. Individual chromatin condensed and cytoplasm consisted of circular mitochondria, numerous membrane bounded proacrosomal granules (Pg) and rough endoplasmic reticulum. C, Zygotene stage primary spermatocyte showing the oval nucleus with increasingly condensed heterochromatin. Cytoplasm was composed of transforming mitochondria, a few electron dense granules and membrane bounded proacrosomal granules. D, Diplotene stage primary spermatocyte. The nucleus contained large patches of heterochromatin in nucleoplasm and a patches of heterochromatin existed lying along the nuclear envelope. The cytoplasm contained numerous proacrosomal granules and a few small vacuoles (Va). E, Diakinesis stage primary spermatocyte showing thick heterochromatin blocks that were parts of the completely forming chromosomes. The nucleus partially collapsed (arrows). The cytoplasm consisted of a few mitochondria, membrane bounded vacuoles and numerous proacrosmal granules. F, Metaphase spermatocyte. The nucleus contained large clumps of heterochromatin. The nucleus envelope (arrow) partially collapsed. Cytoplasm contained numerous proacrosomal granules.

(3) 2차 정모세포

2차 정모세포는 크기 4.3 ㎛정도로 작아지고, 교차의 증거인 checker board 또는 XY 모양을 나타내었다. 세포질에는 크리스테가 변형된 미토콘드리아와 전자밀도가 높은 첨체의 전구물질인 전첨체 과립들이 다수 존재하였다(Fig. 12).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY
제주대
SINCE 1952

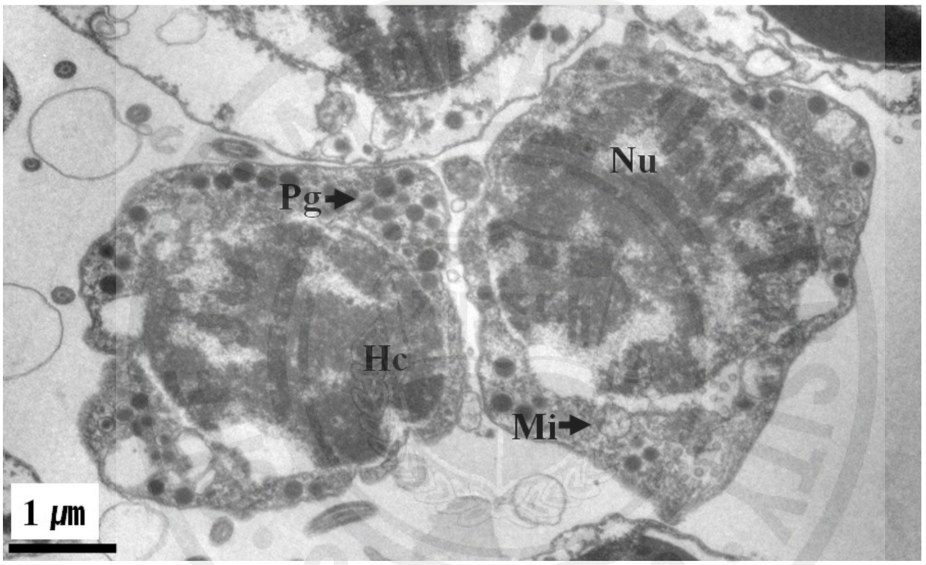


Fig. 12. Ultrastructure of secondary spermatocytes in *H. diversicolor*. Secondary spermatocytes contained oval nucleus (Nu) with the large clumps of heterochromatin (Hc) lying along the nuclear envelope and cytoplasm consisted of transforming mitochondria (Mi) and numerous proacrosomal granules (Pg).

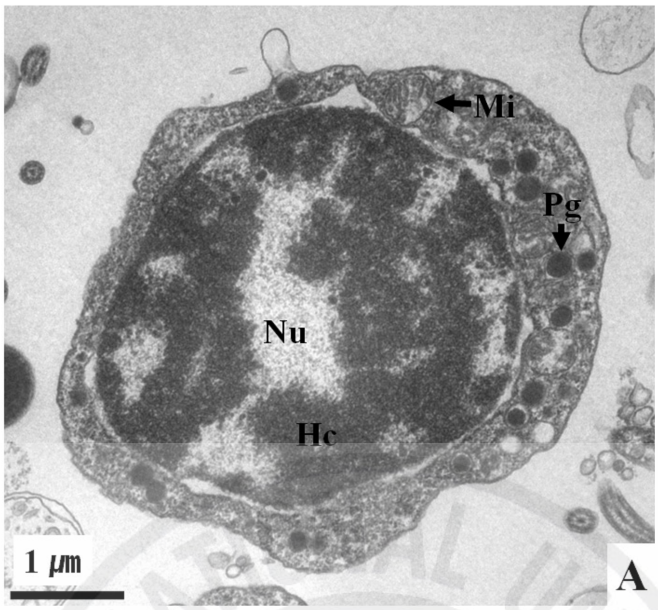
(4) 정자변형과 정세포

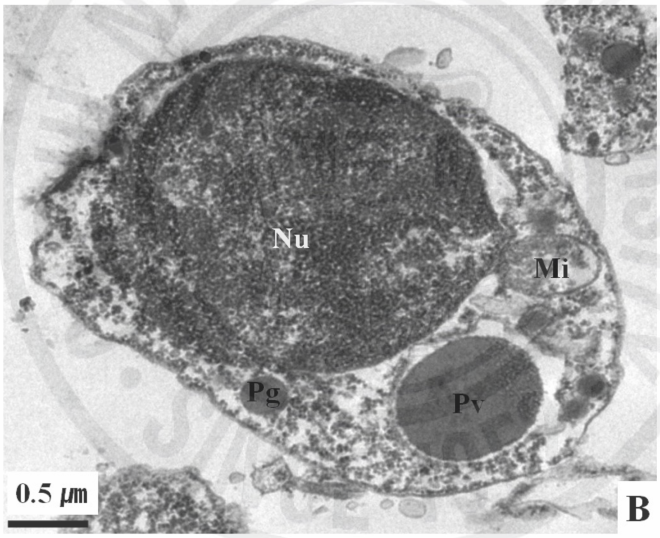
정세포는 세포의 모양과 크기, 핵의 위치와 모양, 염색질의 응축성과 과립성 그리고 전첨체 과립과 전첨체포(proacrosomal vesicle)의 형태 변화 및 미토콘드리아의 위치에 따라 3가지 유형의 정세포로 구분할 수 있었다.

① 제1유형 정세포(크기 4.2 ㎛): 제 2감수분열 말기의 정세포로서, 원형의 핵(크기 2.4 ㎛)을 가지며, 핵질에는 전자밀도가 높은 heterochromatin이 존재하고 euchromatin은 미약하게 관찰되었다. 세포질에는 미토콘드리아와 액포 등이 발달하며, 전자밀도가 높은 전첨체 과립(크기 0.3 ㎛)이 세포질내 다수 분포하였다(Fig. 13A).

② 제2유형 정세포(크기 3.9 ㎛): 모양은 타원형이며, 핵(크기 2.5 ㎛)은 세포질의 한쪽에 치우쳐 위치하였다. 이 정세포의 특징은 전첨체포(크기 0.7 ㎛)가 관찰되었으며, 염색질은 과립성을 보였다. 핵과 전첨체포는 일정부분 떨어진 상태로 존재하였다(Fig. 13B).

③ 제3유형 정세포(크기 3.3 ㎛): 이 세포는 제 1유형과 제 2유형보다 작아지며 세포막은 굴곡되었다, 전첨체포(크기 1.0 ㎛)는 큰 하나의 vesicle 형태로 관찰되었다. 사과형인 핵은 염색질의 응축에 의해 전자밀도가 높아졌으나, 전자밀도가 낮은 투명한 핵포(nuclear lacunae)도 존재하였다. 전첨체포는 함몰된 핵막(nuclear fossa) 인접부에 위치하였고, 전첨체과립은 관찰할 수 없으나 크리스테가 발달한 원형의 미토콘드리아가 전첨체포의 반대쪽에 위치하였다(Fig. 13C).


Mi
Pg
Nu
Hc
1 μm
A


Nu
Mi
Pg
Pv
0.5 μm
B

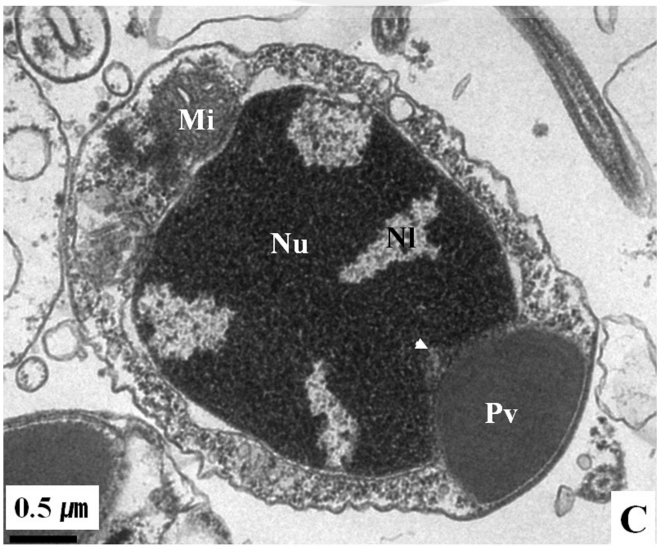

Mi
Nu
Nl
Pv
0.5 μm
C

Fig. 13. Ultrastructure of several type spermatids during spermiogenesis. A, Ultrastructure of spermatid Ⅰ (Type Ⅰ) showing oval nucleus (Nu) with circular clumps of heterochromatin (Hc) irregularly packed and cellular organelles such as transforming mitochondria (Mi) and proacrosomal granules (Pg) appeared. Especially membrane bounded proacrosomal granules scattered in one region of cyotoplasm. B, Spermatid Ⅱ (Type Ⅱ) with the nucleus contained coarse dense chromatin granular fibers. This cell contained slightly cytoplasm which consisted of transforming mitochondria, membrane bound proacrosomal vesicle (Pv) and proacrosomal granules. C, Spermatid Ⅲ (Type Ⅲ). Ultrastructure of longitudinal section through spermatid Ⅲ. The nuclear membrane showed nuclear fossa with a deeply invagination region (arrowhead). Nuclear lacunae (Nl) were observed in nucleoplasm.

(5) 미성숙정자

미성숙정자는 핵질을 구성하는 염색질의 미세구조적 특징인 과립성과 응축성에 따라 2가지 유형으로 구분되었다.

① 제1유형 미성숙정자: 제1유형 미성숙정자 첨체는 원형으로 핵과 연접하며 사과형 핵의 염색질은 구술형의 과립성을 보였다. 세포질은 풍부하였고, 2개의 원형 미토콘드리아, 미세소관의 생성기원이 되는 근위중심립과 원위중심립이 존재하였다(Fig. 14A).

② 제2유형 미성숙정자: 제2유형 미성숙정자 첨체는 원형 또는 아첨체 물질(subacrosomal materials)이 생성하는 부위가 함몰된 형태이며, 핵포를 갖는 핵은 염색질이 응축되어 제1유형 미성숙정자보다 전자밀도가 높았다. 굴곡된 세포막으로 둘러싸여 있는 세포질은 제1유형 미성숙정자보다 미약하나 2개의 미토콘드리아, 근위중심립 그리고 원위중심립이 관찰되었다(Fig. 14B).

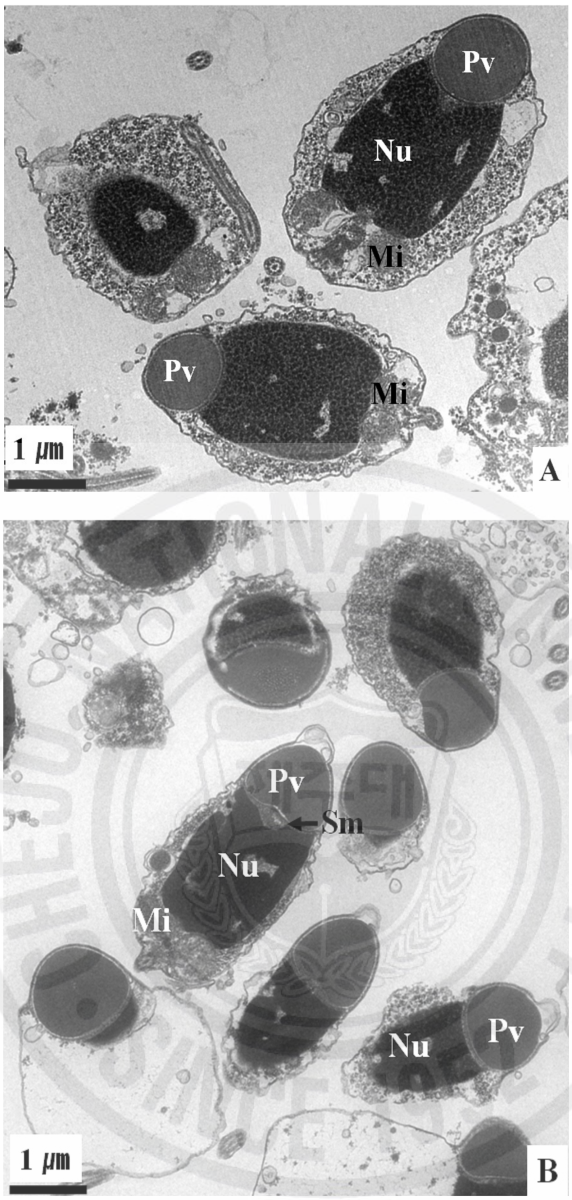
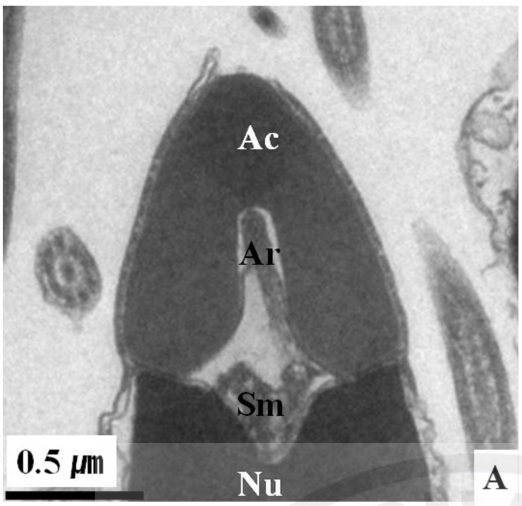


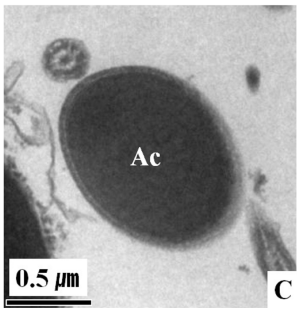
Fig. 14. Ultrastructure of various immature spermatozoa in *H. diversicolor*. A, Immature spermatozoa (Type Ⅰ) whose nuclei showing increasingly granulated chromatin. Cellular organelles such as proacrosomal vesicle (Pv) and circular mitochondria (Mi) were observed in the cytoplasm. B, Immature spermatozoa (Type Ⅱ) whose nuclei showing highly condensed chromatin. Proacrosomal vesicle was slightly invaginated on the portion contacted with nuclear membrane. Subacrosomal materials (Sm) appeared in a space between nuclear and proacrosomal fossa. Cellular organelles such as mitochondria (Mi), proximal centriole (Pc) and distal centriole (Dc) appeared in the cytoplasm.

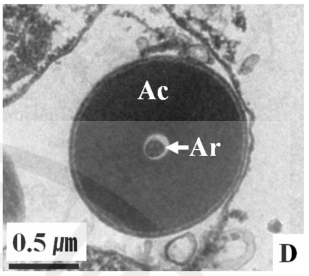
(6) 성숙 정자

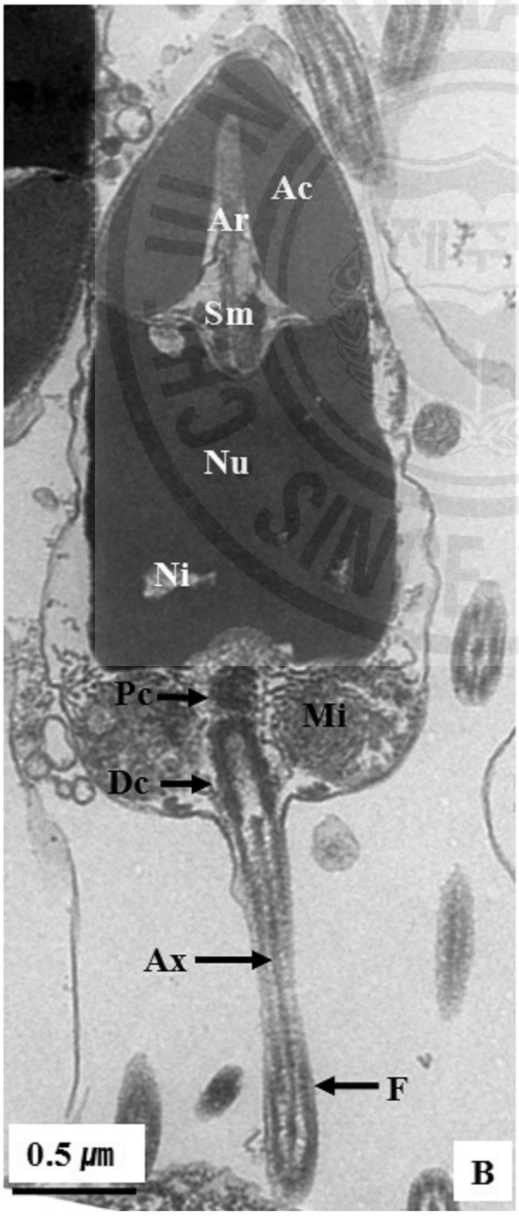
성숙 정자의 전자 현미경적 종단면 관찰 결과 첨체와 핵이 존재하는 두부, 핵과 편모의 연결부인 중편, 세포막에 의하여 에워싸여 있는 전형적인 9+2 미세소관으로 구성된 축사 구조를 갖는 미부 등 3부분으로 구분되었다(Fig. 15B)

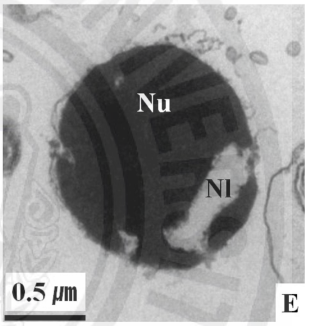
첨체는 전자밀도에 따라서 전자밀도가 높은 다이아몬드형의 첨체 선단부와 전자밀도가 낮은 부분 등 분할 구획된 신장형(kidney shape)으로 관찰되었다(Fig. 15A, C). 첨체는 부정형의 섬유상의 물질로 구성된 관상의 첨체간(acrosomal axial rod)을 중심으로 이등분되어 nuclear fossa가 존재하는 핵의 상단부에 얹혀 있는 형태로 관찰되었다. 섬유상의 아첨체 물질은 nuclear fossa가 있는 부위에 존재하였다(Fig. 15B, D). 핵의 모양은 첨체간의 맞은 편과 근위 중심립이 존재하는 부분이 함몰되어 nuclear fossa를 갖는 사과형(apple shape)이며, 핵질의 전자밀도는 높고 1-2개의 투명한 핵포들이 관찰되었다(Fig. 15B, E). 중편에는 6개 원형의 미토콘드리아가 근위 중심립과 원위 중심립, 그리고 환대의 성상체를 에워싸고 있었다(Fig. 15F, G). 굴곡이 심한 세포막으로 덮여있는 편모 횡단면 관찰 결과, 편모는 중앙 미세소관 1쌍, 주변 미세소관 9쌍인 전형적인 9+2 미세소관의 축사 구조를 하고 있는 편모의 구조를 확인 할 수 있었다(Fig. 15H).

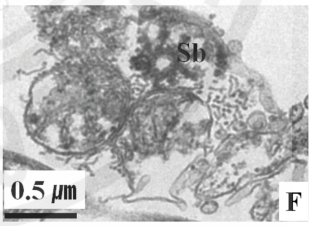

Ac
Ar
Sm
Nu
0.5 μm
A

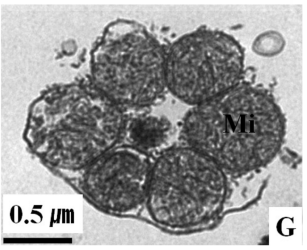

Ac
0.5 μm
C


Ac
Ar
0.5 μm
D


Ac
Ar
Sm
Nu
Ni
Pc
Mi
Dc
Ax
F
0.5 μm
B


Nu
Nl
0.5 μm
E


Sb
0.5 μm
F


Mi
0.5 μm
G

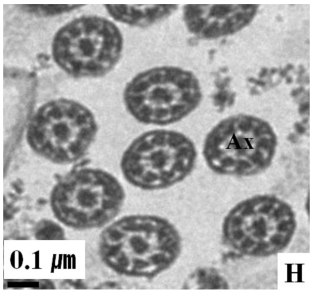
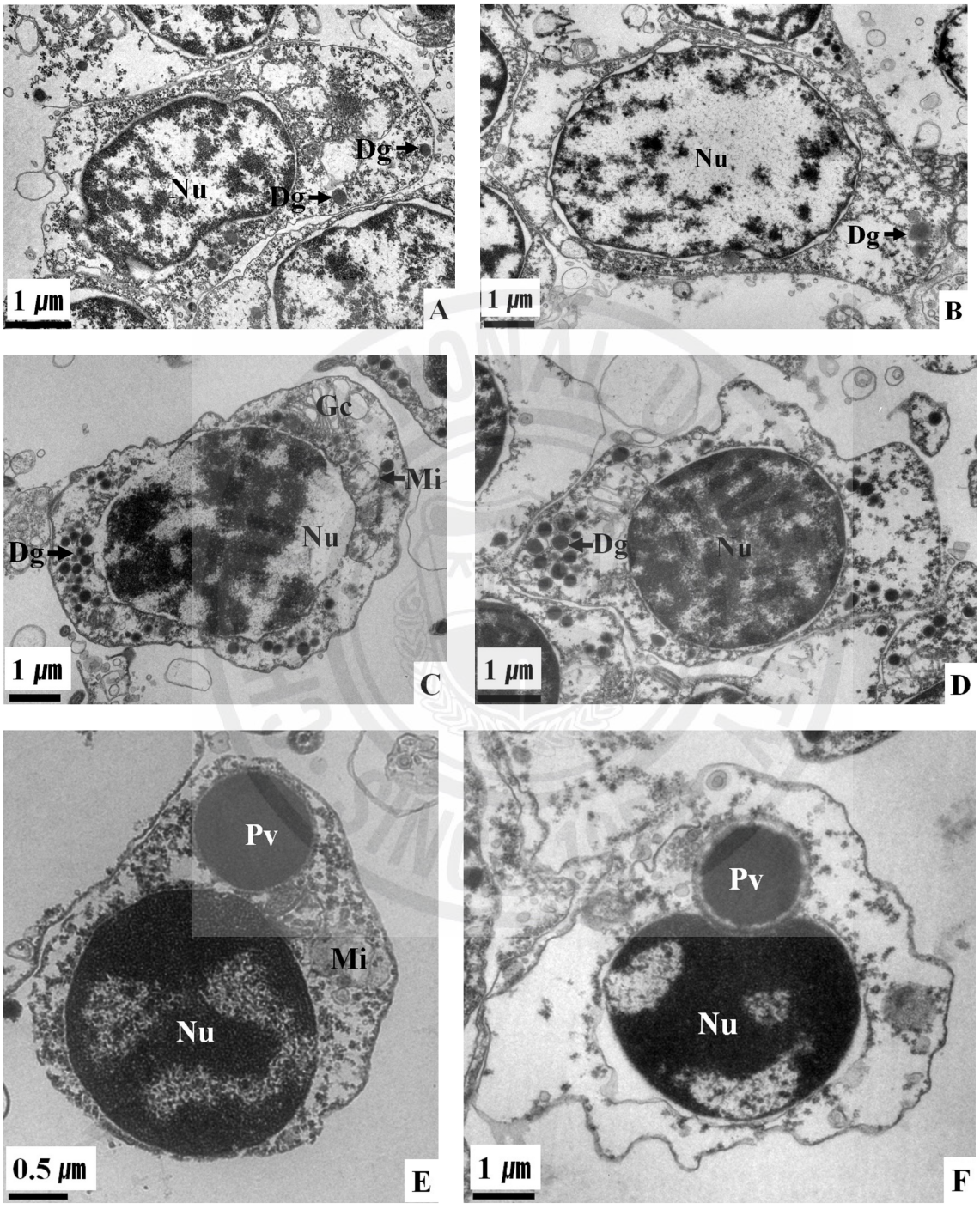

Ax
0.1 μm
H

Fig. 15. Ultrastructure of mature spermatozoon in *H. diversicolor*. A, Longitudinal section of acrosome. Acrosome (Ac) could be divided into two regions; Upper region of diamond shape (high electron density region) and lower region (low electron density region). B, Longitudinal section through mature spermatozoon consisting of acrosome, nucleus, midpiece and a long tail. subacrosomal materials (Sm) were observed on nuclear fossa. C, Cross section through the acrosome. D, Cross section through the acrosome showing the tubular axial rod (Ar) existing in the center of acrosome. E, Cross section through the nucleus (Nu) showing the higy electron density chromatin with some irregularly shape nuclear lacunae (Nl) showing electron lucent regions. F, Cross section through the midpiece showing six circular mitochondria (Mi) with prominent cristae. The proximal centrioles were surrounded by six circular mitochondria. G, Proximal centriole (Pc) comprising of radically arranging satellite body (Sb) with annulus which connected the corresponding pair of microtubules. H, The flagellum (F) presented the typical 9+2 axonemal (Ax) structure (9 doublet outer microtubules + 2 single central microtubules).

2) 첨체 분화와 형성

첨체 형성 과정은 전자 현미경 관찰한 결과 정원세포의 세포질내에 전자밀도가 높은 막성의 과립이 관찰되었다(Fig. 16A). 세사기 정모세포에 과립의 크기가 0.5 ㎛로 존재하였다(Fig. 16B). 생식세포가 성장 발달하여 제3유형 정세포 단계에는 골지체의 성숙면에 막성인 원형의 첨체 전구물질인 전첨체 과립(크기 0.7 ㎛)이 다수 관찰되었다(Fig. 16C, D). 이후 하나의 전첨체포(크기 1.0 ㎛) 형태로 핵막 근접부에 존재하였고(Fig. 16E). 전첨체포와 핵막이 연접부에서는 핵막의 함입이 이루어져 nuclear fossa를 형성하였다(Fig. 16F). Nuclear fossa에는 섬유상의 아첨체 물질이 존재하며(Fig. 16G), 전첨체포 외막이 함몰되어 proacrosomal fossa를 형성하는 형태적인 변화를 초래하였다(Fig. 16H). 전첨체포 외막이 함몰이 진행된 후(Fig. 16I) 섬유상의 물질인 첨체간이 형성과 더불어 구형인 전첨체포가 삼각형으로 형태적인 변화를 가져왔다(Fig. 16J). 이후 proacrosomal fossa 부위에서 아첨체 물질과 첨체간이 형성된 후 첨체 선단부로 신장하였다(Fig. 16K).

이후 전첨체포(길이 1.0 ㎛)가 핵 반대편 첨체의 선단부로 신장되어 첨체간을 중심으로 이등분된 신장형의 첨체(길이 1.3 ㎛)가 형성되었다. 미성숙 정자의 핵과 첨체의 연접부에서 관찰할 수 없었던 첨체간이 완숙정자 단계로 성숙하면 핵막과 첨체의 연접부에는 다이마몬드형(크기 0.5 ㎛) 공간에 아첨체 물질이 존재하였다. 성숙정자에는 전자밀도가 높은 섬유상의 막대기형 관상 첨체간이 생성된 후 첨체 선단부로 더욱 신장하였다. 첨체(크기 1.6×1.3 ㎛)는 첨체간을 중심으로 내막과 외막을 갖는 이등분화된 신장형으로 원형질막에 둘러싸여 존재하였다(Fig. 16K-L).


Dg
Nu
Dg
1 μm
A
Nu
Dg
1 μm
B
Gc
Mi
Nu
Dg
1 μm
C
Dg
Nu
1 μm
D
Pv
Mi
Nu
0.5 μm
E
Pv
Nu
1 μm
F

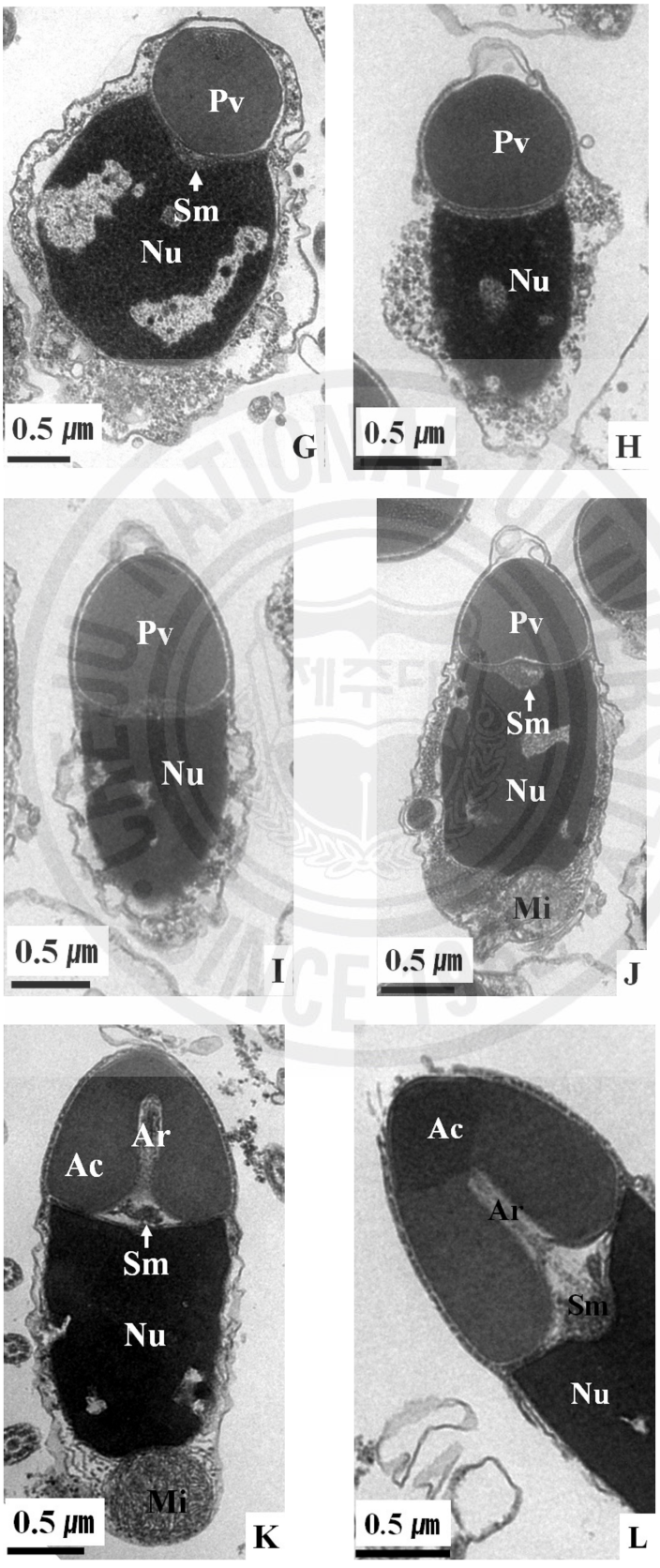

Pv
Sm
Nu
0.5 μm
G
Pv
Nu
0.5 μm
H
Pv
Nu
0.5 μm
I
Pv
Sm
Nu
Mi
0.5 μm
J
Ar
Ac
Sm
Nu
Mi
0.5 μm
K
Ac
Ar
Sm
Nu
0.5 μm
L

Fig. 16. Ultrastructure of showing the successive stages of acrosomal formation in *H. diversicolor*. A, Spermatogonium with electron dense granules (Dg) in the cytoplasm. B, Leptotene stage oocyte with a few electron dense granules. C-D, Especially, type Ⅲ spermatid contained well developed Golgi complex (Gc) in the cytoplasm and electron dense granules appeared near Golgi complex. E, Ultrastructure of showing a distance between proacrosomal vesicle (Pv) and nucleus. F-H, Nuclear membrane are slightly invaginated. Finally nuclear fossa was formed by invagination of nuclear membrane. I-J, A space of diamond shape between proacrosomal vesicle and subacrosomal materials (Sm) filled with fibrous materials appeared in the immature sperm. After formation of nuclear fossa and later proacrosomal fossa was formed. K, As further development, An acrosomal axial road (Ar) was originated from subacrosomal materials and elongated toward acrosomal apex. Subacrosomal materials were composed of electron dense materials showing fibrous materials. L, Ultrastructure of acrosome in mature spermatozoa.

3. 생식소 구성 조직의 형태

1) 상피조직

광학 현미경 관찰 결과 생식소의 상피조직은 eosinophilic한 호산성 분비성 상피세포, H-E 염색에 음성반응을 나타내는 공포상의 분비성 상피세포 그리고 원주형의 지지세포 등 3유형의 상피세포가 존재하였다(Fig. 17A).

전자 현미경 관찰 결과 상피조직은 세포 유리면에 발달한 미세융모를 갖는 원주형의 2 유형의 분비성 상피세포와 원주형의 지지세포 등 3유형의 상피세포로 구성되었다. 제Ⅰ유형 분비성 상피세포는 전자밀도가 높은 액포상의 과립들이 세포질내에 충만된 분비성 상피세포가 관찰되었다(Fig. 17B). 제Ⅱ유형 분비성 상피세포는 전자밀도가 다른 2종류의 mucin 계통의 점액성 분비물이 세포질에 충만되어 있는 분비성 상피세포가 존재하였다(Fig. 17C).

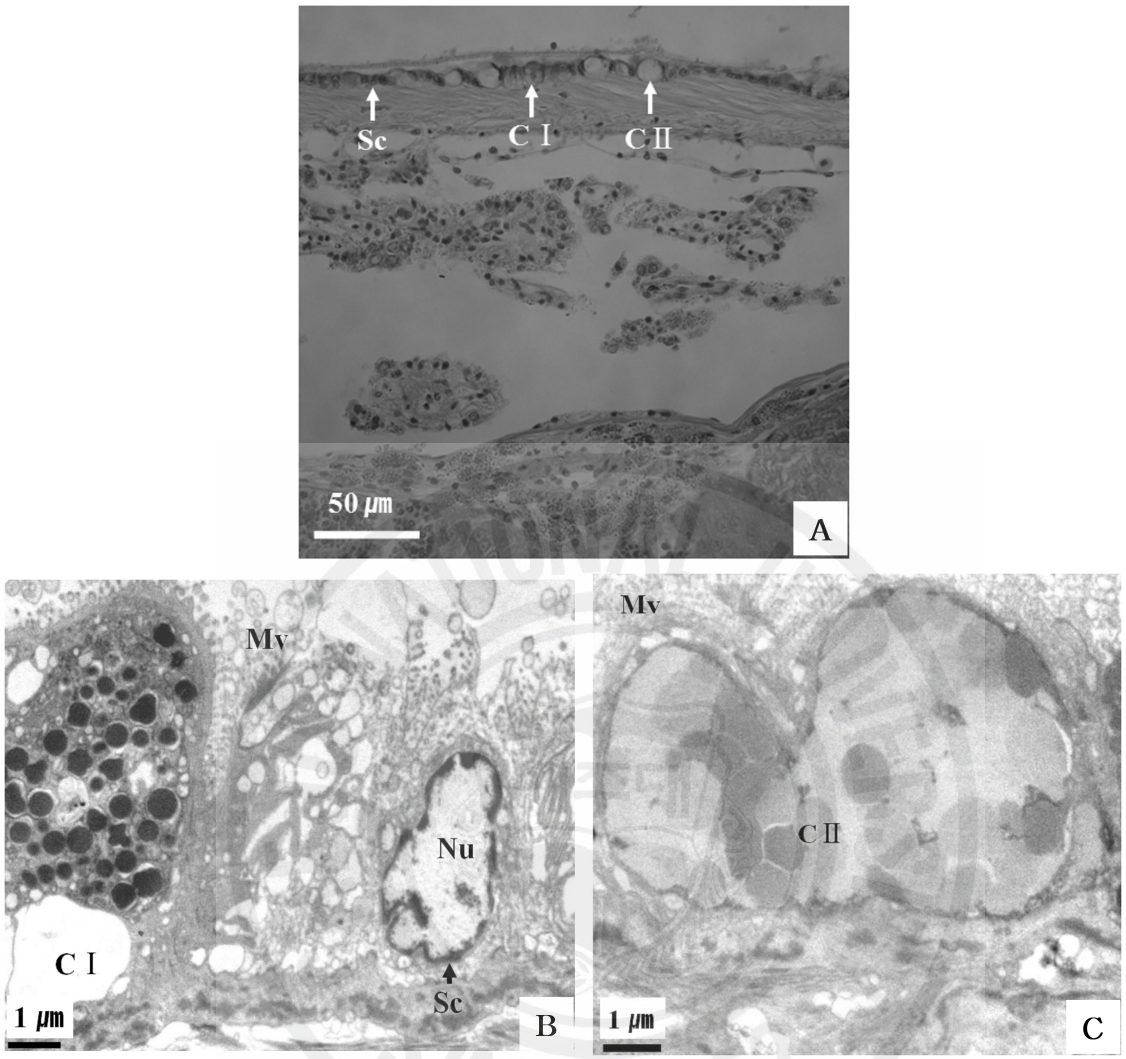


Fig. 17. Photographs of epithelial cells covering on the surface of gonad and ultrastructure of epithelial cells appearing the surface of the gonad in *H. diversicolor*. A. Photographs of several epithelial cells existing on the surface of gonad; supporting cells (Sc), eosinophilic granular cell (Cell type Ⅰ) and mucous secretory cell (Cell type Ⅱ). B, Ultrastructure of supporting cell (Sc) and secretory epithelial cell (Cell type Ⅰ). Supporting cell with microvilli (Mv) on the free surface. Cytoplasm contained numerous vacuoles. Mucous secretory cells (Mc) were divided into two types according to ultrastructual of granules. Cell type Ⅰ (C Ⅰ) contained well developed microvilli on the free surface and numerous electron dense granules. C, Cell type Ⅱ (C Ⅱ) contained abundant two types secretory mucin granules (Mg) with different electron density.

2) 결합조직과 생식상피

생식소의 외막과 내막을 구성하는 결합조직에 대한 전자 현미경 관찰결과 교원섬유, 섬유모세포, 근세포 그리고 신경돌기 등이 관찰되었다. 근세포는 척추동물의 골격근과 평활근의 특징을 갖으며, 두꺼운 filament 들이 관찰되었다. 또한 섬유모세포는 교원섬유 주위에 존재하였다. 신경돌기(nerve processes)는 생식상피의 결합조직층 근조직에 존재하며, 전자밀도가 낮은 과립과 높은 과립 등 2유형의 과립으로 구성되었다(Fig. 18A, B).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

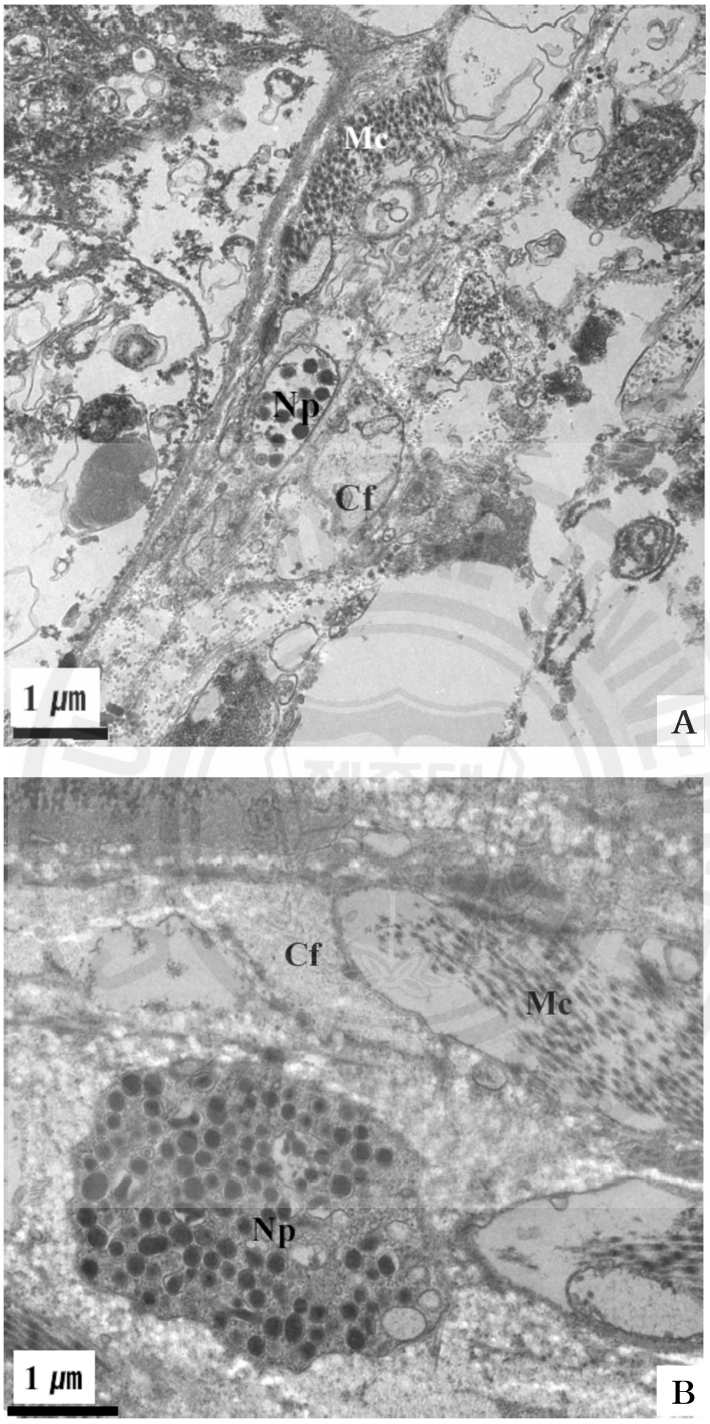


Fig. 18. Ultrastructure of germinal epithelium and connective tissue in an ovary of *H. diversicolor*. A and B, There were collagen fibrils (Cf), muscle cells (Mc) and nerve processes (Np) containing two type granules with different electron density in germinal epithelium (A) and connective tissue (B).

3) 황색 과립세포

생식소의 황색 과립세포는 분포 위치에 따라 2유형으로 구분되었다. 제Ⅰ유형 황색 과립세포는 생식소 내강의 미분화 간충직과 혼재하여 덩어리 형태로 관찰되었으며, 제Ⅱ유형 황색 과립세포는 생식소의 결합조직과 생식상피에 존재하였다(Fig. 19A).

전자 현미경 관찰결과 제Ⅰ유형 황색 과립세포(크기 8 ㎛)의 핵은 타원형으로 핵질에는 euchromatin 이 발달하나 핵의 중앙과 핵막을 따라 heterochromatin이 존재하였다. 세포 소기관은 조면소포체, 전자밀도가 높은 막성의 다포체(multivesicle body), 그리고 전자밀도가 높은 원형의 섬유상 액포가 관찰 되었다(Fig. 19B).

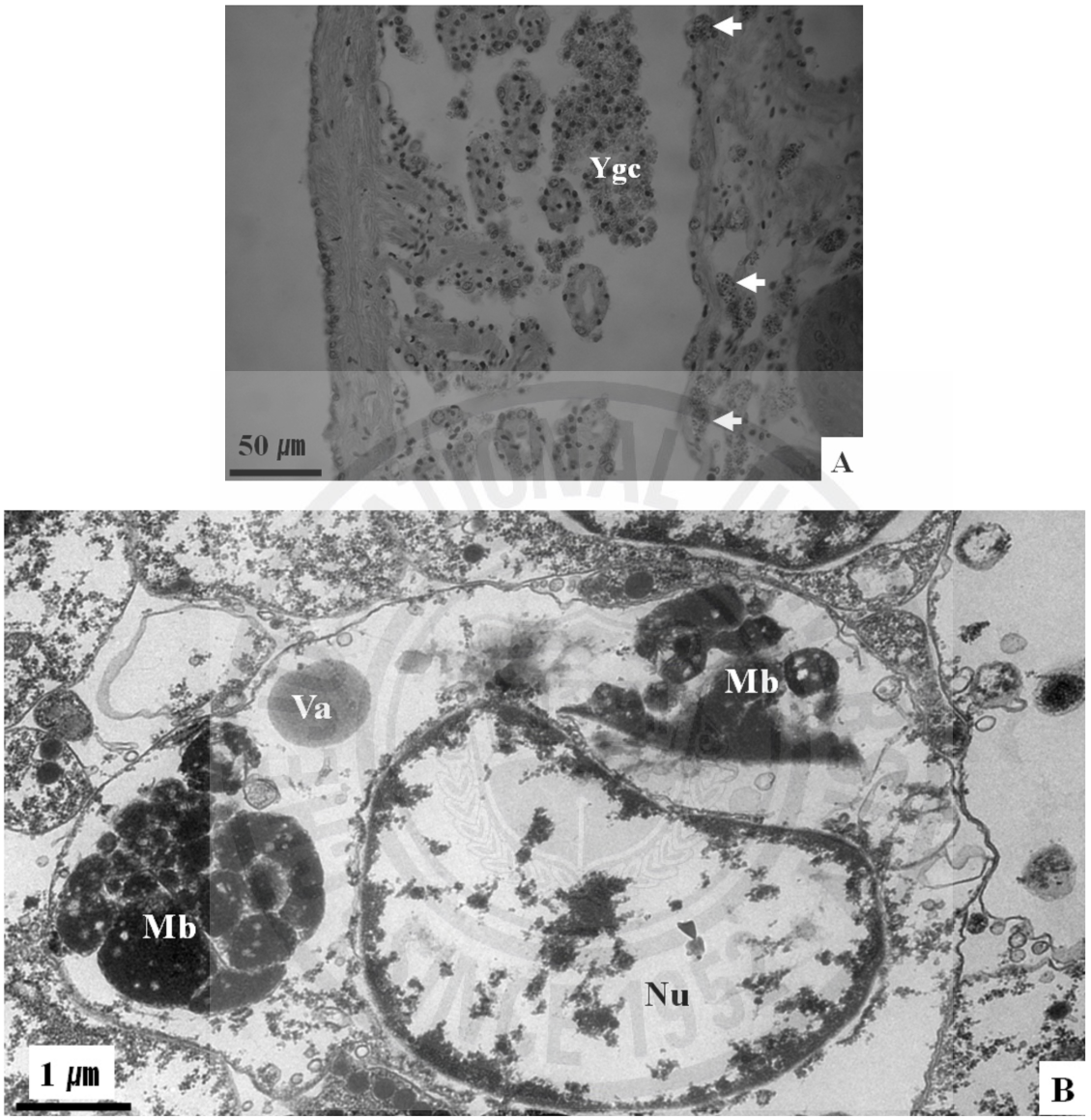


Fig. 19. Photographs of yellowish granular cells and ultrastructure of yellowish granular cell existing together with undifferentiation mesenchymal tissue in gonad lumen in *H. diversicolor*. A. Yellowish granular cells (Ygc) appearing in gonad lumen and yellowish granular cells (arrows) in germinal epithelium and connective tissue. B, The former cells cytoplasm contained slightly rough enodplasmic reticulum, multivesicle body (Mb) consisting of electron dense fibrous materials and electron dense vacuole (Va).

Ⅳ. 고 찰

난 형성 과정

전복류의 난 형성 과정은 세포 소기관의 발달정도에 따라 다양하게 구분하였다. *H. rufescens*의 생식세포는 4단계(Young and DeMartini, 1970), *H. asinina*의 난 형성과정은 6단계(Apisawetakan et al., 2001a), 참전복의 난 형성 과정은 7단계(Tomita, 1967), 오분자기의 난 형성 과정은 9단계 (Takashima et al., 1978), *H. rufescens*의 난 형성 과정은 난원세포, 형성전기 난모세포, 형성기 난모세포, 초기 후형성기 난모세포 그리고 완숙 후기 난모세포 등 5단계 난 형성 과정으로 구분하였다(Martin et al., 1983). 이 연구에서 오분자기의 난 형성 과정은 광학 현미경 관찰한 결과 난원세포, 주변인기 난모세포, 초기 유구기 난모세포, 후기 유구기 난모세포, 초기 난황구기 난모세포, 완숙단계인 후기 난황구기 난모세포, 그리고 퇴행난 등 7단계로 구분할 수 있었다

어류, 양서류, 포유류 등의 척추동물과 절지동물 등 무척추동물 정원세포의 세포질에는 Balbiani body 또는 mitochondrial cloud가 존재한다(Kloc et al., 2004; Kosaka et al., 2007; Pepling et al., 2007). 이 세포 소기관은 미토콘드리아, 소포체의 요소, 그리고 nauge 등을 갖는 구조물이다(Bilinski et al., 2004; Seydoux and Brown, 2006; Eulalio et al., 2007). 경골어류에서 시원생식세포(Primordial germ cells, PGCs), 난원세포 그리고 전정원세포(prespermatogonium)의 세포질에는 섬유상의 germinal dense body가 관찰되며 형태적으로 상이한 부정형의 섬유상 구조물로 존재하는 것으로 초기 성분화의 지표로 간주된다(Hamaguchi, 1982a, b). *H. asinina*의 난원세포는 여포세포와 존재하며 세포질내에는 다수의 리보솜이 관찰되나, 세포 소기관은 발달하지 않는다(Apisawetakan et al., 2001a). 오분자기의 난원세포 관찰결과 euchromatin이 풍부한 둥근핵이 존재하며 세포질내에는 발달한 조면소포체, 다수의 리보솜 그리고 섬유상의 Balbiani body가 존재하고 있다.

*H. rufescences*의 1단계 난모세포는 리보솜 단계 난모세포와 난황 형성의 준비단계인 전형성 난모세포로 각각 구분하였다(Martin et al., 1983; Apisawetakan et al., 2001a). 오분자기 초기 유구기 난모세포의 세포질내에는 액포, 유구, 다수의 리보솜,

조면소포체 그리고 골지체 등이 존재하여 *H. asinina*의 1단계 난모세포인 리보솜 단계 난모와 *H. rufescences*의 전형성단계의 난모세포와는 형태학적으로 다른 특징을 보였다(Martin et al., 1983; Apisawetakan et al., 2001a). 이러한 단계별 난모세포의 형태학적 다른점은 연구자의 분류기준과 관점에 따른 결과라고 생각된다.

*H. asinina*의 난모세포의 세포질내 조면소포체와 골지체 등 세포 소기관이 발달한 개시단계인 제2단계 난모세포는 조면소포체와 골지체 단계로 구분한다(Apisawetakan et al., 2001a). 오분자기의 후기 유구기 난모세포의 세포질내 다수의 유구와 소수의 난황구가 존재하고 세포 소기관인 조면소포체와 골지체가 발달하여 유사한 형태학적 특징을 갖고 있었다.

제 3단계 난모세포는 2종류의 난황과립이 골지체 주변에 존재하고 전사와 전이단계인 형성단계로 구분하고 있는데(Apisawetakan et al., 2001a) 이와 같은 결과는 오분자기의 초기 난황구기 단계와 형태학적인 특징이 유사하였다.

제4단계인 난모세포는 얇은 젤리층, 분비성과립 그리고 난황과립이 세포질내에 균질하게 분포하는 미숙 난모세포단계로 분류하고 있다(Apisawetakan et al., 2001a). 오분자기의 후기 난황구기 난모세포 단계와 유사하나 광학 현미경적 관찰로 구분하기에는 한계가 있어서 이 연구에서는 완숙단계인 후기 난황구기 난모세포에 포함하였다.

제5단계인 난모세포는 두꺼운 젤리층과 피질과립 등이 존재하는 난모세포로 완숙난모세포단계 또는 후기 형성단계로 구분하였다(Martin et al., 1983; Apisawetakan et al., 2001a). 오분자기의 완숙단계인 후기 난황구기 난모세포와 형태학적인 특징은 유사하나 오분자기 난막 외부에는 전자밀도가 다른 2층으로 구분되어 전자밀도가 낮은 투명한 난황층과 전자밀도가 높은 젤리층 등으로 구분되었다.

복족류의 난황형성은 자가형성과 타가형성이 이루어지는 혼합형의 종과 자가형성을 하는 종이 있다(Bottke et al., 1982; Medina et al., 1986; Pal and Hodgson, 2002). 난황의 난황 단백질 전구물질인 vitellogenin의 형성 기관은 계통발생학적으로 서로 달라 척추동물은 간(Wallace, 1985), 곤충은 지방체(Sappington and Raikhei, 1998), 갑각류는 간췌장(Wilder et al., 2002), 참새우는 난소와 간췌장(Wilder et al., 2002) 그리고 이매패와 전복류는 난소내의 여포세포(Matsumoto et al., 2003, 2008; Osada et al., 2004)에서 난황 형성이 이루어지 진다.

자가형성은 난모세포내의 세포 소기관인 조면소포체와 골지체가 관여하고 타가형

성은 난모세포 외부에서 생성된 vitellogenin이 난막에 존재하는 미세융모에 의한 음세포작용으로 세포질에 난황이 축적된다(Bottke et al., 1982; Medina et al., 1986; Pal and Hodgon, 2002).

복족류 일부분 종에서 난황형성은 자가형성과 타가형성에 의한 혼합기작에 의해서 일어난다(Medina et al., 1986). 환형동물인 거머리 난황 형성과정은 세포 소기관에 의한 자가형성과 미세융모에 의한 타가형성 등 혼합기작에 의하여 이루어진다(Swiatek, 2006).

이 연구에서 오분자기 vitellogenin의 형성 초기단계는 난원세포의 세포질내 세포 소기관인 조면소포체가 발달하고 후기단계 난모세포의 난황물질 주변에는 조면소포체와 골지복합체가 발달하였으며, 특히 골지복합체 성숙면 주변부에는 vitellogenin으로 추정되는 전자밀도가 높은 과립들이 성숙 난황구로 전이되는 형성과정을 관찰할 수 있어서 자가형성의 직접적인 증거라고 판단된다.

난황형성 후기단계 난모세포들의 세포간 공간에는 부정형의 난황구와 유구 등이 관찰되거나 일부분 유구들이 미세융모에 의한 pinocytosis 현상과 난막이 일부분 변형되어 길다란 막성의 돌기상으로 성숙 난황구를 에워싸는 pinocytosis 현상이 관찰되어 타가형성 과정을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상 등을 종합하여 보면 오분자기의 난황형성과정은 난모세포내 세포 소기관에 의한 자가형성과 난황물질이 미세융모와 세포막의 돌기에 의한 타가형성에 의해 난황형성과정이 이루어짐을 알 수 있어서 오분자기 난황 형성 과정은 자가형성과 타가형성에 의한 혼합기작이라고 추정된다.

정자 형성 과정

전복류의 정자 형성 과정은 정원세포, 정모세포, 정세포, 그리고 정자 등 4단계의 발달단계(Tomita, 1968; Young and DeMartini, 1970; Takashima et al., 1978), 열대 전복류인 *H. asinina*에 대한 전자 현미경을 이용한 정자 형성 과정은 정원세포, 1차정모세포, 세사기, 접합기, 태사기, 복사기, 이동기, 그리고 중기 등 6단계, 2차정모세포, 정세포는 정세포Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ 등 4단계, 미숙정자 그리고 완숙정자 등 14발달단계로 구분하였다(Sobhon et al., 2001).

오분자기의 연구에서 정자 형성 과정은 14단계로 구분할 수 있는데, 전복류의 4단

계의 분류와 열대전복류의 14단계로 분류한 것은 연구자들의 분류기준과 관점이 서로 다른 결과라고 생각된다.

동물의 정자는 primitive, modified, biflagellate 그리고 aflagellate 형태 등 4가지 형태로 구분하고 있다(Bacetti and Afzelius, 1976; Verdonk et al., 1983). 이매패류의 정자형태는 다양하여 종 특이성 갖으며, 정자의 형태학적 특징에 따라 계통분류가 가능하다(Popham et al, 1974; Kubo and Ishikawa, 1978; Hodgson and Bernard, 1986; Healy, 1989). 외부 수정종인 복족류 정자의 첨체와 핵의 형태는 분류학상 목(Order)과 종(Species) 간에 상이하다(Koike, 1985; Healy, 1988a,b, 1989; Hodgson and Foster, 1992; Hodgson, 1995). 그리고 생식형태에 따라 외부 수정종과 내부 수정종의 정자의 형태학적인 특징도 다르다(Franzen, 1970; Popham, 1979). 조개류와 전복류 등 체외수정을 하는 종은 대부분 primitive형의 정자구조를 갖고 있다(Franzen, 1956, 1970, 1983).

이매패류의 정자는 첨체와 핵의 형태에 따라 구분된다. 성게의 첨체는 컵모양, 백합조개과의 첨체는 뿔모양 또는 신장모양 등 다양하다(Hodgson and Bernard, 1986; Fontaine and Lambert, 1976; Gwo, 2002). 백합조개과의 종간에서도 첨체의 형태는 종 특이성을 가지고 있다. *Crassostrea gigas*는 3층의 층상구조를 갖는 모자모양(Gwo et al., 1996), *Saccostrea comemercialis*는 첨체의 선단부에서 줄무늬 모양으로 분화(Healy and Lester, 1991), *Circe scripta* (Gwo et al., 2002)와 *Dreissena polymorpha* (Misamore et al., 1996) 등은 첨체의 기부가 다층의 층상배열로 전자밀도가 높은 부분과 전자 밀도가 낮은 basal ring을 갖는다. 그리고 첨체의 형태는 백합조개과에서 질병을 진단하는 방법으로 이용되고 있다(Healy, 1989; 1995).

전복류의 첨체는 truncated cone 모양이고(Shiroya and Sakai, 1984, 1992), 전복류 정자의 첨체와 핵의 형태는 유사하나 정자의 길이와 부피는 전복류 패각의 길이에 비례하여 상이하다. 일본에 서식하는 오분자기와 대만에 서식하는 오분자기는 대형종인 참전복, *H. rufescens*, *H. laveigata*의 정자의 길이와 부피에 비해 작다(Gwo et al., 1997).

오분자기 첨체(크기 1.3×1.0 ㎛)는 외막과 내막으로 구획된 비교적 전자밀도가 높은 신장 모양의 두 가닥의 형태로 첨체의 선단부에는 전자밀도가 높은 다이아몬드형 모양이 놓여 있는 형태를 관찰할 수 있었다. 참전복의 첨체는 두 부분으로 분화

하는데 이는 첨체효소의 차이에 의한 형태변화이며, 백합조개과에서 볼 수 있는 첨체의 구성 부분이 전자밀도가 높은 부분과 낮은 basal ring는 관찰할 수 없었다(Gwo et al., 2002).

연체동물들의 종간에 서로 다른 독특한 첨체의 구조는 체외수정시 난자의 형태학적인 구조와 관련이 있으며(Franzen, 1983), 첨체의 기능은 난막을 용해하고 난과 정자를 융합하여 첨체반응과 수정 반응이 일어나게 한다(Colwin and Colwin, 1964, 1967; Pasteels, 1965a, b; Flanklin, 1970; Longo, 1973).

첨체의 분화 형성의 기원에 대한 연구는 불가사리와 성게에서 정원세포기의 세포질내에 전자밀도가 높은 과립출현에 기원하여 1차 정모세포의 골지체 성숙면에서 기원된 전첨체과립이 서로 융합하여 정세포에서 첨체가 형성된다(Longo and Dornfeld, 1967; Fontaine and Lambert, 1976; Sastry, 1979; Hodgson and Bernard, 1986; Thongkukiatkul et al., 2008). 전복과의 첨체간은 첨체반응시 신장하여 첨체돌기(acrosomal process)로 형태적인 변화를 초래하며 액틴(actin)의 공급원이다(Shiroya et al., 1986).

오분자기의 첨체 분화와 형성 기원은 불가사리와 성게와 유사하여 정원세포의 전자밀도가 높은 과립에서 기원하여 1차 정모세포의 골지체에서 생성된 전첨체 과립이 융합으로 전첨체포로 형성됨을 추정할 수 있었다. 그러나 전첨체과립이 융합현상에 의한 전첨체포가 형성되는 형태적인 변화는 일시적인 현상으로 추정되어 전자현미경으로 관찰할 수 없었다. 첨체 외막이 함입되어 acrosoamal fossa의 형성과 더불어 부정형의 섬유상 물질로 구성된 아첨체물질에서 생성 기원하는 첨체간은 첨체 선단부 방향으로 신장되었다. 그리고 정자변형 과정인 미숙 정자에도 첨체간에 의해 이등분된 신장형의 첨체를 관찰할 수 있었다.

이매패류 정자의 핵은 대부분 난형, 타원형, 그리고 원주형이다(Popham, 1979; Gwo et al., 2002). 일부 백합조개와 이매패 종은 굴곡된 신장형이다(Nicotra and Zappata, 1991; Guerra et al., 1994; Walker, 1996). 핵의 기능은 불확실하나(Gwo et al., 2002), 신장된 핵의 기능은 난경이 크고, 난황이 풍부한 알과 수정시 깊숙이 침투하는데 용이하다(Franzen, 1983). 이 연구에서 오분자기 정자의 핵(크기 1.3×1.0 ㎛) 모양은 원주형의 사과모양과 유사하고, 첨체의 인접부와 반대쪽 근위중심립이 있는 부위에는 핵막이 함몰 굴곡된 nuclear fossa가 존재하는 핵의 형태를 하고 있어 대형종인 전복류보다 너비와 길이는 짧지만, 대만과 일본산 오분자기의 핵의 형

태와 유사하였다.

복족류 이매패 중편에 존재하는 미토콘드리아는 일반적으로 4-6개가 존재하고(Healy, 1995a), 백합조개과 종에서도 4-5개 구형의 미토콘드리아가 존재한다(Healy, 1995a). 대만에 서식하는 오분자기와 *H. laevigata*는 중편에 구형의 미토콘드리아가 5개 존재한다(Gwo et al., 1997; Healy et al., 1998). 이 연구에서 오분자기 중편에는 6개 구형의 미토콘드리아가 존재하는데 이는 대형종인 전복류와 대만산 소형종인 오분자기와는 상이하였다. 중편에 존재하는 미토콘드리아는 정자의 운동원인 ATP를 생성하는 세포 소기관이며, 미토콘드리아에는 정자의 운동과 대사의 에너지원으로 추정되는 글리코겐이 존재한다(Anderson and Personne, 1970a, b, 1975). 미토콘드리아에 존재하는 글리코겐은 내부 수정과 연관성이 있고(Anderson and Personne, 1975), 정자의 생존기간이 증대된다(Ecklebargar et al., 1990). 오분자기의 중편에는 6개의 구형 미토콘드리아가 존재하는데 이는 전복류간의 계통분류학적인 차이점과 오분자기 정자의 운동성과 생존기간에 생리학적으로 유리한 조건으로 추정되어 대형종인 전복류보다 인공종묘 생산시 수정율이 양호한 결과를 예상할 수 있다.

이매패인 *Bankia australis*, *B. carinata*, *C. virginica*, 그리고 *P. margaritifera*에서는 성상체가 핵 후반부인 근위중심립과 핵막사이 중편에 존재한다(Daniels et al., 1971; Popham et al., 1974; Thielley et al., 1993). 오분자기도 중편에 성상체가 존재하여 이매패의 계통 분류학적인 상호연관성을 추정할 수 있다.

이와같이 이매패류 성숙정자의 첨체, 핵, 미토콘드리아, 중편, 성상체 그리고 편모구조 등 종 특이성을 갖는 형태학적인 특징은 이매패류의 진화방향 및 종간 상호연관과 계통 발생학적인 분류기준의 지표가 된다(Popham, 1979; Franzen, 1983; Reunov and Hodgson, 1994; Healy, 1995).

*H. asinina*의 생식상피에는 근세포, 섬유모세포 그리고 전자밀도가 다른 2 유형의 과립을 갖는 신경돌기 등이 존재하며, 신경돌기는 산란과 관련된 호르몬 생성 등 생리적인 기능을 수행한다(Apisawetakan et al., 2001b). 생식소의 생식상피와 결합조직에 존재하는 신경돌기는 생식소내의 결합조직에 존재한다(Chanpoo et al., 2001). 이 연구에서 오분자기 생식상피와 결합조직에는 전자밀도가 다른 2 유형의 과립을 갖는 신경돌기가 존재하는데 이는 *H. asinina*의 생식상피 결합조직에서 관찰되는 신경돌기의 미세구조적 특징과 유사하였다(Apisawetakan et al., 2001b). 전

자밀도가 다른 2 유형의 과립을 갖는 신경돌기는 결합조직내 근세포와 섬유모세포 사이에 존재하여 산란시 생식소의 근육조직내 근세포의 수축과 이완을 조절하는 신경전달 물질의 기능을 수행하는 것으로 추정된다.

*H. asinina*의 생식소의 상피조직에 관한 미세구조 연구에서 배상세포와 유사한 2 유형의 분비성 상피 세포와 지지세포 등 3 유형의 상피세포로 구성되었다(Apisawetakan et al., 2001b). 오분자기 상피조직의 상피세포도 이와 유사한 형태학적인 특징을 갖으며, 특히 오분자기 생식소 상피세포에는 세포막의 변형구조물인 미세융모가 발달하였다. 이 미세융모의 역할과 기능에 대한 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

제 3장. 생식주기와 산란특성

Ⅰ. 서론

전복류의 생식주기는 성숙 산란시기에 따라 동계산란형, 하계산란형, 년중 산란형 등으로 구분하고 있다(Boolootian et al., 1962). 이들 산란형은 서식지역에 따라 지역 특이성과 종 특이성을 가진다(Sepherd and Law, 1974).

전복류의 생식주기에 관한 연구는 온대와 아열대지역에 서식하는 전복류의 생식주기와 생식세포 형성과정(Boolootian et al., 1962; Webber and Giese, 1969; Young and DeMartini, 1970; Capinpin et al., 1998; Campbell et al., 2003), 국내에 서식하는 참전복과 말전복 등의 생식주기(Lee, 1974; Lee et al., 1978), 오분자기의 생식주기와 생식세포 형성(Oba, 1964; Takashima et al., 1978; Lee et al., 1982) 등에 관한 연구가 이루어지고 있다.

전복류의 산란특성에 관한 연구는 산란시기의 산란횟수 및 산란특성 등에 관한 연구가 있다(Boolootian et al., 1962; Newman 1967; Poore, 1973; Sheperd and Laws, 1974; Giorgi and Martini, 1977; Pearse, 1978; Takashima et al., 1978; Hayashi, 1980; Tutschulte and Connell, 1981; Ault, 1985; Wells and Keesing, 1989a,b; Wilson and Schiel, 1995; Litaay and DeSilva, 2003),

산란유발을 초래하는 환경요인으로서 까막전복, 참전복 그리고 오분자기는 태풍 또는 소폭풍 등이 요인으로 보고 있다(Sasaki, 1985; Sasaki and Sheperd, 1995; Onitsuka et al., 2007). *H. kamtschakana*와 *H. ruba*는 환경변화가 거의 없는 시기에 산란을 하는 것으로 보고되고 있다(Breen and Adkims, 1980; Prince et al., 1987). 까막전복과 *H. madaka* 그리고 말전복, *H. gigantea* 등은 급격한 수온변화가 산란유발 요인으로 보고 있으며(Tanaka et al., 1986), *H. asinina*는 달주기에 따른 조석주기에 따라 산란을 하는 것으로 보고되었다(Jebreen et al., 2000; Counihan et al., 2001).

그리고 유기 주석화합물이 전복류의 생식주기 및 생식세포 형성과정에 미치는 영

향에 관한 생리학적 특성에 대한 연구가 이루어지고 있다(Horiguchi et al., 2002, 2005).

이 연구는 제주연안에 서식하는 오분자기의 자원관리와 자원회복을 지속하기 위해 생식주기와 산란시기의 산란특성을 탐색하고 개체군의 성비를 조사 하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 오분자기 채집

오분자기의 생식주기를 조사하기 위한 시료는 2006년 5월부터 2007년 4월까지 제주특별자치도 서귀포시 성산읍 성산포 연안에서 해녀들이 채집한 오분자기를 매월 30개체 내외를 사용하였다(Fig. 1). 산란시기 달주기에 따른 산란 특성을 규명하기 위한 시료는 2007년 7월 12일부터 9월 11일까지 간조에서 만조시에 주별 채집하였으며, 태풍 후 산란특성을 조사하기 위해서 태풍 나리(NARI, 2007년 9월 16일)가 제주를 지나간 후 9월 28일부터 10월 25일까지 채집하여 조사하였다.

채집한 재료는 Vernier calliper를 이용하여 각고와 각장을 0.01 ㎝까지 측정하였고, 전중량, 육중량, 그리고 생식소중량(간췌장 포함)은 전자저울(Sartorius, BP 3100s)을 이용하여 0.01 g까지 측정하였다.

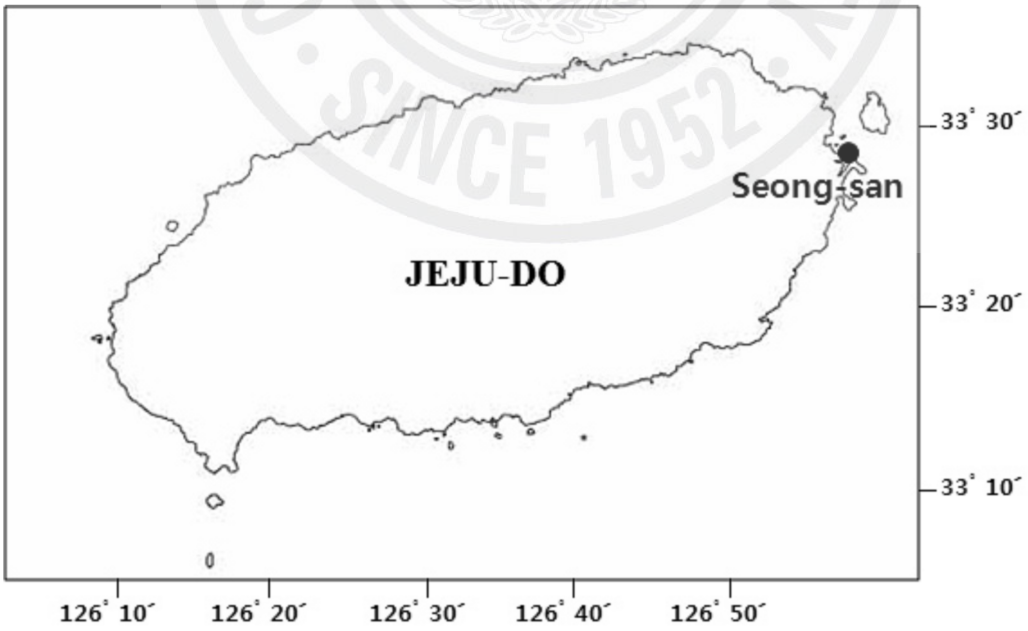


Fig. 1. Map of sampling site on the northeast Seong-san coastal area of Jeju-Do.

2. 환경요인

산란시기의 광주기 변화 자료는 한국 천문 연구원에 있는 제주시 지역의 일출과 일몰 시간의 자료를 인용하였으며, 수온변화는 조사지역의 수심 3~4 m 지역에 morning 수온계를 고정하여 매일 측정하였다.

3. 조직학적 관찰

생식소 발달과정과 생식소지수(gonad index, GI)는 Young and DeMartini (1970)의 방법에 따라 오분자기 생식소 선단부에서 길이가 1 cm 지점의 중심점부위 조직절편(약 4 mm×5 mm)을 적출한 후 paraffin 상법을 걸쳐 microtome (Reichert-Jung 820)을 사용하여 5-6 ㎛ 두께로 조직절편을 만들었다. 광학 현미경 관찰을 위하여 Hansen's haematoxylin과 0.5 % eosin으로 비교 염색 반응 후 광학 현미경(Carl Zeiss, HBO5)하에서 조직 표본을 비교 검경하였다.

4. 생식소 지수

월별 및 주별 생식소 지수는 생식소 중심점 부위의 간췌장 조직 단면의 직경에 대한 생식소 두께의 면적 비율로 아래의 산출법으로 산출 하였다(Fig. 2).

생식소지수(GI)=(외경 면적-내경 면적)×100/외경 면적

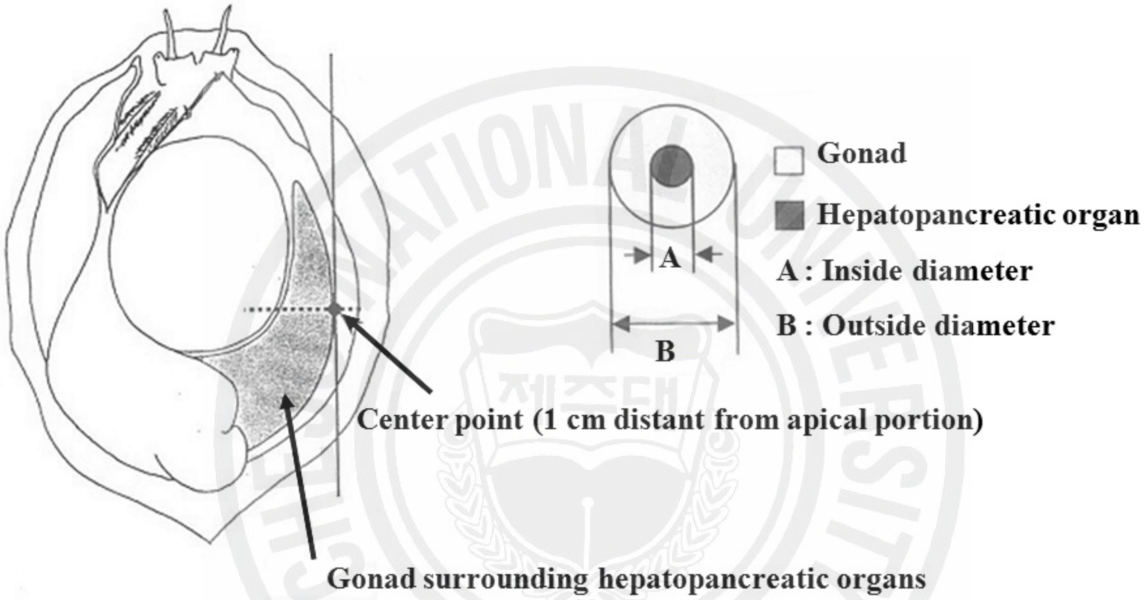


Fig. 2. Schematic drawing on center point of gonad *H. diversicolor*. (Method by Young and DeMartini, 1970).

5. 생식주기

생식주기는 암·수 생식소 발달단계의 형태학적 변화에 따른 생식세포 형성과정, 생식상피 조직상의 형태 변화, 생식소 내강에 존재하는 미분화 간충직 조직과 황색 과립세포의 출현빈도 그리고 생식소 결합조직과 생식상피에 존재하는 황색 과립세포의 출현 빈도 등에 따라 연속적인 6단계로 구분하였다(Table 1, 2).

6. 성비

오분자기의 성 구별은 생식소의 육안적 외부 색상과 조직상을 토대로 구분하였다. 성숙한 암컷은 짙은 녹색, 수컷은 유백색 색상을 띄어 육안적인 식별과 함께 생식소의 조직상을 관찰하여 성비를 조사하였다. 또한 육안적인 외부 색상 식별이 어렵거나 조직상 암·수 생식세포의 특징이 없는 개체는 성비 조사에서 제외하였다.

Table 1. Criteria used to assesment of reproductive cycle according to gonad development of male in *H. diversicolor*

Stage	Morphological characteristics of gonad according to reproductive cycle			
	Germ cell development stage	Morphological several shapes of germinal epithelium	Yellowish granular cells existing in germinal epithelium	Yellowish granular cells and meshencymal cells in lumen of gonad
Multiplication	mostly cuboidal spermatogonia (size: 2.5㎛). a few sexual indiscrimination individuals.	mostly tubular and a few bending process shapes	++	++
Growing	mostly spermatogonia and spermatocytes (pseudostratified arrangement)	mostly bending and a few tubular process shapes	+	+
Mature	mostly spermatids and spermatozoa. a few spermatogonia and spermatocytes (pseudostratified arrangement)	mostly long process and a few short processs shapes	+	±
Partial spawning	mostly spermatids and spermatozoa. a few spermatogonia and spermatocytes. (pseudostratified arrangement)	mostly long process and a few short process shapes	++	±
Degenerating	remanent spermatozoa and loosen spermatids. spermatogonia and spermatocytes. collapsed pseudostratified arrangement	short process and tubular shapes	+	+
Recovery	a few remanent spermatozoa, spermatids and spermatogonia. a few sexual indiscrimination individuals.	slender tubular shapes	++	++

++, abundant; +, intermediate; ±, a few or none.

Table 2. Criteria used to assesment of reproductive cycle according to gonad development of female in *H. diversicolor*

Stage	Morphological characteristics of gonad according to reproductive cycle			
	Germ cell development stage	Morphological several shapes of germinal epithelium	Yellowish granular cells existing in germinal epithelium	Yellowish granular cells and meshencymal cells in lumen of gonad
Multiplication	cuboidal oogonia (size: 8 ㎛), squamous germinal epithelial cells. a few sexual indiscrimation individuals.	mostly tubular and a few bending process shapes	++	++
Growing	perinucleolar oocytes (size:5-10 ㎛) and oil droplet stage oocytes (size: 50-70 ㎛)	mostly bending and a few tubular process shapes (stalk shape)	+	+
Mature	primary (size: 120-150 ㎛) and secondary (size: 150-170 ㎛) yolk globule stage oocytes with jelly coat	mostly long process shapes (sac shape)	+	±
Partial spawning	maturing oocytes with jelly coat. jelly coat with bending shapes.	long process shapes (sac shape)	++	±
Degenerating	mostly immature oocytes and a few mature oocytes.	long processs and tubular shapes	+	+
Recovery	a few oogonia and oil droplet oocytes. a few sexual indiscrimination individuals	slender tubular circular shapes	++	++

++, abundant; +, intermediate; ±, a few or none.

Ⅲ. 결 과

1. 생식소의 해부 형태학적 구조

성 성숙한 오분자기 생식소의 해부학적인 형태는 패각에 붙는 육질부의 인접부에 아가미가 존재하는 부위에서 생식소가 소화맹낭인 간췌장 조직을 포함하는 쇠뿔 모양의 길고 짧은 두개의 돌기 형태로 관찰되었다. 성 성숙기의 암컷 생식소는 녹색, 수컷은 유백색을 띄어 육안적인 암·수 구별이 가능하며, 이 시기에는 생식소의 성숙으로 용적율이 증가하여 쇠뿔 모양의 길고 짧은 두 개의 돌기 표면에 생식소가 존재하였다(Fig. 3A).

그러나 분열증식기, 퇴행기, 그리고 회복기 시기에는 대부분 갈색 또는 황토색을 띄어 육안적인 식별이 불가능하였고, 생식소는 빈약하여 용적율의 감소로 긴 돌기의 선단부에 국한하여 생식소가 존재하였다.

또한 쇠뿔 모양 돌기 내부 횡단면의 조직학적인 구조는 생식소 최상부인 상피조직, 결합조직, 외막, 생식소, 생식소와 소화맹낭인 간췌장 조직의 경계부분인 내막 그리고 소화맹낭인 간췌장 조직 등으로 구성된 동심원상의 나무 나이테 모양으로 관찰되었다(Fig. 3B).

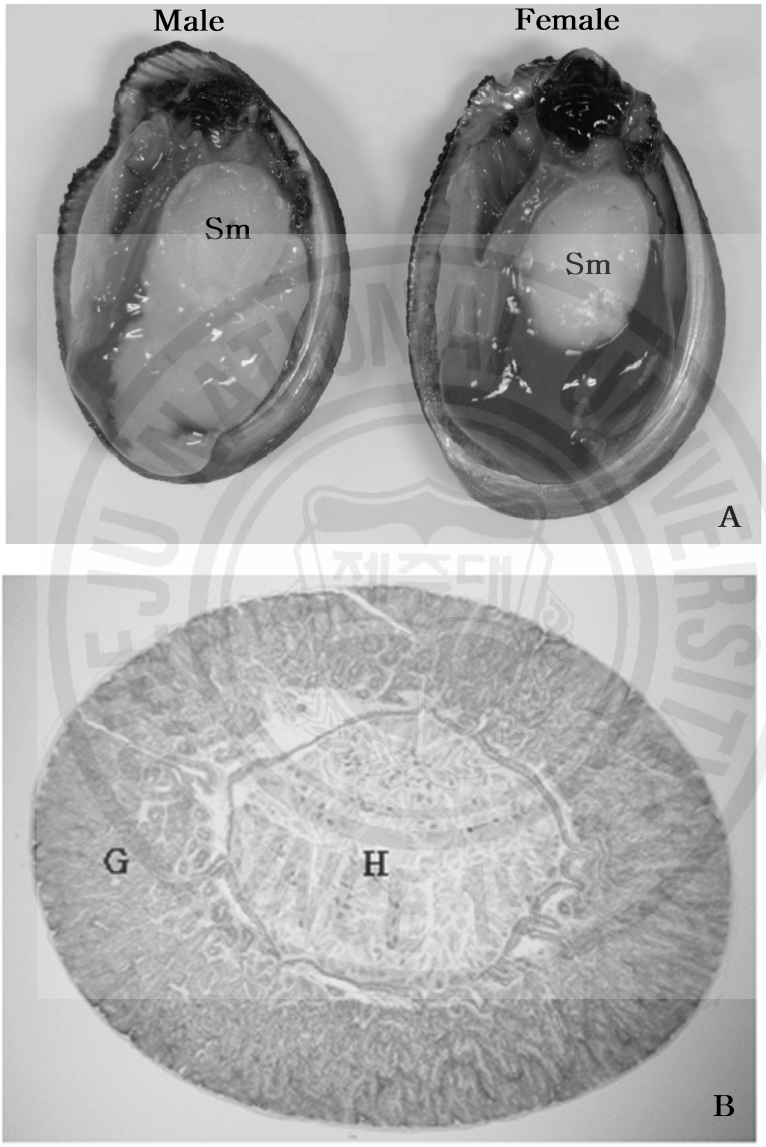


Fig. 3 Anatomical external structure of conical appendage in *H. diversicolor*. A, Anatomical external features of gonad portions and conical appendage showing horn-shape including gonad and hepatopancreatic organs. B, Histological internal structure showing cross section of conical appendage including gonad and hepatopancreas organs. H, hepatopancreatic organs; G, testicular gonad; Sm, Shell muscle.

2. 환경 요인

1) 생식주기에 따른 월별 환경변화

광주기는 2006년 6월에 명기가 14.4시간을 나타내었으며, 12월에 9.9시간을 나타내었다. 수온 변화는 2006년도 6월에 18.2℃에서 점차 상승하여 8월에 28.9℃를 나타내었다. 이 후 수온은 점차 하강하여 2007년 2월에 14.2℃로 최저 수온을 나타내었다(Fig. 4).

2) 산란시기의 달주기에 따른 주별 환경변화

조사 시기의 광주기는 7월 14일 명기는 14.4시간에서 조사 종료 시점인 10월 25일에는 10.9시간으로 감소하였다. 수온 변화는 조사 시작 시점인 7월 14일 22.1℃에서 7월 11일 19.4℃로 소폭으로 수온이 하강 하였다. 이 후 7월 30일 25.7℃까지 상승 후 점차 하강하기 시작하여 10월에 수온은 20℃내외로 조사되었다(Fig. 5).

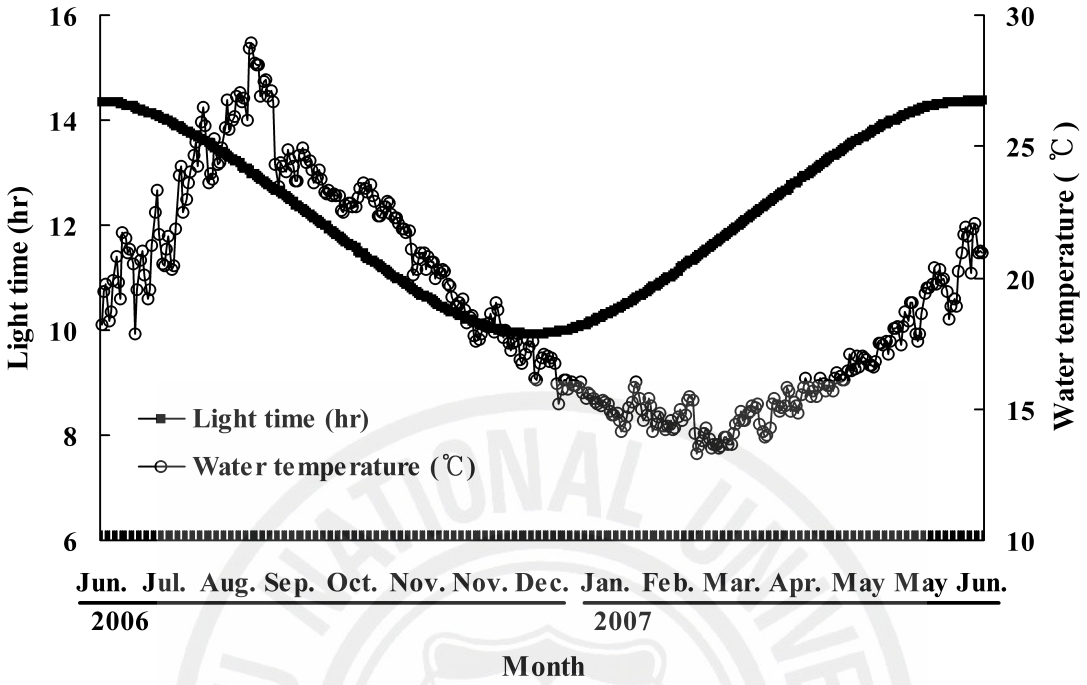


Fig. 4. Monthly changes of seawater temperature and photoperiod in sampling site (Seong-san coastal area) according to investigating reproductive cycle in *H. diversicolor*. Day length data cited from Korea Astronomy and Space Science Institute.

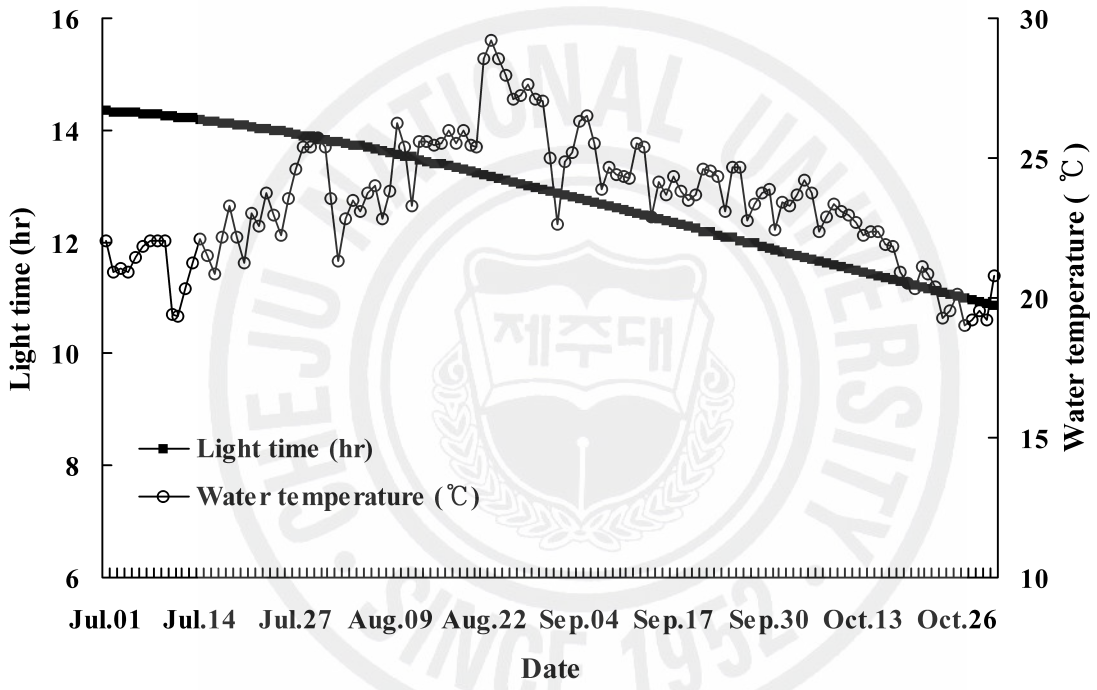


Fig. 5. Weekly variations of seawater temperature and photoperiod in sampling site (Seong-san coastal area) of spawning seasons according to lunar cycle in *H. diversicolor*. Day length data cited from Korea Astronomy and Space Science Institute.

3. 월별 생식소지수

생식소지수(GI)의 월별 변화는 암컷의 GI는 2006년 5월부터 점차 증가하여 7월에 최대(55.38±11.73)에 이른 후, 8월에 급격히 감소하여 9월에 낮은 값(27.75±4.76)을 보인 후 급격히 증가하여 10월에 높은 값(51.36±7.47)을 보였다. 이후 감소하기 시작하여 2007년 4월까지 낮은 값(7.65±0.85)을 유지하였다($P<0.05$, Fig. 6).

수컷의 GI도 암컷의 GI 월별 변화와 유사한 경향을 보여 2006년 5월부터 증가하여 6월에 최대 값(70.72±5.20)에 이른 후 8월에 급격히 감소하여 9월에 낮은 값(21.27±2.91)을 보였다. 이후 급격히 증가하여 10월에 높은 값(48.49±8.39)을 보였다. 그 이후 완만하게 감소하기 시작하여 2007년 4월까지 낮은 값(9.79±1.18)이 유지되었다($P<0.05$, Fig. 6).

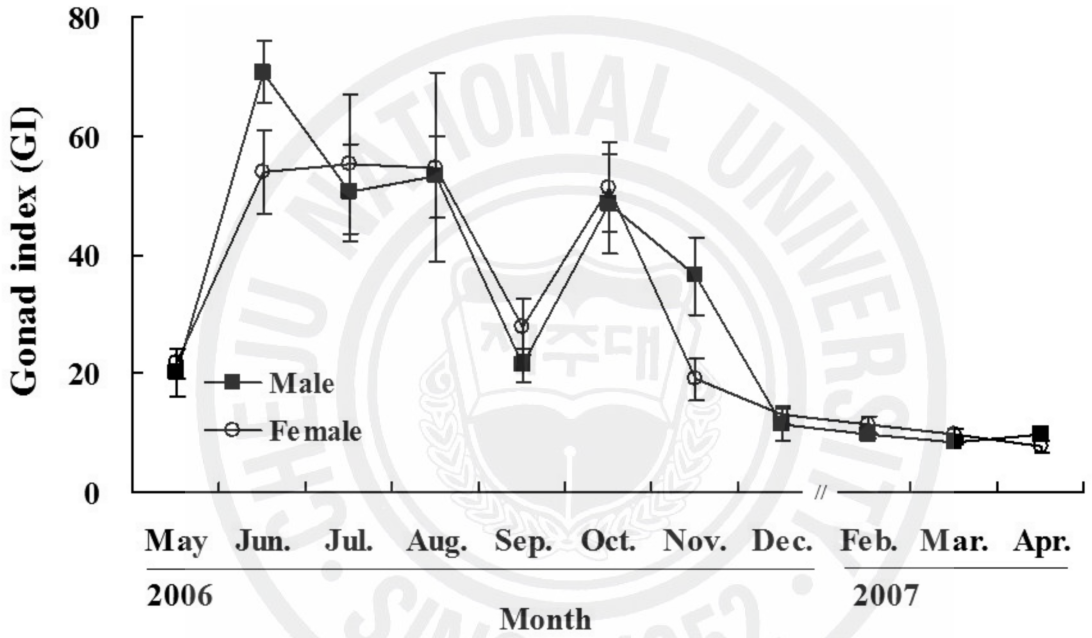


Fig. 6. Monthly changes of gonad index (GI) in *H. diversicolor*. Bar=standard error of mean.

4. 생식주기

오분자기의 생식주기는 분열증식기, 성장기, 성숙기, 산란 및 방정기, 퇴행기 그리고 회복기 등 연속적인 6단계로 구분할 수 있었다.

1) 분열증식기

분열증식기 난소는 고리모양의 관상과 돌기형의 생식상피에 난원세포(크기 8 ㎛)들과 체세포인 내피세포들이 분포하였다. 난원세포는 구형으로 비교적 큰 핵을 가지며, 핵질은 투명하였다(Fig. 7A). 정소는 정원세포(크기 2.5 ㎛)들과 체세포인 내피세포(크기 2 ㎛)들이 고리모양의 관상 생식상피에 존재하였다(Fig. 8A). 암·수 모든 개체의 생식소 결합조직내 황색 과립세포들이 다수 출현하였고, 생식소 내강에는 미분화 간충직과 황색 과립세포들이 혼재하여 관찰되었다. 분열증식기 단계 조직상을 갖는 개체들은 암·수 모두 2월과 5월에 관찰되었다(Fig. 9).

2) 성장기

성장기 난소는 난원세포, 주변인기 난모세포 그리고 다수의 유구기 난모세포 등이 생식상피에 분포하였다(Fig. 7B). 정소는 생식상피를 따라 정원세포와 정모세포 그리고 정세포가 무리를 지어 위층상 다층배열 구조를 하였다(Fig. 8B).

암·수 생식세포가 성장 발달에 수반하여 생식소는 비후하여 생식상피는 고리모양의 관상과 돌기형으로 관찰되며, 소화맹낭인 간췌장 조직과 생식소의 경계인 내막까지 신장 발달하였다. 생식소 내강에는 미분화 간충직 조직과 황색 과립세포들이 다수 존재하나 분열증식기에 비해 분포 양상은 다소 빈약하였으나 생식소의 결합조직내에 황색 과립세포들은 다수 관찰되었다. 성장기 단계 조직상을 갖는 개체들은 암컷은 2-5월, 수컷은 3-5월에 관찰되었다(Fig. 9).

3) 성숙기

성숙기 난소는 다수의 초기 난황구기와 후기 난황구기 난모세포는 난소 소낭에 조밀하게 존재하나, 소수 어린 난모세포들도 난소 소낭 생식상피에 소수 존재하였다. 난소의 생식상피는 매우 세장되어 긴돌기형으로 내막까지 신장 발달하였다(Fig. 7C). 정소는 소수의 체세포, 정원세포 그리고 정모세포들이 존재하는 길고 짧은 돌

기상의 생식상피를 중심으로 다수의 정세포와 성숙한 정자들이 밀집하여 위층상 다층배열구조로 관찰되었다(Fig. 8C). 미분화 간충직 조직과 황색 과립세포들의 출현빈도는 분열증식기와 성장기 그리고 회복기에 비하여 급격히 감소하여 소수의 개체에서만 관찰할 수 있었으나, 결합조직내 황색 과립세포들은 다수 존재하였다. 성숙기 개체들은 암·수 모두 수온과 GI가 증가하는 4-7월에 관찰되었다(Fig. 9).

4) 산란 및 방정기

산란기 난소는 대부분 성숙한 난모세포들이 가늘고 긴 돌기형의 생식상피로 분할 구획된 소낭에 조밀하게 분포하였고, 생식상피 내벽에는 소수 어린 난모세포들도 존재하였다. 부분산란의 흔적을 보이는 소낭에는 얇고 투명한 젤리층이 잔존하며, 젤리층은 미분화 간충직 세포들과 함께 굴곡형으로 관찰되었다(Fig. 7D). 정소에는 짧은 막대기형 생식상피를 중심으로 동심원상으로 변태과정인 정세포와 꼬리를 갖춘 성숙한 정자들이 내강주위에 밀집하여 위층상 다층배열 조직상을 관찰할 수 있었다(Fig. 8D). 생식소내 미분화 간충직 세포와 황색 과립세포들도 소수의 개체에서만 관찰되었으나, 결합조직내 황색 과립세포들은 다수 출현하였다. 부분산란 및 방정기의 조직상을 갖는 개체들은 암컷은 5-11월, 수컷은 6-11월에 관찰되었다(Fig. 9).

5) 퇴행기

퇴행기 난소는 퇴행중인 다수의 후기 난황구기 난모세포들과 소수의 어린 난모세포와 주변인기 그리고 유구기 난모세포들이 존재하였다(Fig. 7E). 정소는 정세포와 성숙한 정자들이 배열상태가 빈약하여 위층상 다층배열 구조가 흩어진 조직상을 보였다(Fig. 8E). 이 시기의 생식상피는 고리형의 관상과 약간 비후한 막대기형이 혼재하여 관찰되었다. 미분화 간충직 세포와 황색 과립세포는 산란 및 방정기 보다 출현빈도가 높았고, 결합조직내 황색 과립세포들도 출현 빈도가 증가하였다. 퇴행기의 조직상을 갖는 개체들은 암컷은 10-12월, 수컷은 11-2월에 관찰되었다(Fig. 9).

6) 회복기

난소는 고리모양의 세관형 생식상피가 존재하였고, 다수의 체세포와 소수의 난원세포가 관찰되었다(Fig. 7F). 정소내 고리모양의 세관형 생식상피에는 다수의 체세

포, 소수의 정원세포 그리고 내강에는 잔존 정자가 소수 존재하였다(Fig. 8F). 암·수 모두 생식소내 생식상피의 결합조직 두께가 매우 가늘어져 생식상피는 대부분 고리 모양의 세관형 형태로 관찰되었다. 생식소내에는 미분화 간충직세포와 황색 과립세포들이 소낭의 내강에 다수 존재하였으며, 내막의 결합조직에는 황색 과립세포들도 다수 출현하였다. 이시기의 개체들은 암컷은 9-10월과 12월-2월, 수컷은 9-2월에 조직상을 관찰할 수 있었다(Fig. 9).

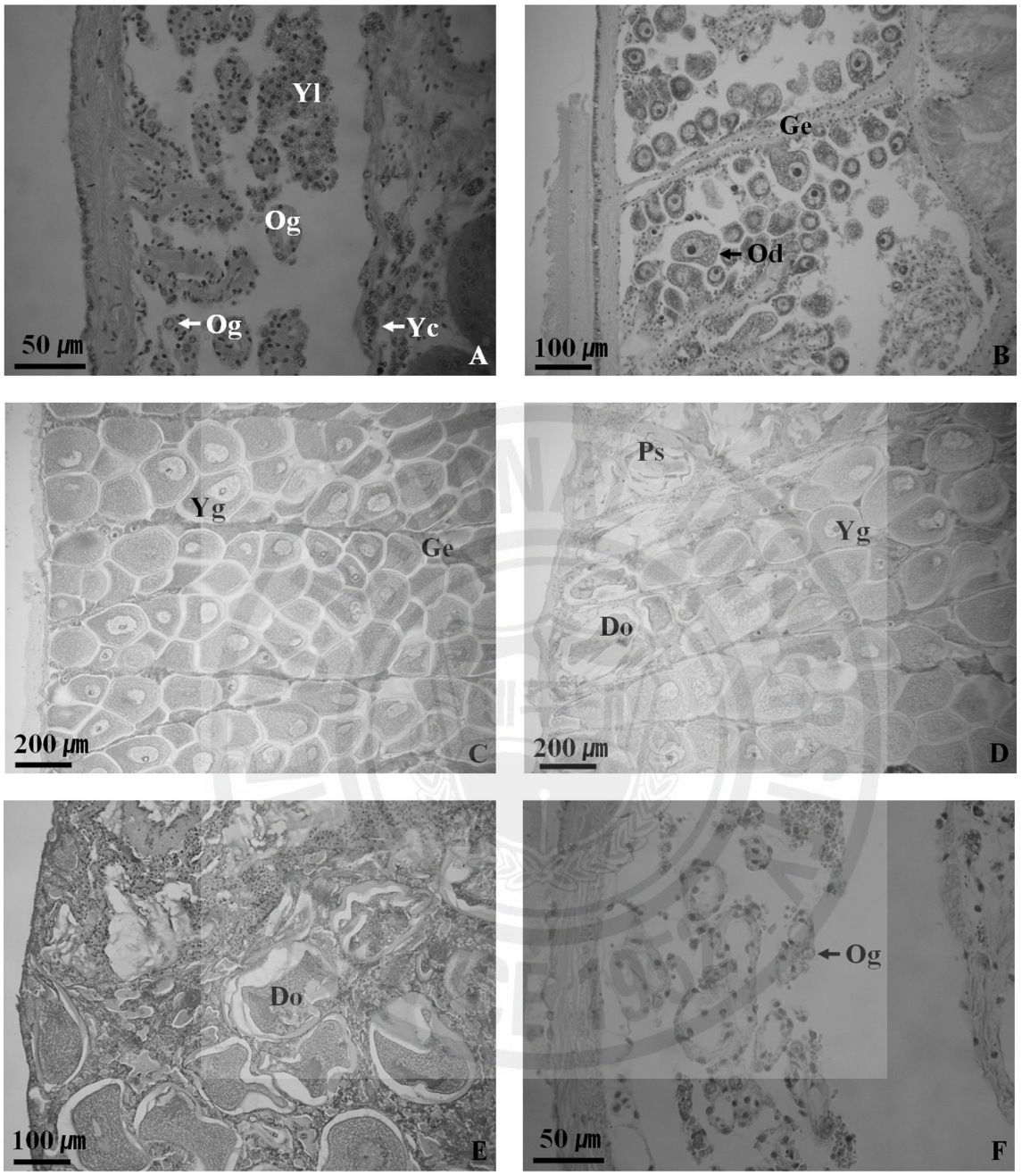


Fig. 7. Photographs of various ovarian development stages in *H. diversicolor*. A, multiplication stage; B, Growing stage; C, Mature stage; D, Partial spawning; E, Degenerating stage; F, Recovery stage. Abbreviations: Do, Degenerating oocyte; Ge, Germinal epithelium; Od, Oil droplet stage oocyte; Og, Oogonium; Ps, Partial spawning; Yc, Yellowish granular cells in connective tissue and germinal epithelium; Yl, Yellowish granular cells existing with mesenchymal tissue in gonad lumen; Yg, Yolk globule stage oocyte.

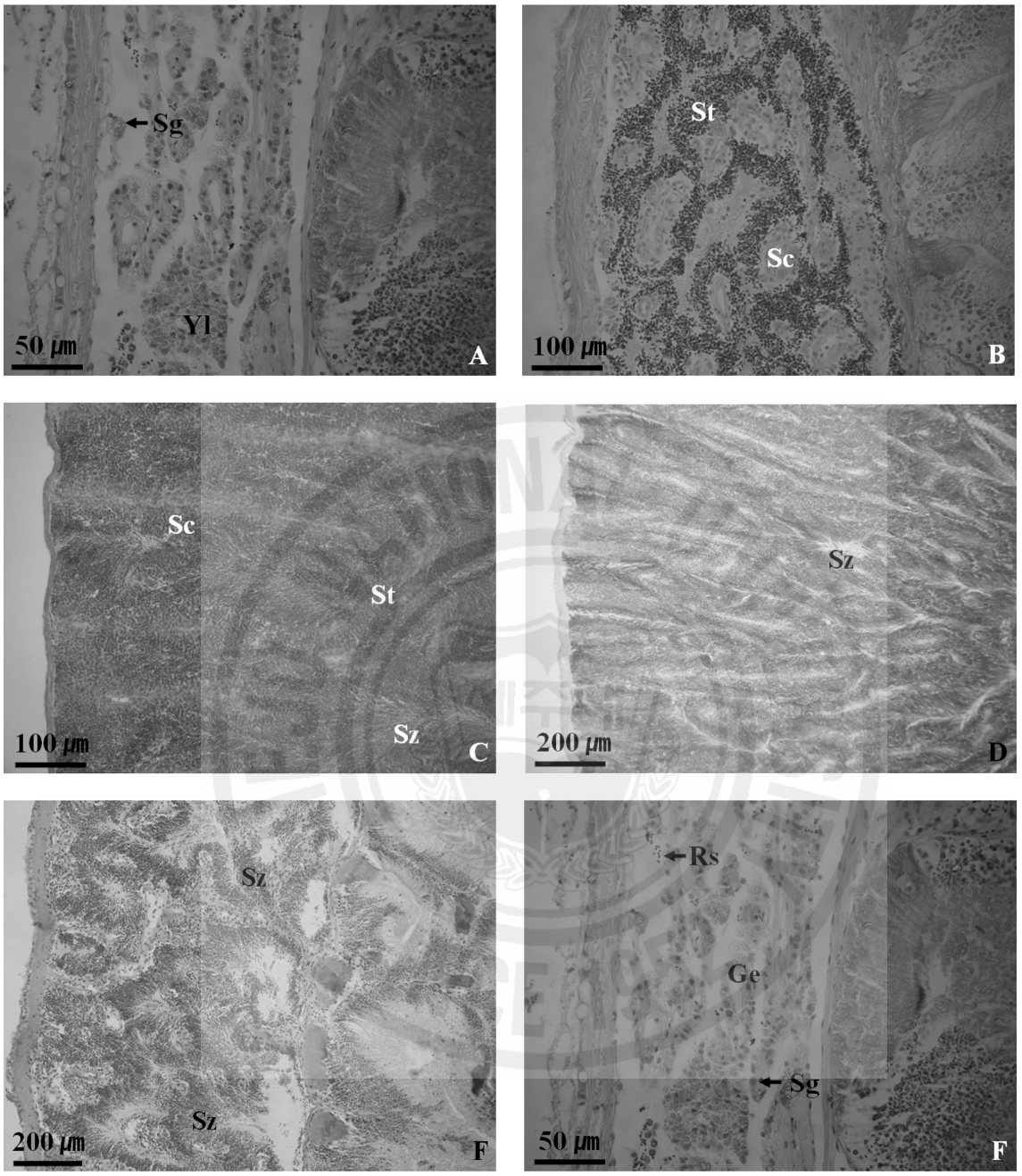


Fig. 8. Photographs of various testicular development stages in *H. diversicolor*. A, Multiplication stage; B, Growing stage; C, Mature stage; D, spawning stage; E, Degeneration stage; F, Recovery stage. Abbreviations: Ge, Germinal epithelium; Rs, Remainder spermatozoa; Sc, Spermatocytes; Sg, Spermatogonia; St, Spermatids; Sz, Spematozoa Yl, Yellowish granular cells existing with mesenchymal tissue in gonad lumen.

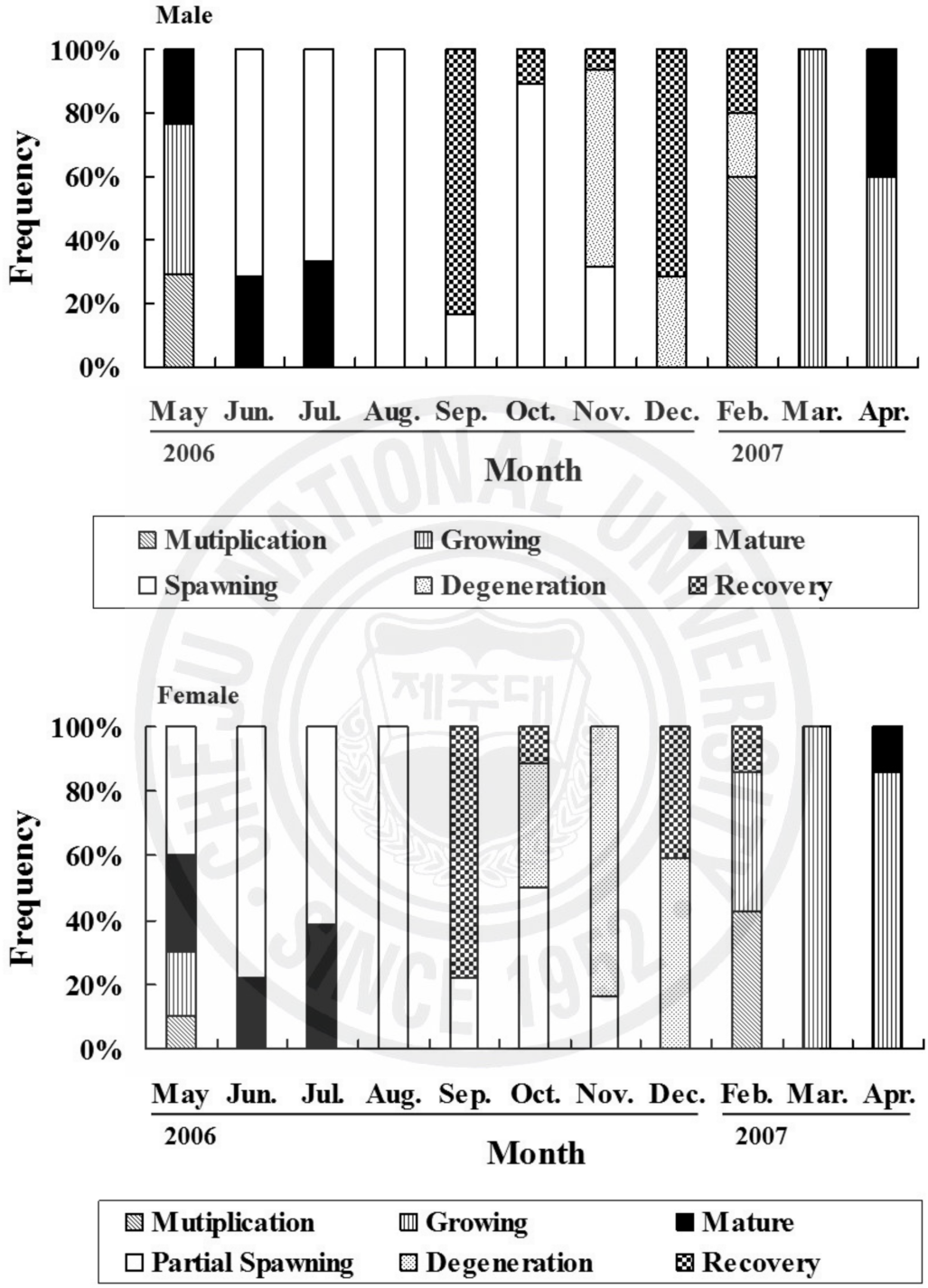


Fig. 9. Monthly variations of relative frequency of various gonad development stages from May, 2006 to April, 2007 in *H. diversicolor*.

5. 산란시기의 달주기에 따른 주별 생식소지수

산란시기인 7월부터 10월까지 달주기에 따른 암·수 GI의 주별 변화를 조사한 결과 암컷의 GI는 7월 12일(신월)에 51.5±7.0에서 점차 높아지기 시작하여 8월6일(하현)에 71.5±7.0로 높은 값을 보였으며, 그 이후 급격히 낮아져 1주일 후 8월 14일(신월)에 29.8±4.8로 낮아 졌다. 이후 점차 증가하기 시작하여 9월 11일(신월)에는 83.5±2.6로 최고 값을 나타내었다. 수컷의 GI는 7월 12일에 60.7±3.7로 시작하여 다소간의 변동 값을 보이다가 9월 11일 다시 71.7±3.0으로 최고 값을 보였다.

태풍 나리(NARI, 2007년 9월 16일)가 제주를 지나간 이후 9월 28일 암·수의 GI는 급격히 감소하여 암컷은 23.1±3.3이었으며, 수컷은 22.0±4.8이었다($P<0.05$). 이후 10월 25일의 GI는 암수 각각 20.7±3.6, 15.5±3.6으로 낮은 값을 나타내었다($P<0.05$, Fig. 10).

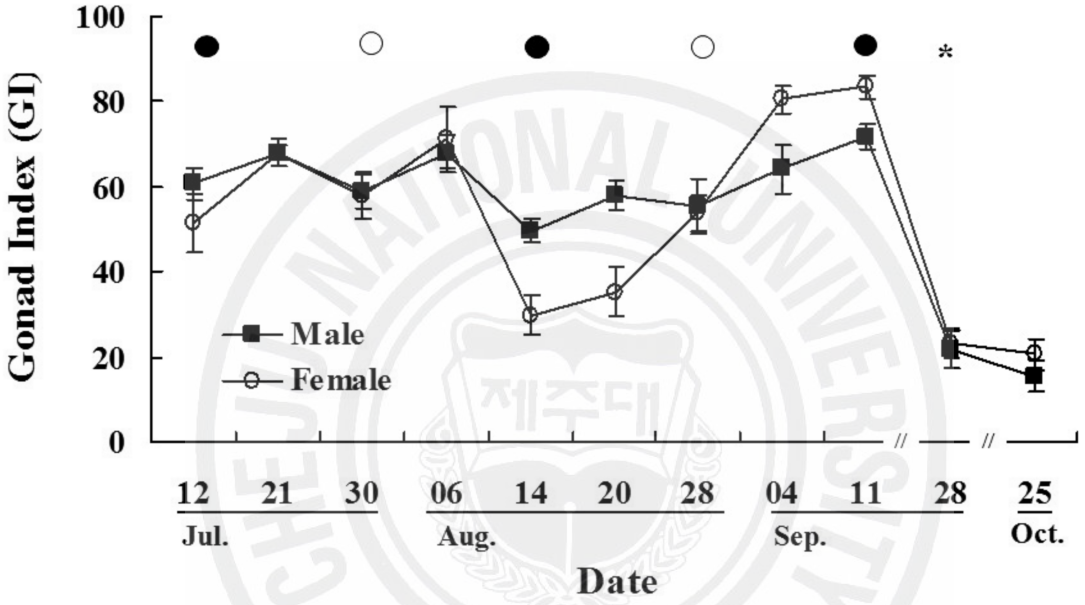


Fig. 10. Weekly changes of gonad index (GI) by lunar cycle at spawning seasons in *H. diversicolor*. Bar= standard error of means. *: Histological observation after typhoon (NARI: 16, Sep. 2007). ●, new moon; ○, full moon.

6. 산란시기의 달주기에 따른 주별 생식세포 발달

오분자기의 산란시기인 7월부터 10월까지 달주기에 따른 생식세포 발달을 주별 조사한 결과 암컷은 달주기에 상관없이 산란시기 동안 대부분 산란하는 개체가 관찰되었으나, 소수 성장기와 회복기 단계의 조직상을 갖는 개체도 관찰되었다(Fig. 11). 수컷의 생식세포 발달은 성숙 및 방정기, 그리고 회복기 등의 조직상을 갖는 개체들이 관찰되었다(Fig. 11). 태풍이 지나간 이후 암컷은 모든 개체에서 산란을 마친 후 회복기 단계이었고(Fig. 11, 12), 수컷도 대부분 방정기 후 회복기 단계의 조직상을 갖는 개체들이 관찰되었다(Fig. 11, 13).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

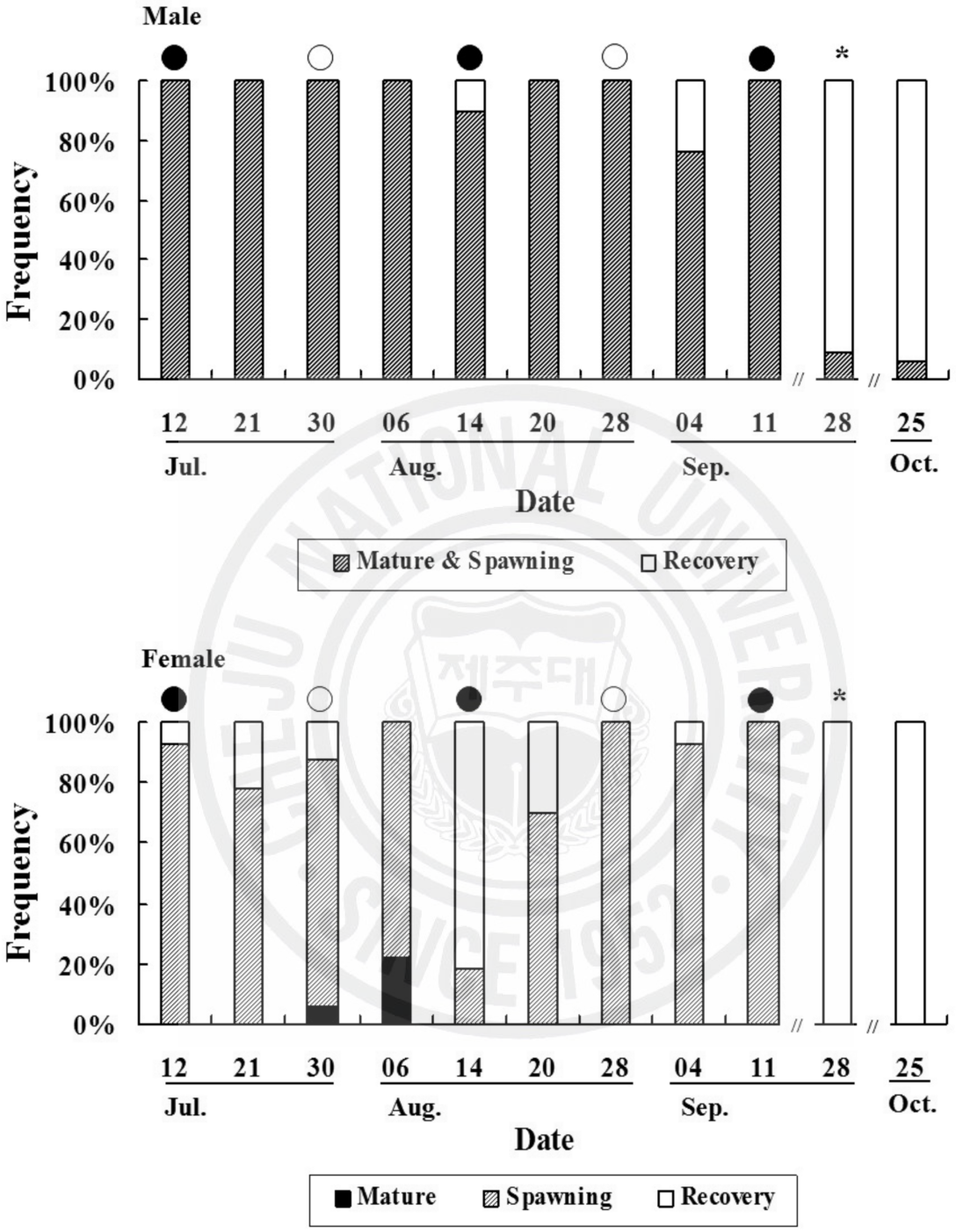


Fig. 11. Weekly changes on relative frequency of various gonad development stages by lunar cycle in spawning seasons in *H. diversicolor* from Jul. to Oct. 2007. *, Histological observation after typhoon (NARI: 16, Sep. 2007); ●, new moon; ○, full moon.

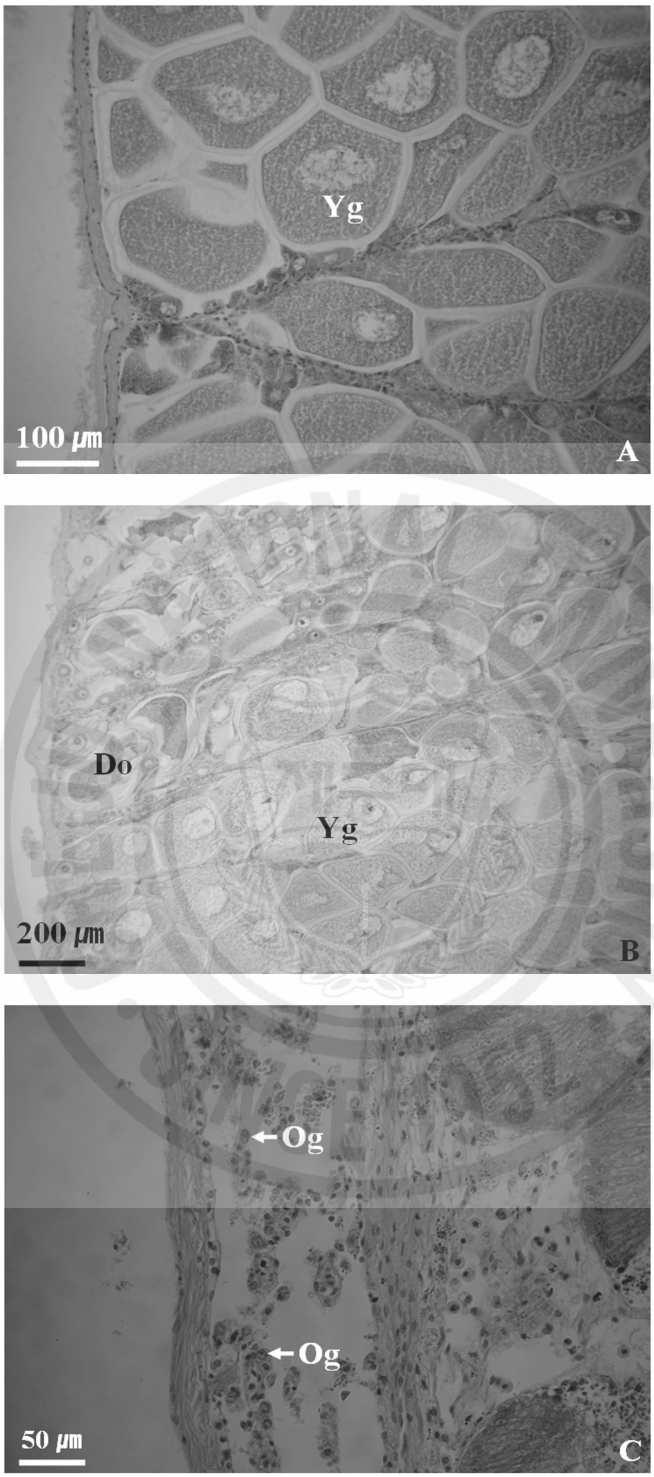


Fig. 12. Photographs of various ovarian development stages by lunar cycle in spawning seasons of *H. diversicolor*. A, Mature stage; B, Partial spawning; C, Recovery stage. Abbreviations: Do, Degenerating oocyte; Og, Oogonium; Yg, Yolk globule stage oocyte.

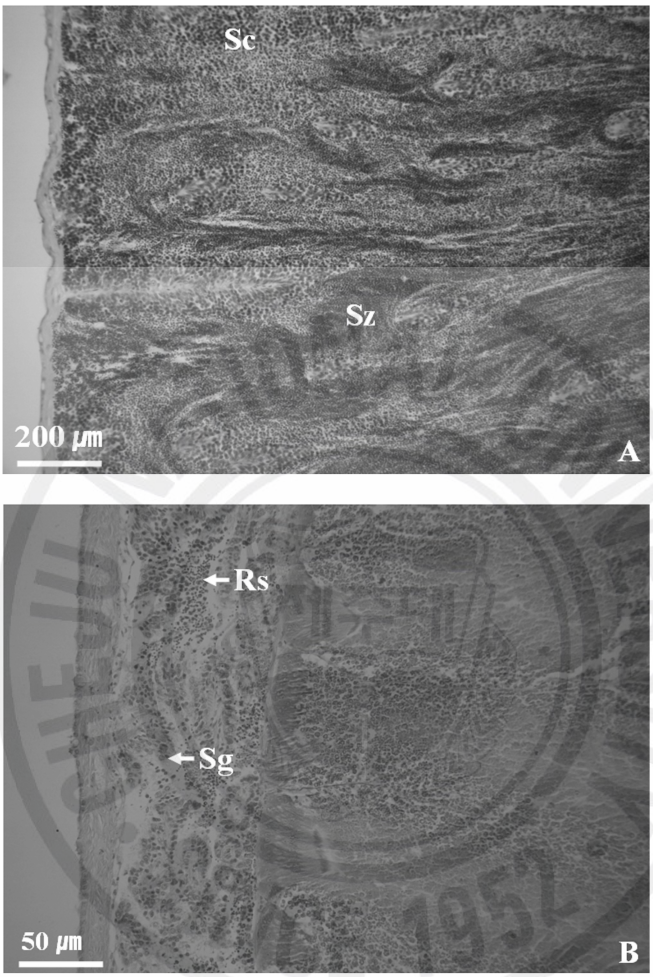


Fig. 13. Photographs of various testicular development stages by lunar cycle in spawning seasons of *H. diversicolor*. A, Mature and spawning stage; B, Recovery stage. Abbreviations: Rs, Remainder spermatozoa; S, Spermatozoa; Sc, Spermatocyte; Sg, Spermatogonia.

7. 성비

생식주기에 따른 성비 조사 결과 성비는 2006년 5월부터 2007년 4월까지 채집한 오분자기 총 291개체를 대상으로 조사한 결과 월별로 암·수의 비율이 다소 차이가 있었다. 평균 성비는 암컷 1.5 : 수컷 1.0으로 조사되었다. 그리고 12월부터 이듬해 4월까지 일부 개체에서는 육안 또는 조직상으로 성 구분이 어려웠다(Table 3).

산란시기 산란특성에 따른 성비 조사 결과 2007년 7월부터 10월까지 주별 및 태풍경과 후 채집한 오분자기 총 개체수 313 개체를 대상으로 조사한 성비는 주별로 암수의 비율이 다소 차이가 있었다. 성비는 암컷 43.5%, 수컷 56.5%로, 평균 성비는 0.77:1.00 비율이었다(Table 4).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

Table 3. Sex ratios according to monthly sampling from May, 2006 to April, 2007 of *H. diversicolor*

Month	Total Individual	No. of Female	No. of Male	S. U.*	Sex ratio (%)		
					Female	Male	S. U.*
May	27	10	17	-	0.6	1.0	-
Jun.	25	18	7	-	2.6	1.0	-
Jul.	26	11	15	-	0.7	1.0	-
Aug.	13	5	8	-	0.6	1.0	-
Sep.	26	14	12	-	1.2	1.0	-
Oct.	27	18	9	-	2.0	1.0	-
Nov.	28	12	16	-	0.8	1.0	-
Dec.	30	17	5	8	3.4	1.0	2.7
Feb.	29	14	5	10	2.8	1.0	2.0
Mar.	30	12	2	15	6.0	1.0	7.5
Apr.	30	21	5	4	4.2	1.0	0.8
Total	291	152	101	37	1.5	1.0	0.4

*S. U., sex unidentification

Table 4. Sex ratios according to weekly sampling in spawning seasons from July to October, 2007 of *H. diversicolor*

Date	Total individual	No. of female	No. of Male	Sex ratio	
				Female	male
Jul. 12	27	14	13	1.07	1.0
Jul. 21	23	9	14	0.64	1.0
Jul. 30	30	16	14	1.14	1.0
Aug. 06	22	9	13	0.69	1.0
Aug. 14.	30	11	19	0.58	1.0
Aug. 20	25	8	17	0.47	1.0
Aug. 28	30	15	15	1.0	1.0
Sep. 04	30	14	16	0.88	1.0
Sep. 11	30	14	16	0.88	1.0
Sep. 28	36	13	23	0.57	1.0
Oct. 25	30	13	17	0.77	1.0
Total	313	136	177	0.77	1.0

Ⅳ. 고 찰

해산 무척추 동물의 산란특성은 성숙 산란시기에 따라 3가지 유형으로 늦은 가을부터 이듬해 봄 사이에 산란하는 동계 산란형(winter breeders), 늦은 봄부터 이른 가을사이에 산란하는 하계산란형(summer breeders), 그리고 연중 산란하는 형(year-round breeders) 등으로 구분된다(Boolootian et al., 1962). 우리나라 연안에 서식하는 전복류의 경우, 난류계인 말전복, *H. gigantea*는 11-12월, 시볼트전복, *H. sieboldii*는 11-12월, 까막전복, *H. discus*는 10-12월, 한류계인 참전복, *H. discus hannai*는 7-10월에 각각 산란한다(Lee, 1974). 그리고 제주연안에 서식하는 오분자기는 7-10월에 산란하고(Lee and Lee, 1982), 일본연안에 서식하는 오분자기는 6-11월에 산란하는 하계산란형에 속한다(Oba, 1964; Okuno et al., 1978; Takashima et al., 1978). 제주연안에 서식하는 원시복족목 밤고둥과 보말고둥류의 생식주기에 관한 연구에서 구멍밤고둥, *C. argyrostoma turbinata*은 9월, 명주고둥, *C. xanthostigma*은 7-8월, 소라과 눈알고둥, *L. coronata coreensis*은 8-9월, 울타리고둥, *Monodonta labio*은 10월에 각각 산란을 하는 하계산란형에 속한다(Kim et al.,, 1996; Lee et al., 1998; Oh et al., 2000; Song et al., 2002).

이 연구에서 오분자기는 수온이 상승하는 5월부터 생식소가 성숙하여, 생식주기의 조직상과 GI의 월별 변화에서도 5월부터 GI값이 높아지기 시작하여 7월과 8월 그리고 10월에 높은 값을 나타내었다. 그리고 9월과 11월에 낮은 값을 보여 주산란시기 8-11월, 부산란시기는 6-7월로 산란시기는 6-11월로 추정된다. 제주 연안에 서식하는 오분자기 산란형은 하계산란형에 속하며, 일본연안에 서식하는 오분자기와 참전복의 산란시기와 유사한 산란시기를 갖는 경향을 보였다.

전복류의 생식주기를 조절하는 환경요인으로 *H. laevigata*와 *H. cyclobates*에서는 먹이가 주요 요인으로 보고 있다(Shepherd, 1973; Shepherd and Law, 1974). *H. asinina*는 수온이 주요 요인이고(Counihan et al., 2001), *H. cracherodii*는 광주기 영향을 받는 것으로 보고되었다(Webber and Giese, 1969). *H. rubra*의 생식세포 형성과정은 종 특이적으로 지형학적 위치에 따라 다르다(Shepherd and Law, 1974). 그리고 내인성 호르몬 등이 전복류의 생식주기에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Webber and Giese, 1969; Tutschulte and Connell, 1981).

이와같이 전복류의 생식주기에 영향을 주는 많은 요인들 중 산란을 자극하는 중요한 요인은 수온이며(Loosanoff, 1962; Newman, 1967; Brousseau, 1995), 급격한 수온변화 자극은 참전복 등 전복류에서 성 성숙(Uki and kikuchi, 1984; Hahn, 1994)과 산란을 유도하는 요인이다(Tanaka et al., 1986). *H. asinina*는 봄철에 신월 또는 보름시기 아침 간조에 배란하여 18시간 후 저녁 만조시에 산란을 하고(Jebreen et al., 2000), 수온상승과 달주기에 따른 조석주기 영향으로 산란하는 조석주기에 의한 내인성 리듬이 상호 연관성이 있다(Counihan et al., 2001). 일본연안에 서식하는 오분자기의 경우 성숙·산란시기에 태풍 후 대부분 개체에서 산란하여 태풍이 산란유발 요인으로 보고 있다(Onitsuka et al., 2007).

이 연구에서 오분자기의 GI는 태풍 이전 9월 11일에는 최고값 71.7±3.0을 보이다가 9월 19일 태풍이 제주도를 통과한 후 9월 28일 오분자기의 GI는 낮은 값 22.0±4.8을 보였다. 태풍 이후 암·수 모든 개체들의 생식소 발달 단계는 대부분 산란을 마친 후 회복기 단계의 조직상을 갖는 개체들이 관찰되었다. 따라서 태풍 영향이 오분자기의 산란·방정을 유도하는 물리적인 유발요인으로 판단되나, 태풍의 강도와 횟수 등과 관련지어 지속적인 연구 조사가 요구된다.

제주 연안에 서식하는 오분자기는 달주기 및 조석주기에 따라 생식소의 GI값의 변동과 조직상의 생식소 발달 단계 조사 결과 8월의 신월시기에 산란 및 방정후의 개체들이 출현하였다. 그러나 9월의 신월시기에는 8월의 신월시기와 같은 재현성을 볼 수가 없었으나, 성 성숙 산란시기에 계절별과 시간별로 조석에 따른 세밀한 연구가 필요하다고 사료된다.

전복류의 년중 산란 횟수는 종에 따라 차이가 있다. 온대 지역에 서식하는 참전복, 뉴질랜드산 전복류, 호주 남부 전복류, 캘리포니아 남부지역 전복류, *H. midae*, *H. rufescens*, *H. pustulata*, *H. tuberculata*, *H. roei*, *H. iris*, *H. australis*, *H. rubra* 등은 일년에 1회 또는 2회의 산란시기를 갖는 것으로 알려져 있다(Newman, 1967; Poore, 1973; Sheperd and Laws, 1974; Giorgi and Martini, 1977; Pearse, 1978; Takashima et al., 1978; Hayashi, 1980; Tutschulte and Connell, 1981; Ault, 1985; Wells and Keesing, 1989a, b; Wilson and Schiel, 1995; Litaay and DeSilva, 2001, 2003). 그러나 열대 전복류인 *H. varia*, *H. asinina*, 그리고 *H. ovina* 등은 년중 산란능을 갖는 것으로 알려져 있다(Bussarawit et al., 1990; Singhagratwan and Doi, 1992; Jarayabhand and Paphavasit, 1996; Capinpin et al., 1998).

오분자기 생식소의 조직학적인 관찰 결과 9월과 11월에는 대부분 모든 개체에서 산란 및 방정기 조직상의 생식소 발달단계를 갖는 개체였으며, GI의 월별변화에서 암컷은 9월 27.75±4.76과 11월 18.98±3.60로 감소하였다. 이와같은 결과 오분자기의 산란기는 주산란기 8-11월 그리고 부산란기 6-7월로 추정할 수 있었으며, 일년에 2회 이상의 산란시기를 갖는 다회 산란의 특성을 보였다. 이와같은 결과는 온대지방 전복류의 산란특성과 유사하였다.

패류 중 원시복족목 소라과 그리고 밤고둥과 등은 산란과 방정기 이후에 휴지기에 들어가 생식소는 활발한 분열증식을 하는 생식세포를 관찰할 수 없는 종도 있다(Orton et al., 1956; Loosanoff, 1962). 전복류는 휴지기 과정 없이 산란과 방정기 이후 회복기에 접어들어 생식소에는 연중 산란과 방정할 수 있는 생식세포 발달 과정을 유지한다(Webber and Giese, 1969; Young and DeMartini, 1970; Shepherd and Law, 1974; Lee, 1974; Hayashi, 1980). 이 연구에서 오분자기는 배란과 산란 후 생식세포과정인 난 형성과 정자 형성 과정을 갖는 생식소의 조직상을 관찰할 수 있어 휴지기 과정 없이 회복기 과정에 접어드는 생식주기를 알 수 있었다.

전복류 개체군에서 산란 후 재산란 가입 시기까지 소요기간은 열대 전복류인 *H. asinina*는 수온 26℃에서 최소 2주가 소요되고, 온대지방에 서식하는 까막전복은 1개월 이상 그리고 일본 연안에 서식하는 오분자기는 최소 1개월 후 재산란을 한다는 보고가 있다(Jebreen et al., 2000; Fukazawa et al., 2007; Onitsuka et al., 2007). 이 연구결과 오분자기는 주산란 시기인 8-9월에 1차 산란을 한 후 10-11월에 2차 산란에 가입하는 경향을 보였다. 이와같은 결과는 재산란가입 기간이 최소 1개월 이상이 소요되는 것으로 추정할 수 있었으며 일본산 오분자기 재산란 가입 소요기간에 관한 연구결과와 유사하였다(Onitsuka et al., 2007).

열대 전복류인 *H. asinina*는 난소내 각 소낭에서 동시에 배란과 산란이 이루어지지 않고 부분산란(partial spawning)을 한다(Capinpin et al., 1998). 오분자기 경우도 산란기 개체의 난소 소낭에는 생식세포 발달과정이 서로 다른 조직상, 즉 성숙난과 소수 어린난모세포를 갖는 소낭과 부분산란 흔적을 가진 소낭 그리고 퇴행난과 소수 어린난모세포를 갖는 서로 다른 소낭 조직상을 관찰 할 수 있어 부분산란의 특성을 관찰할 수 있었다. 그리나 정소는 난소의 소낭에서 관찰할 수 있는 부분방정의 뚜렷한 조직상을 구분하는 것은 어려웠다.

성게, *Strongylocentrous purpuratus*에서 호산성 과립세포가 영양물질을 식세포

기능을 하는 세포(nutritive phagocyte)라고 보고되었다(Chatlymne, 1969). 소라, *Turbo cornutus*, 재첩, *Corbicula fluminea* 그리고 눈알고둥, *Lunella coronata coreensis* 등에서 호산성 과립세포들이 미분화 간충직과 혼재하여 생식소 발달초기에는 다수 출현하다가 생식소의 성숙에 따라 점차 감소한다(Lee, 1983; Oh et al., 2000). 오분자기의 생식소 내강에 존재하는 황색 과립세포의 출현양상과 유사하여 생식주기에 따라 분열증식기와 회복기에는 다수 출현하나 생식소가 성숙시기인 산란기와 성숙기에는 매우 미약하게 존재하였다. 따라서 황색 과립세포는 생식세포의 성장과 성숙에 상호 관련하는 영양세포의 기능을 수행하는 세포로 생각된다.

열대 전복류 *H. asinina*의 생식상피 연구에서 결합조직에 존재하는 과립세포가 egg-laying 호르몬을 분비하는 세포라는 보고가 있다(Chanpoo et al., 2001). 오분자기의 결합조직과 생식상피에 존재하는 황색 과립세포와는 분포양상과 세포형태가 유사하며, 특히 오분자기 황색 과립세포의 생식주기에 따른 출현양상과 유사하였다. 산란기에 황색과립의 출현빈도가 높아 산란유발을 유도하는 세포라고 판단되나, 이 세포의 기능을 조사하기 위해 면역학적 및 세포학적인 규명이 필요하다.

암·수 생식상피의 형태는 생식주기에 따라서 분열증식기에는 관상과 미로형의 돌기 형태에서 성장기에는 비후 신장하여 짧고 긴 돌기형의 관상, 성숙 및 방정기에는 가늘고 긴 돌기형 그리고 회복기에는 세관상의 환형으로 형태학적인 변화를 보였다.

지금까지 복족류의 생식주기를 구분하는데 있어서 많은 연구자들은 대부분 난 형성 과정, 생식소 지수(GI) 그리고 생식세포의 조직상을 토대로 구분하는 경향이 있다. 이 연구에서는 기존의 생식주기 단계 구분에 이용한 근거자료와 더불어 생식세포 발달단계에 따라 황색 과립세포 출현양상과 생식상피의 형태변화에 따라 생식주기 단계를 분류하였으며, 이와 같은 방법은 다른 전복류의 생식주기 분류에도 이용가능 할 것으로 사료된다.

대부분 전복류는 성비가 1:1이다(Newman, 1967; Young and DeMartini, 1970; Poore, 1973; Hayashi, 1980; Lee and Lee, 1982; Capinpin et al., 1998; Litaay and DeSilva, 2001, 2003). 오분자기의 경우 암·수 성비는 년 생식주기 조사과정에서는 1.5:1.0이었으며, 12월부터 이듬해 4월까지는 성 구분이 안 되는 개체도 있었다. 그리고 산란시기의 경우 암·수 성비는 0.8:1.0이었다. 이와 같은 성비 차이는 오분자기 채집과정에서 발생하는 문제점으로 사료된다.

요 약

오분자기, *H. diversicolor aquatilis*는 제주도 연안 수심 3-6m 지역에 널리 서식하며, 전복류 중 각장 10 cm 미만인 소형종이다. 최근 제주 연안의 전복류 자원은 서식생태 환경 요인들로 인하여 급격히 감소하는 실정이다. 이를 위해 제주연안에 서식하는 전복류의 자원관리 및 회복을 위해 인공종묘 생산한 치패 방류 사업을 수행하고 있다. 이 연구는 오분자기 자원회복 및 관리를 위한 번식생물학적 특성인 오분자기의 성 분화에 관한 조직학적 특징, 생식세포와 생식소를 구성하는 세포의 미세구조 그리고 성 성숙시기 및 산란시기에 산란특성을 탐색하고자 이 연구를 수행하였다.

성 분화

2006년 6월에 인공부화한 오분자기 치패를 부화 후 2개월부터 12개월까지(각장 4.1 mm - 31.0 mm) 성분화 과정을 조직학적인 방법으로 연구하였다. 생식소강 형성은 부화 후 2개월 치패(<4.1 mm SL)에서 63%가 형성되었다. 생식원세포(gonocyte)는 부화 후 3개월 치패(<5.1 mm SL) 생식소강 내벽에 출현하였다. 격막(septum)은 부화 후 3개월 치패(5.1 mm SL)에서 관찰되며 생식소강은 격막에 의해 분할 구획되었다. ridge는 부화 후 7개월 치패(<18.1 mm SL)에서 존재하였고, 생식소강 외막 내벽 결합조직에서 기원하여 내막 간췌장 기관 쪽으로 신장 발달 하였다. 난소 분화는 부화 후 8개월 치패(18.1-19.0 mm SL)에서 최초로 관찰되었다. 정소 분화는 부화 후 10개월 치패(<18.1 mm SL) 생식소강 내벽에 돌기형의 ridge에서 정자 형성 과정을 관찰할 수 있었다. 부화 후 10개월에 난소 분화는 64%, 정소 분화는 36%의 분화가 이루어졌다. 부화 후 12개월 치패(<17.1 mm SL)의 96.3%가 난소와 정소로 성분화가 이루어 졌다.

생식소 발달

오분자기 난 형성은 세포의 모양과 크기, 핵과 인의 형태, 유구와 난황구의 출현 양상 그리고 젤리층이 유무 등 형태학적인 특징에 따라 난원세포, 주변인기, 초기 유구기, 후기 유구기, 초기 난황구기, 후기 난황구기 난모세포 그리고 퇴행란 등 7단계로 구분되었다.

난황형성 과정은 자가형성과 타가형성으로 구분되었다. 자가형성은 유구기 난모세포의 골지체와 조면소포체 등 세포 소기관이 관련되는 난황형성 초기 과정이다. 타가형성은 난황구기 난모세포 미세융모와 세포막의 변형구조인 돌기상의 세포막에 의한 난모세포 이외의 세포에서 형성된 난황 전구단백질인 vitellogenin 또는 성숙난황구가 endocytosis인 pinocytosis으로 난모세포로 유입되는 난황형성 후기 과정이다. 젤리층은 난모세포 세포질 가장자리 피질층에 존재하는 전자밀도가 높은 막성과립들이 exocytosis 현상에 의해 형성된 후 난황층이 형성되었다. 완숙난모세포는 세포질내 유구, 난황구 그리고 피질 과립이 조밀하게 존재하였고, 난막은 난황층과 젤리층 등으로 둘러싸여 있다.

정자 형성 과정은 세포의 모양과 크기, 핵의 모양, 염색질 응축성과 과립성 양상 그리고 세포 소기관의 발달에 따라 1차 정모세포, 2차 정모세포, 미숙정자 그리고 성숙정자 등으로 구분되었다. 1차 정모세포는 세사기, 접합기, 태사기, 복사기 그리고 이동기 등으로 세분화 할 수 있었다. 완숙정자는 첨체와 핵으로 구성된 두부, 핵과 편모의 연결부인 중편, 그리고 9+2 미세소관 구조인 축사로 구성된 미부 등 3부분으로 구성되었다. 중편에는 6개의 둥근형의 미토콘드리아가 존재하였다. 첨체 형성의 기원은 정원세포 세포질에 존재하는 막성과립이 최초 전첨체 과립이며, 정세포의 골지체 성숙면에서 기원하는 다수의 전첨체과립이 융합에 의해 하나의 전첨체포로 형성되었다. 이후 첨체는 핵막과 전첨체포 내막의 함입으로 형태적인 변화 후 첨체기둥을 중심으로 이등분된 신장형으로 존재하였다.

생식소 상피조직은 2유형의 분비성 상피세포와 지지세포 등으로 구성되었으며, 세포유리면에는 미세융모가 발달하였다.

생식소 내강에 존재하는 황색 과립세포는 세포 소기관 발달은 미약하나, 막성액포와 원형의 섬유상 물질로 충만된 액포 그리고 조면소포체가 존재하였다. 황색 과립세포는 암·수 모든 개체에서 생식주기에 따라 분열증식기, 산란 및 방정기 그리고

회복기 등에 출현빈도가 높게 조사되었다.

난 형성 및 성숙발달 과정과 연관된 여포세포는 난원세포 단계에서 유구기 난모세포 단계까지 cell junction 으로 연접하여 존재하고, 조면소포체가 발달하였다.

생식주기 및 산란기 산란특성

생식소지수(GI)의 월별 변화는 암컷 GI는 2006년 5월부터 급격히 증가하여 7월에 최대(55.38±11.73)에 이른 후, 8월에 급격히 감소하여 9월에 낮은 값(27.75±4.76)을 보인 후 다시 급격히 증가하여 10월에 높은 값(51.36±7.47)을 보였다. 이후 감소하여 2007년 4월까지 낮은 값(7.65±0.85)을 유지하였다. 수컷의 GI도 암컷의 GI 월별 변화와 유사한 경향을 보였다.

오분자기의 생식주기는 생식세포 발달 단계에 따라 연속적인 6단계로 구분할 수 있었다. 암컷은 분열증식기(2월과 5월), 성장기(2월-5월), 성숙기(4월-7월), 산란기(6월-8월, 10월), 퇴행기(10월-12월) 그리고 회복기(9월-10월, 12월-2월) 등으로 구분할 수 있었다. 수컷은 분열증식기(2월과 5월), 성장기(3월-5월), 성숙기(4월-7월), 방정기(6월-8월, 10월), 퇴행기(11월-2월) 그리고 회복기(9월-2월) 등으로 구분할 수 있었다. 오분자기 GI 및 생식소의 조직상 관찰 결과 산란기는 주산란기 8-11월그리고 부산란기 6-7월로 추정할 수 있었으며, 일년에 2회 이상 산란하는 다회 산란특성을 보였다.

오분자기의 산란시기인 7월부터 10월까지 달주기에 따른 산란리듬을 조사한 결과 생식소 지수의 주별 변화와 조직상을 조사한 결과 암컷은 달주기에 상관없이 산란시기 동안 대부분 산란하는 개체들이 관찰되었다. 태풍(NARI)이 제주를 지나간 이후 암컷은 모든 개체에서 산란 후 회복기 단계의 조직상을 갖는 개체였으며, 수컷도 대부분 회복기 단계의 생식주기를 갖는 조직상의 개체들이 관찰되었다.

참 고 문 헌

Anderson, W. A. and P. Personne. 1970a. The localization of glycogen in the spermatozoa of various invertebrate and vertebrate species. J. Cell. Biol., 44, 29-51.

Anderson, W. A. and P. Personne. 1970b. Recent cytochemical studies on spermatozoa of some invertebrate and vertebrate species. In: comparative spermatology. Bacetti, B. Ed., Academic Press, New York. 431-457.

Anderson, W. A. and P. Personne. 1975. The molluscan spermatozoon: Dynamic aspects of its structure and function. Am. Zool., 16, 293-313.

Apisawetakan, S., A. Thongkukiatkul, C. Wanichanon, V. Linthong, M. Kruatrachue, E. S. Upatham, T. Pumthong and P. Sobhon. 1997. The gametogenic processes in a tropical abalone, *Haliotis asinina* Linnaeus. J. Sci. Soc. Thailand, 23, 225-240.

Apisawetakan, S., M. Chanpoo, C. Wanichanon, V. Linthong, M. Kruatrachue, E. S. Upatham, T. Pumthong and P. Sobhon. 2001b. Characterization of trabecular cells in the gonad of *Haliotis asinina* Linnaeus. J. Shellfish Res. 20, 717-724.

Apisawetakan, S., V. Linthong, C. Wanichanon, S. Panasophonkul, A. Meepool, M. Chanpoo, M. Kruatrachue, E. S. Upatham, T. Pumthong, and P. Sobhon. 2001a. Ultrastructure of female germ cells in *Haliotis asinina* Linnaeus. Inverterbr. Reprod. Dev. 39. 67-79.

Ault, J. S. 1985. Some quantitative aspects of reproduction and growth of the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. J. World Maricul. Soc. 16, 398-425.

Awaji, M. and K. Hamano. 2004. Gonad formation, sex differentiation and gonad maturation processes in artificially produced juveniles of the abalone, *Haliotis discus hannai*. Aquaculture. 239, 397-411.

Bacetti, B. and B. A. Afzelius. 1976. The biology of sperm cell. Monographs in

developmental biology 10. Basel. S. Karger Basal.

Bilinski, S. M., M. K. Jaglarz, B. Szymanska, L. D. Etkin and M. Kloc. 2004. Sm proteins, the constituents of the spliceosme, are components of nauge and mitochondrial cement in *Xenopus* oocytes. Experimental Cell Research. 299, 171-178.

Boolootian, R. A., A. Farman-farman and A. C. Giese. 1962. On the reproductive cycle and breeding habits of two western species of *Haliotis*. Biol. Bull. Woods Hole Mar. Biol. Stn., 122, 183-192.

Bottke, W., I. Sinha and I. Keil. 1982. Coated vesicle-mediated transport and deposition of vitellogenic ferritin in the rapid growth phase of snail oocytes. J. Cell. Sci. 53, 173-191.

Brousseau, D. J. 1995. Gametogenesis and spawning in intertidal oysters, *Crosostrea virginica* from western Long Island Sound. J. Shellfish. Res. 14, 483-487.

Breen, P. A. and B. E. Adkims. 1980. Spawning in a British Columbia population of northern abalone, *Haliotis kamtschakana*. Veliger. 23, 177-179.

Bussarawit, S., P. Kawinlertwathana and A. Nateewathana. 1990. Preliminary study on reproductive biology of the abalone, *Haliotis varia* at Phuket, Andaman Sea Coast of Thailand. Kasetsart J. Nat. Sci. 24, 529-539.

Campbell, A., J. Lessard and S. Jamieson. 2003. Fecundity and seasonal reproduction of northern abalone, *Haliotis kamtschatkna*, in barkley sound, Canada. J. Shellfish Res., 22 (3), 811-818.

Capinpin, E. C. Jr., V. C. Encena II, and N. C. Bayona. 1998. Studies on the reproductive biology of the donkey's ear abalone, *Haliotis asinina* Linne. Aquaculture. 166, 141-150.

Chanpoo, M., S. Apisawetakan, A. Thongkukiatkul, C. Wanichanon, V. Linthong, M. Kruatrachue, E. S. Upatham, T. Pumthong, P. J. Hanna and P. Sobhon. 2001. Localization of egg-laying hormone (ELH) in the gonads of a tropical abalone, *Haliotis asinina* Linnaeus. J. Shellfish Res. 20, 725-731.

Chatlymne, L. G. 1969. A histochemical study of oogenesis in the sea urchin,

Strongylocentrotus purpuratus. Biol. Bull. 136, 167-184.

Colwin, A. L. and L. H. Colwin. 1964. Role of the gamete membranes in fertilization. p 233-279. In. Locke, M. Ed., Cellular membranes in development. Academic Press, New York. p 382.

Counihan, R. T., D. C. McNamara, D. C. Souter, E. J. Jebreen, N. P. Preston, C. R. Johnson and B. M. Degnan. 2001. Pattern, synchrony and predictability of spawning of the tropical abalone *Haliotis asinina* from Heron Reef, Australia. Mar. Ecol. Prog. Ser. 213, 193-202.

D'Aniello, A., A. D. Cristo, L. Assisi, V. Botte and M. M. D. Fiore. 1996. Occurrence of sex steroid hormones and their binding proteins in *Octopus vulgaris* Lam. Biochem. Biophys. Res. Commun. 227, 782-788.

Daniels, E. W., A. C. Longwell, J. M. Mc Niff and R. W. Wolfgang. 1971. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster, *Crassostrea virginica*. Trans. Amer. Micros. Soc. 90, 275-282.

Eckelbarger, K. J., R. Bieler and P. M. Mikkelsen. 1990. Ultrastructure of sperm development and mature sperm morphology in three species of commercial bivalves (Mollusca; Galeommatoidea). J. Morphol. 205, 63-75.

Eulalio, A., I. Behm-Ansmant and E. Izaurralde. 2007. P-bodies: at the cross-roads of post-transcriptional pathways. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 8, 9-22.

Fontaine, A. R. and P. Lambert. 1976. The fine structure of the sperm of a holothurian and an ophiuroid. J. Morphol. 148, 209-226.

Franzen, A. 1956. On spermiogenesis, morphology of the spermatozoon, and biology of fertilization among invertbrates. Zool. Bidr. Upps. 31, 355-482.

Franzen, A. 1970. Phylogenetic aspects of the morphology of spermatozoa and spermiogenesis. In Baccetti B (ed) : "Comparative spermatology". New York : Academic Press. p 29-46.

Franzen, A. 1983. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. Gamete Res. 7, 199-214.

Fukazawa, H., T. Kawamura, H. Takami and Y. Watanabe. 2007. Oogenesis and relevant changes in egg quality of abalone *Haliotis discus hannai* during a single spawning season. Aquaculture. 270, 265-275.

Geiger, D. L., 1999. A total evidence cladistic analysis of Haliotidae (Gastorpoda : Vetigastropoda). PhD thesis, Univ. of Southern California, Los Angeles.

Giorgi, A. E. and J. D. De Martini. 1977. A study of the reproductive biology of the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson, near Mendocino, California. Calif. Fish Game. 63, 80-94.

Griffond, B. 1977. Individualisation et organogenese de la gonade embryonnaire de *Viviparus vivipurus* L. (Mollusque Gastropode prosobranche a sexes separes). Wilhelm Roux Arch. Dev. Biol. 183, 131-147.

Guerra, R., B. Campos and P. Esponda. 1994. Analysis of the spermatozoa of four bivalve with particular reference to the acrosome and plasma membrane glycoproteins. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 26, 489-495.

Gwo, J. C., C. H. Liou and C. H. Cheng. 1996. Ultrastructure of the spermatozoa of the Pacific oyster *Crassostrea giagas* (Mollusca, Bivalvia, Ostreidae). J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 28, 395-400.

Gwo, J. C., H. H. Chang and K. J. Jong. 1997. Ultrastructure of the spermatozoa of the small abalone, *Sulculus diversicolor supertexa* (Mollusca, Gastropoda, Haliotidae). J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 29 (2), 239-244.

Gwo, J. C., W. T. Yang, Y. T. Sheu and H. Y. Cheng. 2002. Spermatozoan morphology of four species of bivalve (Heterodonata, Veneridae) from Taiwan. Tissue and Cell. 34 (1), 39-43.

Hahn, K. O. 1994. Gametogenic cycle of the Japanese abalone (ezoawabi), *Haliotis discus hannai*, during conditioning with effective accumulative temperature. Aquaculture. 122, 227-236.

Hamaguchi, S. 1982a. A light- and electron-microscopic study on the migration of primordial germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*. Cell Tissue Res. 227, 139-151.

Hamaguchi, S. 1982b. Ultrastructual aspects of the sex-differentiation of germ

cells in the teleost, *Oryzias latipes*. Medaka 1, 21-22.

Hayashi, I. 1980. The reproductive biology of the omer, *Haliotis tuberculata*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 60, 415-430.

Healy, J. M. 1988a. Sperm morphology and its systematic importance in the Gastropoda. In : Prosobranch phylogeny (ed. W. F. Ponder). Malacol. Rev. (Suppl.). 4, 251-266.

Healy, J. M. 1988b. Ultrastructual observations on the spermatozoa of *pleurotomaria africana* Tomlin (Gastropoda). J. Moll. Stud. 54, 309-316.

Healy, J. M. 1989. Spermiogenesis and spermatozoa in the relict bivalve genus *Neotrigonia* : Relevance to trigonoid relationshiops, particularly with unionoidae. Marine Biology. 103, 73-85.

Healy, J. M., 1995. Sperm ultrastructure in the marine bivalve families Carditidae, and Crassatellidae and its bearing on unification of the Crassatelloidea with the Carditoidea. Zoologica Scripta. 24, 21-28.

Healy, J. M., K. P. Beames and D. B. Barclay. 1998. Spermatozoa of the Australian greenlip abalone *Haliotis laevigata* Donovan: Ultrastructure and comparison with other gastropods, especially other Haliotidae (Vertigastropoda, Mollusca). Invertebrate Reproduction and Development. 34, 197-206.

Healy, J. M. and R. J. C. Lester. 1991. Sperm ultrastructure in the Australian oyster *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley) (Bivalvia, Ostreidae). J. Molluscan Studies. 57, 219-224.

Hodgson, A. N., 1995. Spermatozoal morphology of Patellogastropoda and Vetigastropoda (Mollusca : prosobranchia). In : Advances in spermatozoal phylogeny and Taxonomy (eds B. CT. Jamieson, J. Ausio, J. L. Justine). Mern. Mus. natn. Hist. nat. 166 (Speical ed.) pp. 167-177.

Hodgson, A. N. and G. G. Foster. 1992. Structure of the sperm of some South Africa archaeogastorpoda (Mollusca) from the superfamilies Haliotoidea, Fissurelloidaea and Trochoidea. Mar. Biol. 113, 89-97.

Hodgson, A. N. and R. T. F. Bernard. 1986. Ultrastructure of the sperm and

spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). Gamete Res. 15, 123-135.

Horiguchi, T., M. Kojima, M. Kaya, T. Matsuo, H. Shiraishi, M. Morita and Y. Adachi. 2002. Tributyltin and triphenyltin induce spermatogenesis in ovary of female abalone, *Haliotis gigantea*. Mar. Environ. Res. 54, 679-684.

Horiguchi, T., M. Kojima, N. Takiguchi, M. Kaya, H. Shiraishi and M. Morita. 2005. Continuing observation of disturbed reproductive cycle and ovarian spermatogenesis in the giant abalone, *Haliotis madaka* from an organotin-contaminated site of Japan. Marine Pollution Bulletin. 51, 817-822.

Jarayabhand, P. and N. Paphavasit. 1996. A review of the culture of tropical abalone with special reference to Thailand. Aqucacultre, 140, 159-168.

Jarayabhand, P., N. Jew, P. Menasveta and S. Choonhabandit. 1994. Gametogenic cycle of abalone *Haliotis ovina* Gmelin 1794 at Khangkao Island, Chon-buri province. Thai J. Aqua. Sci. 1, 34-42.

Jebreen, E. J., R. T. Counihan, D. R. Fielder and B. M. Degnan. 2000. Synchronous oogenesis during the semilunar spawning cycle of the tropical abalone *Haliotis asinina*. J. Shellfish Resh. 19, 845-851.

Kim, B. H., K. S. Choi and Y. D. Lee. 1996. Study on the reproduvtive cycle of the top shell, *Chlorostoma argrostoma turbinata*. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju. Nat. Univ., 9-15. (In Korean)

Kloc, M., S. Bilinski and L. D. Etkin. 2004. The Balbiani body and germ cell determinants : 150 years later. Current Topics in Development Biology. 59, 1-36.

Koike, K., 1985. Comparative ultrastructual studies on the spermatozoa of the prosobranchia (Mollusca : Gastropoda). Sci. Rept. Fac. Educ. Gunma Univ. 34, 33-153.

Kosaka, K., K. Kawakami, H. Sakanoto and K. Inoue. 2007. Spatiotemporal localization of germ plasm RNAs during Zebrafish oogenesis. Mechanisms of Developemnt. 124, 279-289.

Kubo, M. and M. Ishikawa. 1978. Organizing process of the temporary acrosome in spermatogenesis of the bivalve *Lyonsia ventricosa*. J. Submicro Cytol. 10, 411-421.

Lee, C. H. and Y. D. Lee. 1998. Reproductive cycle of the top shell, *Chlorostoma xanthostigma*. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat. Univ. 22, 47-56. (In Korean)

Lee, J. J. and C. K. Lee. 1982. Gametogenesis, reproductive cycle and inducing spawning of the abalone, *Sulculus diversicolor aquatilis* (Reeve). Bull. Mar. Resour. Res. Inst. 6, 9-25. (In Korean)

Lee, J. J. 1983. Histological study on the reproductive cycle of cheju Island's turban shell, *Turbo cornutus*. Bull. Mar. Resour. Res. Inst., Cheju Nat. Univ. 7, 29-51. (In Korean)

Lee, T. Y., 1974. Gametogenesis and reproductive cycle of abalone. Publ. Mar. Lab. Busan Fish. College. 7, 21-50. (In Korean)

Lee, T. Y., C. K. Pyen, P. Chin and S. Y. Hong. 1978. Seed production and rearing of the abalone, *Haliotis discus hannai*. Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan. 11, 47-61. (In Korean)

LeGuellec, D., M. Thiad, J. P. Remy-Martin, A. Deray, L. Gomot and G. L. Adessi. 1987. In vitro metabolism of androstenedione and identification of endogenous steroids in *Helix aspersa*. Gen. Comp. Endocrinol. 66, 425-433.

Litaay, M. and S. S. De Silva. 2001. Reproductive performance indices based on physical characteristics of female blacklip abalone *Haliotis rubra* L. J. Shellfish Res. 20, 673-677.

Litaay, M. and S. S. De Silva. 2003. Spawning season, fecundity and proximate composition of the gonads of wild-caught blacklip abalone (*Haliotis rubra*) from Port Fairy waters, south eastern Australia. Aquat. Living Resour. 16, 353-361.

Longo, F. J. 1973. An ultrastructual analysis of polysperm in the surf clam, *Spisula solidissima*. J. Exp. Zool. 183, 153-180.

Longo, F. J. and E. J. Dornfeld. 1967. The fine structure of spermatid differentiation in the mussel, *Mytilus edulis*. J. Ultrastr. Res. 20, 462-480.

Loosanoff, V. L. 1962. Gametogenesis and spawning of the European oyster, *Ostrea edulis* in waters of Marine. Biol. Bull. 122, 86-95.

Martin, G. G., K. Romero and C. Miller-Walker. 1983. Fine structure of the ovary in the red abalone, *Haliotis rufescens* (Mollusca : Gastropoda). Zoomorphology. 103, 89-102.

Matsumoto, T., M. A. Nakamura, K. Mori and T. Kayano. 2003. Molecular characterization of a cDNA encoding putative vitellogenin from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Zool. Sci. 20, 37-42.

Matsumoto, T., M. Osada, Y. Osawa and K. Mori. 1997. Gonadal estrogen profile and immuno histochemical localization of steroidogenic enzymes in the oyster and scallop during sexual maturation. Comp. Biochem. Physiol. 118, 811-817.

Matsumoto, T., K. Yamano, M. Kitamura and A. Hara. 2008. Ovarian follicle cells are the site of vitellogenin synthesis in the Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 149, 293-298.

Medina, A., J. C. Garcia, F. J. Moreno and J. L. Lopez-Campos. 1986. Comparative studies on the histology of the ovotestis in *Hypseldoris tricolor* and *Godiva banyulensis* (Gastropoda, Opisthobranchia), with special reference to yolk formation. J. Morph. 188, 105-118.

Minh, L. D. 1998. Reproductive cycle of *Haliotis ovian* Gmelin 1791 in Nha Trang Bay, south central Vietnam. Phuket Mar. Biol. Cent. Spec. Publ. 18, 99-102.

Misamore, M., H. Silverman and J. W. Lynn. 1996. Analysis of fertilization and polyspermy in serotonin-spawned eggs of the zebra mussel. Dreissena polymorpha. Mole Repro. Develop., 43, 205-216.

Newman, G. G. 1967. Reproduction of the South African abalone, *Haliotis midae*. S. Afr. Div. Fish. Invest. Rep. 64, 1-24.

Nicotra, A. and S. Zappata. 1991. Ultrastructure of mature sperm and spermiogenesis in *Callista chione* (Mollusca, Bivalve). Invertebrate

Reproduction and Development. 20, 213-218.

Oba, T. 1964. Studies on the propagation of an abalone, *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke-I. On the spawning habits. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 30, 742-748.

Oh, S. R., O. S. Na, Y. D. Lee and H. B. Kim. 2000. Reproductive cycle of the turban shell, *Lunella coronata coreensis*. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat. Univ. 24, 135-144.

Okuno, M., F. Takashima and H. Yamakawa. 1978. Reproductive cycle of *Haliotis diversicolor aquatilis* Reeve. J. Tokyo Univ. Fish. 65, 9-13.

Onitsuka, T., T. Kawamura, T. Horii, N. Takiguchi, H. Takami and Y. Watanabe. 2007. Synchronized spawning of abalone *Haliotis diversicolor* triggered by typhoon events in Sagami Bay, Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser., 351, 129-138.

Orton, J. H., A. J. Southward and J. M. Doob. 1956. Studies on the biology of limpets. Ⅱ. The breeding of *Patella vulgata* in Britian. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 35, 149-176.

Osada, M., M. Harata, M. Kishida and A. Kijima. 2004. Molecular cloning and expression analysis of vitellogenin in scallop. *Patinopecten yessoensis* (Bivalvia, Mollusca). Mol. Reprod. Dev. 67, 273-281.

Pal, P. and A. N. Hodgson. 2002. An ultrastructural study of oogenesis in a planktonic and a direct-developing species of Siphonaria (Gastropoda: Pulmonata). J. Mollusc Stu. 68, 337-344.

Pasteels, J. J. 1965a. Aspects structuraux de la fecondation vus au microscope electronique. Arch. Biol. Liege. 76, 463-509.

Pasteels, J. J. 1965b. La fecondation etudjee au microscope electronique. Etude comparative. Bull. Soc. Zool. Fra. 90, 195-224.

Pearse, J. S. 1978. Reproductive periodicities of Indo-Pacific invertebrates in the Gulf of Suez: 4. The Chitons *Acanthopleura haddoni* Winckworth and *Onitochiton lyelli* Sowerby and the abalone *Haliotis pustulata* Reeve. Bull. Mar. Sci. 28, 92-101.

Pepling, M. E., J. E. Wilhelm, A. L. Q'hara, G. W. Gephardt and A. C. Spradling. 2007. Mouse oocyte within germ cell cysts and primordial follicles contain a Balbiani body. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 104, 187-192.

Poore, G. C. B. 1973. Ecology of New Zealand abalones, *Haliotis* species (Mollusca: Gastropoda): 4. Reproduction. N.Z. J. Mar. Freshwater Res. 7, 67-84.

Popham, J. D. 1974. Comparative morphometrics of the acrosome of the sperms of "externally" and "internally" fertilizing sperm of the shipworms (Teredinidae, Bivalve, Mollusca). Cell Tissue Res. 150, 291-297.

Popham, J. D. 1979. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogency. Malacol. Rev., 12. 1-12.

Prince, J. D., T. L. Sellers, W. B. Ford and S. R. Talbot. 1987. Experimental evidence for limited dispersal of haliotid larvae (genus *Haliotis*: Mollusca: Gastropoda). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 106, 243-263.

Reis-Henriques, M. A., D. LeGuellec, J. P. Remy-Martin and G. L. Adessi. 1990. Studies of endogenous steroids from the marine mollusc Mytilus edulis L. by gas chromatography and mass spectrometry. Comp. Biochem. Physiol. 95, 303-309.

Reunov, A. A. and A. N. Hodgson. 1994. Ultrastructure of spermatozoa of five species of south African bivalve (Mollusca), and an examination of early spermatogenesis. J. Morphol. 219, 275-283.

Sappington, T. W. and A. S. Raikhel. 1998. Molecular characteristics of insect vitellogenins and vitellogenin recepters. Insect Biochem. Mol. Biol. 28, 277-300.

Sasaki, R. 1985. Larval identification and occurrence of Ezo abalone, *Haliotis discus hannai*, in the adjacent waters of Kesennuma Bay, Miyagi Prefecture. Suisanzoshoku. 32, 199-206.

Sasaki, R. and S. A. Shepherd. 1995. Larval dispersal and recruitment of *Haliotis discus hannai* and *Tegula* spp. on Miyagi Coasts, Japan. Mar

Fresh Res. 46, 519-529.

Sastry, A. N. 1979. Pelecyopda excluding Ostreidae. In Giese A. C, Pearse J. S eds. "Reproduction of Marine Invertbrates". Vol. 5, New York, Academic Press. p. 113-292.

Seydoux. G. and R. E. Brown. 2006. Pathway to totipotency : lessons from germ cells. Cell. 127, 891-904.

Shiroya, Y. and Y. T. Sakai. 1984. Ultrastructual change of the truncated cone, during the acrosome reaction in Japanese abalone spermatozoa. Dev. Growth Differ. 26, 25-32.

Shiroya, Y. and Y. T. Sakai. 1992. Coiled filamentous structure in the sperm acrosome of gastropoda, *Suculus aquatilis* and *Turbo cornutus*. Dev. Growth Differ. 34, 509-516.

Shiroya, Y., H. Hosoya, I. Mabuchi and Y. T. Sakai. 1986. Actin filament bundle in the acrosome of abalone spermatozoa. J. Exp. Zool. 239, 105-115.

Singhagraiwan, T. and M. Doi. 1992. Spawning pattern and fecundity of the Donkey's ear abalone, *Haliotis asinina* Linne observed in captivity. Thai Mar. Fish. Res. Bull. 3, 61-69.

Shepherd, S. A. 1973. Studies on Southern Australian abalone (Genus Haliotis) : Ⅰ. Ecology of five sympatric species. Aust. J. Mar. Fresh. Res. 24, 217-257.

Shepherd, S. A. and H. M. Laws. 1974. Studies on Southern Australian abalone: Ⅱ. Reproduction of five species. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 25, 49-62.

Sobhon, P. S. Apisawetakan, M. Chanpoo, C. Wanichanon, V. Linthong, A. Thongkukiatkul, P. Jarayabhand, M. Kruatrachue, E. S. Upatham and T. Pumthong. 1999. Classification of germ cells, reproducitve cycle and maturation of gonad in *Haliotis asinina* Linnaeus. Science Asia. 25, 3-21.

Sobhon, P. S. Apisawetakan, V. Linthong, C. Wanichanon, A. Meepool, M. Kruatrachue, E. S. UpathamM and T. Pumthong. 2001. Ultrastructure of the differentiating male germ cells in *Haliotis asinina* Linnaeus. Invertebr. Reprod. Dev. 39, 55-66.

Song, Y. B., C. H. Lee, O. S. Na and Y. D. Lee. 2002. Reproductive cycle of thick liped monodont, Monodonta labio. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat. Univ. 26, 21-28.

Swiatek, P. 2006. Oogenesis in the leech *Glossiphonia heteroclita* (Annelida, Hirudinea, Glossiphoniidae) Ⅱ. Vitellogenesis, follicle cell strucutre and egg shell formation. Tissue and Cell. 38, 263-270.

Takashima, F., M. Okuno, K. Nichimura and M. Nomura. 1978. Gametogenesis and reproductive cycle in *Haliotis diversicolor diversicolor* Reeve. J. Tokyo Univ. Fish. 1, 1-8.

Tanaka, K., T. Tanaka, O. Ishida and T. Ohba. 1986. On the distribution of swimming and deposited larvae of nursery ground of abalone at the southern coast of Chiba prefecture. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52, 1525-1532.

Thielley, M., M. Weppe and C. Herbaut. 1993. Ultrastructural study of gametogenesis in the French polynesian black pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia), I-spermatogenesis. J. Shellfish Res. 12, 41-47.

Thongkukiatkul, A., S. Jungudomjaroen and C. Ratanapahira. 2008. Spermatogenesis and chromatin condensation in male germ cells of sea cucumber *Holothuria leucospilota* (Clark, 1920). Tissue and Cell YTICE-522; No. of pages 9.

Tomita, K. 1967. The maturation on the ovaries of the abalone, *Haliotis discus hanai* Ino, in Revun Island, Hokkaido, Japan. Sci. Rep. Hokkaido Fish. Exp. Sta. 7, 1-7. (In Japanese)

Tomita, K. 1968. The testis maturation of the abalone *Haliotis discus hannai* Ino, Reven Island, Hokkaido, Japan. Rep. Hokkaido Fish. Exp. Sta. 9, 56-61.

Tutschulte, T. and J. H. Connell. 1981. Reproductive biology of three species of abalone (*Haliotis*) in southern California. Veliger. 23, 195-206.

Uki, N. and S. Kikuchi. 1984. Regulation of maturation and spawning of an abalone, *Haliotis* (Gastropoda) by external environmental factors.

Aquaculture. 39, 247-261.

Verdonk, N. H., J. A. M. Van Den Biggelaar and A. S. Tompa. 1983. The mollusca. vol. Ⅲ. Development. Academic Press. New York London, pp. 1-48.

Walker, G. K., M. G. Black and C. A. Edwards. 1996. Comparative morphology of zebra, *Dreissena polymorpha* and guagga, *Dreissena bugensis* mussel sperm: light and electron microscopy. Can. J. Zool., 74, 809-815.

Wallace, R. A. 1985. Vitellogenesis and oocyte growth in non-mammalian vertebrates. In: Developmental Biology, vol 1. Browder, L. W. (Ed), Plenum Press, New York, pp. 127-177. Oogenesis.

Webber, H. H. and A. C. Giese. 1969. Reproductive cycle and gametogenesis in the black abalone, *Haliotis cracherodii* (Gastropoda: Prosobranchiata). Mar. Biol. 4, 152-159.

Wells, F. E. and J. K. Keesing. 1989a. Growth of the abalone *Haliotis roei* Gray. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 40, 199-204.

Wells, F. E. and J. K. Keesing. 1989b. Reproduction and feeding in the abalone, *Haliotis roei* Gray. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 40, 187-197.

Wilder, N. M., T. Subramoniam and K. Aida. 2002. Yolk proteins of crustacea. In: Adiyodi, K. G., Adiyodi, R. G. (Eds). Reproductive Biology of Invertebrates, vol. Ⅻ. Science Publishers Inc., Enfield, N. H. pp 131-174. Part A.

Wilson, N. H. F. and D. R. Schiel. 1995. Reproduction in two species of abalone (*Haliotis iris* and *H. australis*) in southern New Zealand. Mar. Freshwater Res. 46, 629-637.

Young, J. S. and J. D. DeMartini. 1970. The reproductive cycle, gonadal histology and gametogenesis of the red abalone, *Haliotis rufescens* (Swainson). Calif. Fish Game. 56, 298-309.

감사의 글

언제나 늘 자신에 대해 부족함이 많다고 생각해 오던 중 뒤늦게 다시 공부를 시작하면 주위의 여러 사람들에게 우를 범하는 일이 아닌가 하는 조바심이 늘 뇌리에 자리잡곤 하였습니다. 다행히도 어려운 여건 속에서도 주위 많은 분들이 “십시일반”의 도움으로 이제 비로소 작은 결실을 맺을 수 있음에 큰 보람으로 생각합니다.

먼저 이 논문을 완성할 수 있도록 시종일관 지도해 주신 이 영돈 교수님께 감사의 마음을 전해 드립니다. 또한 이 논문을 세심하게 심사해 주신 송 춘복 교수님, 최 광식 교수님, 김 형배 교수님 그리고 여 인규 교수님께 감사를 드립니다. 언제나 격려와 용기를 주시는 이 기완 교수님, 이 경준 교수님 그리고 김 기영 교수님께도 감사의 말씀을 전해 드리고 싶습니다.

이 논문의 대상인 오분자기 연구를 할 수 있도록 물심양면으로 기회를 주신 중.고.대학 선배님이신 이 정의 박사님 그리고 김 병엽 박사님께 감사를 드립니다. 또한 오분자기 치패 채집에 수고하신 해양수산자원연구소 오 성립 박사님, 현 재민 연구사님 그리고 김 수광 연구사님께 진솔한 마음으로 감사드립니다. 한편 전자현미경 관찰을 위해 조언을 해 주신 고려대학교 김 지현 박사님께도 감사를 드립니다. 그 동안 어려운 여건 속에서도 시종일관 함께 했던 해양과 환경연구소 선생님들과 임 봉수 박사님, 이 치훈 박사님, 강 형철 후배 그리고 번식 생물학 연구실 허 상우, 허 성표, 류 용운, 김 수용, 김 병훈 모든 후배들과 함께 했던 소중한 시간을 잊지 않고 오랫동안 기억하겠습니다. 초지일관 지근거리에서 불평 한마디 없이 묵묵히 함께 해온 송 영보 박사님! 그 동안 고생 많이 했습니다. 수고 많이 했습니다.

끝으로 불철주야 신도에서 열심히 생활하시는 부모님께 죄송하다는 말씀과 불효자의 속죄하는 마음을 전해 드립니다. 따뜻한 보금자리인 우리네 식구들, 교감 연수중인 아내, 덕성여대생인 딸 현정이, 서울대 지원한 제주일고 3학년 부반장 대현이,제주일고 1학년 반장 우현이, 모두 다 열심히 노력하여 사회의 훌륭한 일꾼이 되길 바란다. 그리고 영원한 벗 신도초등학교 20회 동창!,무릉중학교 20회 동창,오현고등학교 25회 동창,제주대학교 동기와선배님 그리고 고려대학교 대학원 생물학과 형태학 연구실 동기와 선배님들께도 감사드립니다. 건강과 행복을 기원하면서.....