

碩士學位論文

Tigriopus japonicus (Copepoda :
Harpacticoida)의 생식과 정포의
미세구조



濟州大學校 大學院

生物學科

林 宣 志

2002 年 12 月

Tigriopus japonicus (Copepoda :
Harpacticoida)의 생식과 정포의
미세구조

指導教授 李 和 子

林 宣 志

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2002年 12月

林宣志의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ 印

委 員 _____ 印

委 員 _____ 印

濟州大學校 大學院

2002年 12月

Reproduction and Ultrastructure of
Spermatophore of *Tigriopus japonicus*
(Copepoda : Harpacticida)

Seon-Ji Lim

(Supervised by Professor Hwa-Ja Lee)



제주대학교 중앙도서관

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE
OF MASTER OF SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

2002. 12

ABSTRACT

The reproduction, spermatophore and mature spermatozoa of *Tigriopus japonicus*(Copepoda, Harpacticioda) have been investigated by light and electron microscopy.

Tigriopus Japonicus reproduced through its spermatophore. The number of spermatophore popped out of a genital segment was two and a male attached two spermatophores on a female's gonopore during their copulation. After the spermatozoa in a spermatophore entered the body of a female, the spermatophore separated from the gonopore. The spermatophore's length was about $60\mu\text{m}$ and its maximum width was about $20\mu\text{m}$. Its shape was a plain flask style. And the spermatophore contained secretions that made from vas deferens. The spermatophore wall had a cuticular structure.

The spermatozoon of *Tigriopus japonicus* represented a type new for the Harpacticiods. The mature spermatozoa of *Tigriopus japonicus* were disc-shaped cell without a flagellum or an acrosome. The spermatozoon was about $2.5\mu\text{m}$ in length and about $1\mu\text{m}$ in maximum width. The spermatozoon contained nucleus and two to four mitochondria. The ultrastructure of spermatozoa were compared with the nine other copepod species. The spermatozoa of *Tigriopus japonicus* were very similar to the shape of spermatozoa of *Acanthocyclops viridis* (Cyclopoida).

目 次

ABSTRACT	i
目 次	ii
LIST OF FIGURES	iii
LIST OF TABLE	iv
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 채집시기 및 방법	
2. 광학현미경적 연구방법	
3. 주사현미경적 연구방법	
4. 투과전자현미경적 연구방법	
III. 결 과	6
1. <i>Tigriopus japonicus</i> 의 생식	
2. <i>Tigriopus japonicus</i> 정포의 미세구조	
IV. 논 의	18
V. 요 약	23
VI. 참 고 문 헌	24

LIST OF FIGURES

Figure 1. Map of the survey site in Jeju Island. -----	5
Figure 2. Mating of <i>Tigriopus japonicus</i> (SEM). -----	9
Figure 3. Spermatophores of <i>Tigriopus japonicus</i> (LM). -----	10
Figure 4. Fertilized female of <i>Tigriopus japonicus</i> (SEM).-----	11
Figure 5. Longitudinal section through reproductive system in male (LM). -----	12
Figure 6. Spermatophore structure (TEM).-----	13
Figure 7. Spermatophore within the vas deferens showing the multi-layered spermatophore wall (TEM). -----	14
Figure 8. Longitudinal section through mature spermatophore (TEM).	15
Figure 9. Spermatozoa of <i>Tigriopus japonicus</i> (TEM). -----	16
Figure 10. Spermatozoa in seminal receptacle (TEM).-----	17

LIST OF TABLE

Table 1. Summary of the ultrastructural characteristics of some copepod spermatozoa. •22



1. 서론

요각류의 생식은 수컷의 정자를 정포의 형태로 전달하는 방법을 사용한다. 해부학적으로 제1복절이 생식절에 해당하며 교미기간 동안에 수컷은 암컷의 생식절에 있는 생식공에 정포를 부착시켜 정자를 전달하게 된다. 정포의 크기와 모양 및 성숙한 수컷이 갖는 정포의 수는 다양한 것으로 알려져 있다 (Hopkins, 1978). 일찍이 Heberer(1932), Fahrenbach(1962)와 Park(1966)에 의하여 광학현미경적인 정자형성과정에 대한 연구가 있었으나 정자형성에 대한 그 규명이 어려웠다. 그러나 1960년대부터 전자현미경을 이용하여 정포와 정포함유분비물에 관한 일부 연구(Raymont, 1974, Hipe-Jacquotte and Coste, 1989)와 배우자형성 및 교미와 배란에 관한 흥미로운 연구결과가 보고되었다. 요각류 수컷의 생식기관에 대한 연구에 따르면 정소에서 형성된 정원세포는 수정관을 따라 이동시키면서 수정관 내벽에서 합성된 물질로 정포를 형성하고, 정포안에서는 정원세포를 저장하여 성숙한 정자로 발생시키는 것으로 알려져 있으나 수정관 상부와 하부의 정확한 작용이나 분비물의 작용에 대한 내용은 확실히 규명되지 않았다(Mann, 1985).

Huys(1991)에 의한 요각류 성체의 외부형태적 계통분류에 대한 연구에 이어 Brown(1970)에 의해서는 정자의 미세구조로써 계통분류학적인 연구가 시도되기도 하였다. 요각류의 정자모양은 요각류의 그룹에 따라 그 모양이 다르고, 편모성 정자의 일반적인 형태와도 차이점을 가지고 있다. 몇몇 연구자들에 의해 Cyclopoida목에 속하는 *Pachypygus gibber*(Hipe-Jacquotte and Coste, 1989)와 *Acanthocyclops viridis*(Rousset et al., 1981), Calanoida목에 포함되는 *Labidocera aestiva*(Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982), Siphonstomatoida목의 *Lernaecera branchialis*(Grant and Whitfield, 1988), Poecilostomatida목의 *Ergasilus lizae*와 *Mytilicola intestinalis* (Coste et al., 1982)와 같은 요각류의 정자 형태와 형성에 관한 보고가 있고, Harpacticoida목에 속하는 요각류 중에서는 *Tisbe holothuriae*(Pocdon-Masson and Gharagozlouvan Ginneken, 1977)와 *Heterolaophonte minuta*(Barbara Hosfeld, 1994)의 정자구조에 관한 연구가 보고되었다. 그러나 정자의 형태 연구를 통한 계통분류학적인 유연관계를 논의하기에는 그 연구가 매우 부족한 상태이다.

본 연구의 목적은 현미경적 관찰 방법을 통하여 Copepoda, Harpacticoda목에 속하는 *Tigriopus japonicus* 의 생식 특징과 정포의 미세구조를 밝혀 요각류의 생식과 정포형성 및 정자에 대한 생물학적 기초 정보를 제공하는데 있다.



II. 재료 및 방법

1. 시료채집

본 실험의 재료인 *Tigriopus japonicus*(Copepoda, Harpacticioda)는 2001년 5월부터 2002년 9월까지 제주도 제주시 이호동의 조간대 조수웅덩이에서 플랑크톤 Hand net를 이용하여 채집하였다 (Fig. 1).

2. 해부현미경 및 광학현미경적 관찰

채집한 *Tigriopus japonicus* 중에서 교미중 암컷과 수컷을 선별하여 petri dish에 넣어 배양(30-40%, 18-25℃)하고 교미하고 있지않은 암컷과 수컷을 배양하면서 살아있는 상태로 해부현미경(Olympus SZH10)으로 지속적인 관찰을 하였다.

또, *Tigriopus japonicus*를 10% Formalin용액이나 2.5% Glutaraldehyde용액에 고정하여 해부현미경으로 선별후 광학현미경(Olympus BH-2)에서 정포의 크기를 측정하고 형태 관찰 및 사진촬영을 하였다.

3. 주사현미경적 관찰

교미중인 암컷과 수컷을 증류수로 여러번 세척하여 2.5% Glutaraldehyde(Phosphate buffer pH 8.0)용액에서 2시간 이상 전고정한 후 1% Osmium tetroxide에서 90분간 후고정하였다. 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%순으로 Ethanol로 탈수 후, isoamylacetate로 치환하여 임계점건조장치(Critical point dryer)로 건조하였다. 건조가 끝난 시료는 이온증착기(Ion sputter)를 이용해 gold coating한 후에 주사전자현미경(Hitachi S-2460N)으로 검경하였다.

4. 투과전자현미경적 관찰

배양하거나 채집한 *Tigriopus japonicus* 중에서 교미가 바로 끝난 암컷, 교미하지 않은 수컷을 분리하여 증류수로 여러번 세척하여 2.5% Glutaraldehyde(Phosphate buffer pH 8.0)용액에서 2시간 전고정한 후 1% Osmium tetroxide에서 90분간 후고정하였다.

탈수 과정으로 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%순으로 Ethanol 처리한 후 Propylene oxide로 치환하여 Epon 812 혼합액에 포매하였다. 다음 과정으로는 35℃, 45℃, 60℃순으로 drying oven에서 중합반응을 실시하였다.

완전히 포매된 시료는 Ultramicrotome(RMC, MT XL)을 사용하여 Glass Knife로 semi section(1 μ m)하여 광학현미경하에서 관찰하고, Diamond Knife로 초박 절편(70-100nm)을 만들어 copper gride에 부착하였고, Uranyl acetate와 Lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경(JEM 1200EX II)으로 검경하였다.





Figure 1. Map of the survey site in Jeju Island.

III. 결 과

*Tigriopus japonicus*의 생식과 정포의 미세구조는 다음과 같다.

1. *Tigriopus japonicus*의 생식

*Tigriopus japonicus*의 성숙한 성체 수컷은 제1 촉각을 이용하여 copepodid 유생기의 어린 암컷의 흉부절을 붙든 형태로 교미시기를 지낸다 (Fig. 2). 성체 수컷이 짝을 짓는 암컷은 주로 제 4 혹은 제 5 copepodid 유생기에 해당되는 것이나(Fig. 2, III), 제 2 copepodid 유생기에 해당되는 암컷과도 짝을 짓는 것이 관찰되었다. 교미기간 동안에 copepodid 유생기의 어린 암컷은 수컷에 붙들린 상태에서 계속적인 탈피를 하여 성장하였다. *Tigriopus japonicus*의 copepodid 유생기 (총 6기) 각 기마다 약 18-20시간이 소요되는데 암컷이 제4 기, 제5 기 copepodid 유생이 성장하는 약 6-7일 동안 암컷과 수컷은 짝을 이루며 살았고, 짝을 이룬 상태에서 성체 수컷의 정포가 발달하여 생식절 밖으로 돌출되어 매달리게 되고 (Fig. 3, I, II), 정포의 전달은 암컷이 제 6 copepodid 유생기 즉 성체가 되었을 때 이루어졌다. 수컷의 돌출된 정포의 수는 두개이며 이 정포를 수컷의 네 번째와 다섯 번째 다리를 이용하여 암컷의 생식절에 있는 생식공에 붙여줌으로써, 정포의 전달이 이루어지고, 정포 전달 이후 암컷과 수컷은 서로 떨어졌다. 수컷으로부터 암컷은 두 개의 정포를 전달받고 (Fig.3, III, IV), 암컷의 생식공에 붙은 정포속의 정자가 암컷 몸안으로 들어가게 되면 정포는 생식공에서 떨어졌다. 1회의 교미결과 수컷으로부터 받은 2개의 정포속의 정자로 암컷은 여러번 난자를 수정시켜 포란하는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 4). 그리고, 수컷은 여러 번에 걸쳐 다른 암컷과의 교미를 하였다.

2. *Tigriopus japonicus* 정포의 미세구조

정포는 정자를 저장하는 기관으로서 수컷 *Tigriopus japonicus*는 교미시 생식절 밖으로 나타나는 두 개의 정포만을 형성하는 것이 아니라 계속적으로 다른 암컷과의 교미때마다 두 개씩의 정포를 몸밖으로 만들었는데 성숙한 정포의 크기는 길이가 약 60 μm 였고, 최대 폭이 약 20 μm 정도였다. 정포의 모양은 단순한 flask형으로 정포의 목에 가까울수록 가늘었다. 수컷의 몸속에서 정포는 수정관을 타고 내려온 후 정낭에 둘러싸여 성숙하게 된다. 수정관 내부에 있는 골지체와 소포체의 작용에 의해 여러 물질들이 합성분비되어 정포가 형성되게 된다 (Fig. 6, I). 정자를 둘러싼 정포벽은 여러 큐티클층으로 되어있어 정자를 보관하는 단단한 구조물 역할을 하며 그 두께가 약 200nm였다 (Fig. 7, I). 정포벽 안쪽에는 밀도가 높은 소포성 물질이 형성되어지는데, 이는 수정관을 통과하면서 형성되는 물질이라고 생각된다(Fig.7, II). 정포는 수정관을 통과하면서 점점 팽창하게 되었는데 정포 중심에 소포성 물질 또한 증가하였으며 정자의 형성과정도 진행되었다 (Fig.6, II). 정포벽 바로 바깥층 역시 수정관에서 형성하는 분비층으로서 정포가 성숙하는 동안 계속 존재하다가 완전히 성숙되면 없어졌고 이후 성숙한 정포는 단일층의 정낭에 둘러싸여 남았다 (Fig. 7, II).

정포의 내부를 관찰해 보면, 수정관을 따라 이동하는 정자형성이 이루어졌는데 *Tigriopus japonicus* 정자는 비편모성 정자로, 그 길이가 2.5 μm 였고, 최대 폭은 약1 μm 인 약간 편평한 disc형태를 띠었다 (Fig. 10). 정자는 세포질이 정자 중심부에서 멀어질수록 가늘어졌으며 중심부에는 타원형의 핵을 가졌고 양옆으로 각각 1-2개의 미토콘드리아를 가졌다. 미토콘드리아는 구형으로 그 크기가 약 200nm정도였으며 하나의 정자는 보통 2-4개를 가졌다. *Tigriopus japonicus* 정자의 핵은 고도로 응축된 상태가 아니었고, 첨체성 물질이나 cap과 같은 구조도 나타나지 않았다. *Tigriopus japonicus*의 성숙한 정자 구조는 교미한 직후의 암컷의 수정낭에서 난자와 수정하는 정자의 관찰

을 통해 알 수 있었다 (Fig. 10). 성숙한 정포속의 정자에서처럼 암컷의 생식
공을 통해 들어간 정자의 모습은 크게 차이가 없었다.



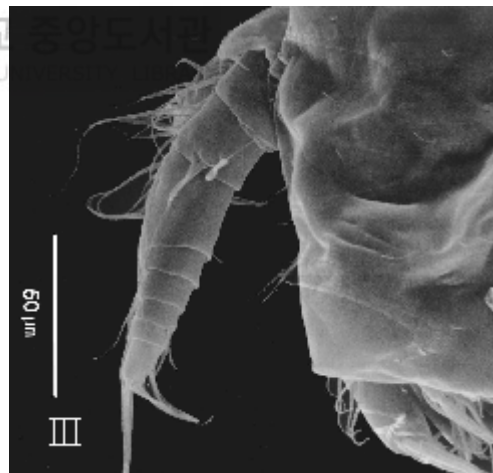
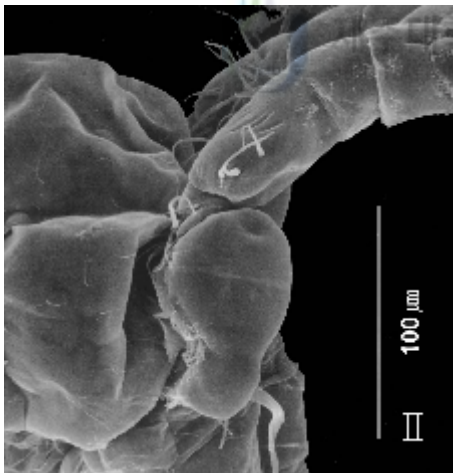
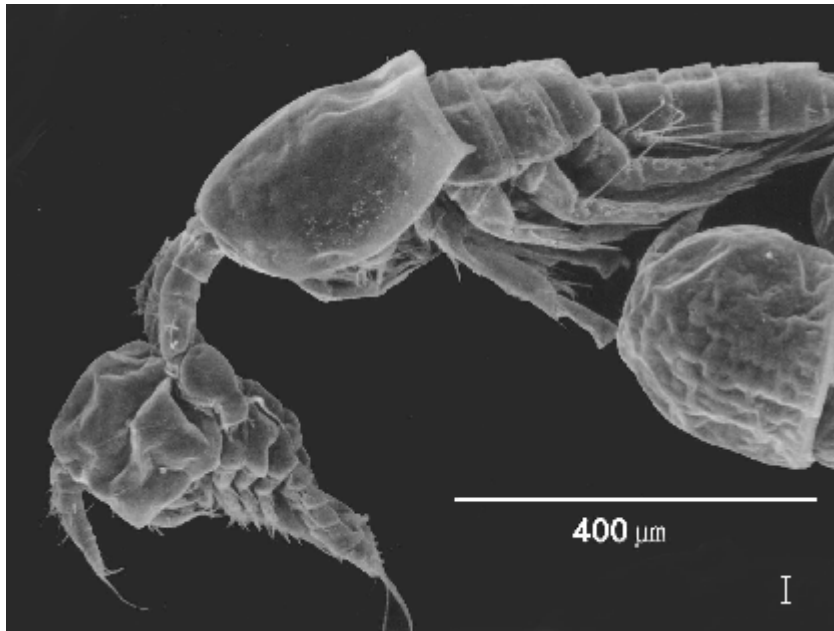


Figure 2. Mating of *Tigriopus japonicus* (SEM). I, mating. $\times 110$; II, antennule of adult male. $\times 400$; III, antennule of female (the fifth copepodid). $\times 600$.

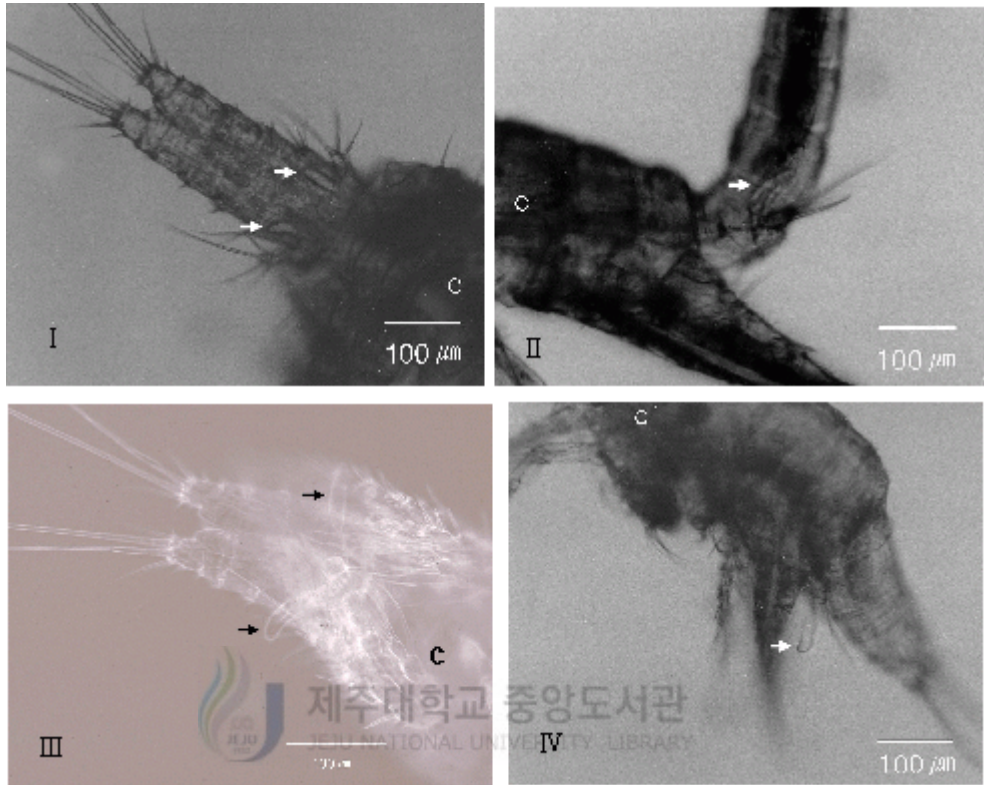


Figure 3. Spermatophores of *Tigriopus japonicus* (LM). I and II, mature spermatophores (arrows) of male (C, cephalothorax). $\times 100$; III and IV, spermatophore were attached on genital segment of female. $\times 100$.



Figure 4. Fertilized female of *Tigriopus japonicus* (SEM). I, habitus, lateral view. $\times 100$; II, antennule. $\times 450$.

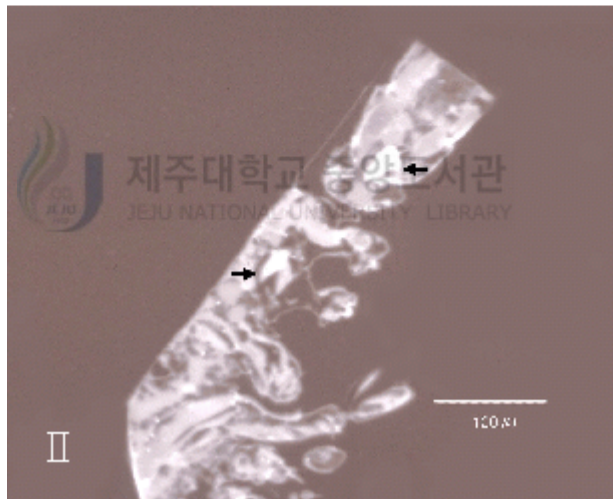
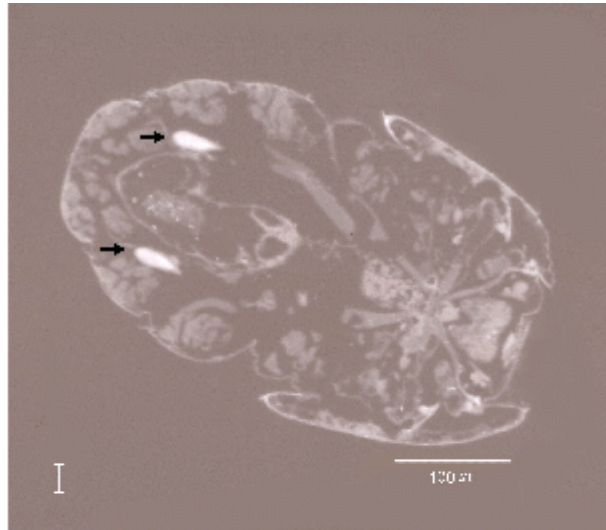


Figure 5. Longitudinal sections through reproductive system in male (LM). I, vertical longitudinal section two spermatophores (arrows) in vas deferens. $\times 100$; II, horizontal longitudinal section spermatophores (arrows) in vas deferens of male . $\times 100$.

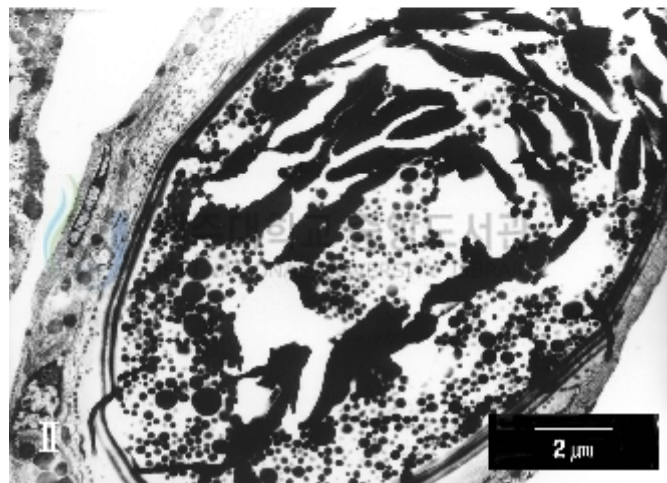
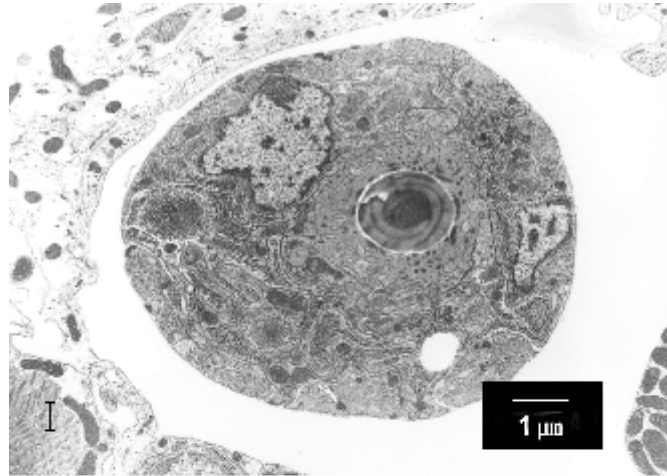


Figure 6. Spermatophore structure (TEM). I, transverse section through vas deferens showing formation of spermatophore (arrow). $\times 5000$; II, longitudinal section of spermatophore in seminal vesicle of male. $\times 4000$.

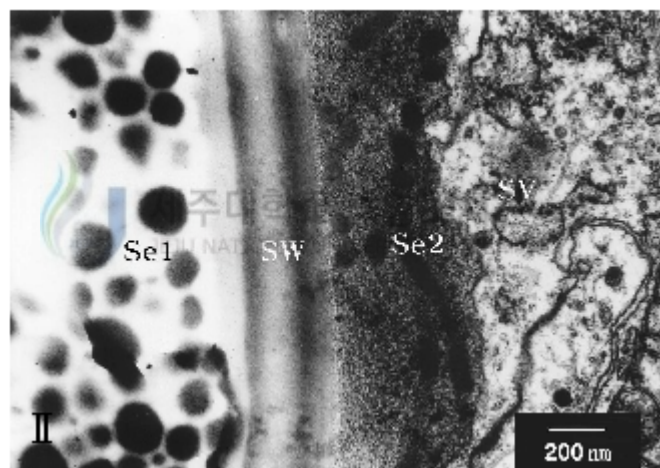
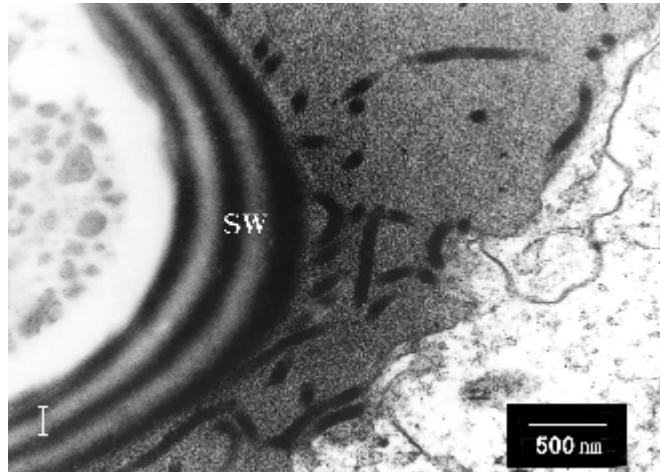


Figure 7. Spermatophore within the vas deferens showing the multi-layered spermatophore walls (TEM). I, cuticle layers of spermatophore wall (sw). $\times 15000$; II, secretions (se 1, se 2) of spermatophore. $\times 25000$.

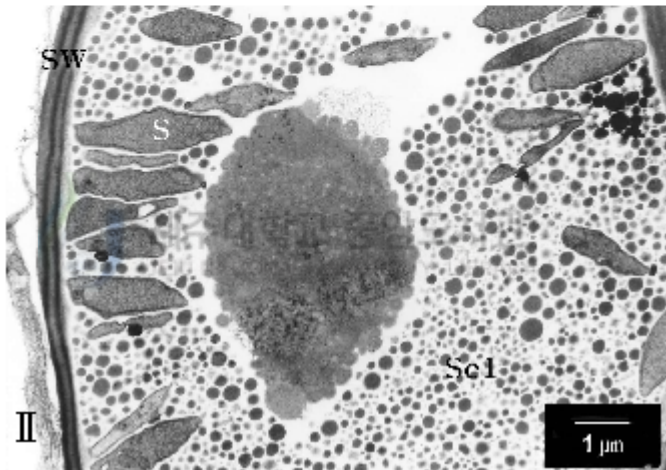
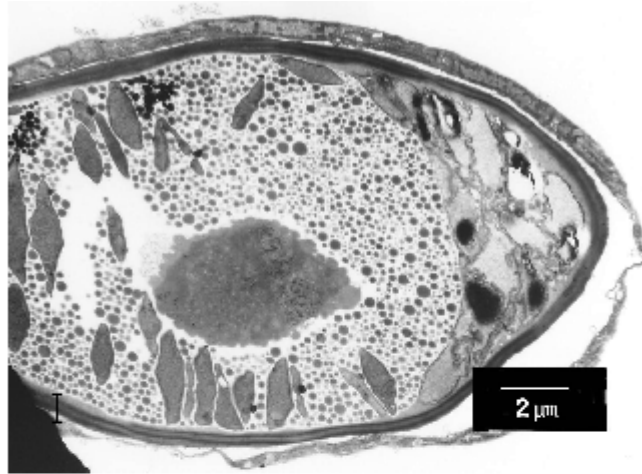


Figure 8. Longitudinal section through mature spermatophore (TEM). I, spermatozoa (S), and spermatophore wall (SW). $\times 3000$; II, $\times 5000$.

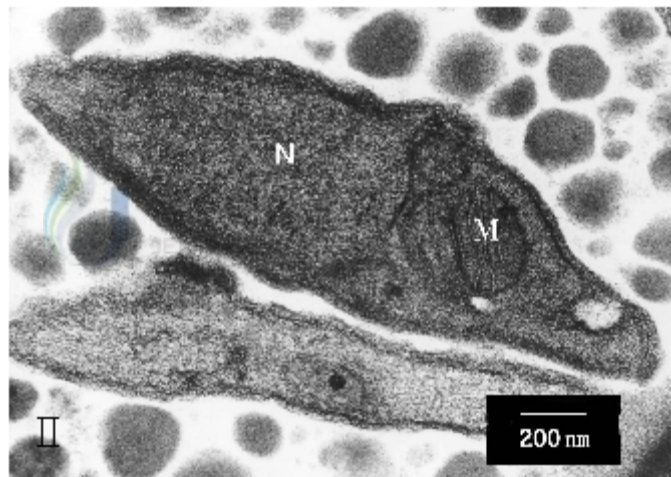
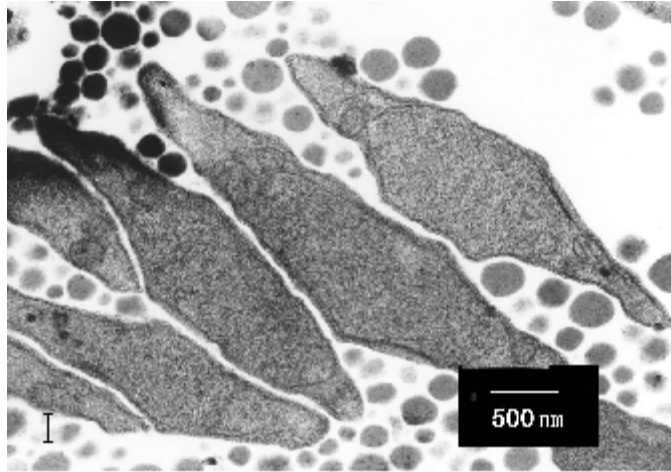


Figure 9. Spermatozoa of *Tigriopus japonicus* (TEM). I , feature of spermatozoa. $\times 12000$; II , longitudinal section of spermatozoon showing the nucleus(N) and mitochondria(M). $\times 30000$.

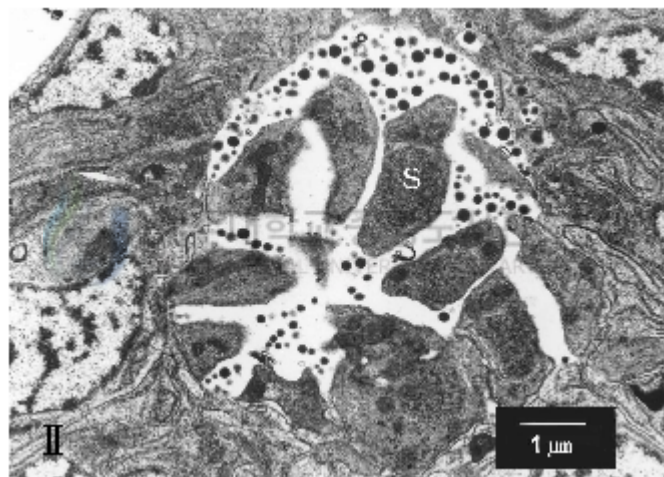
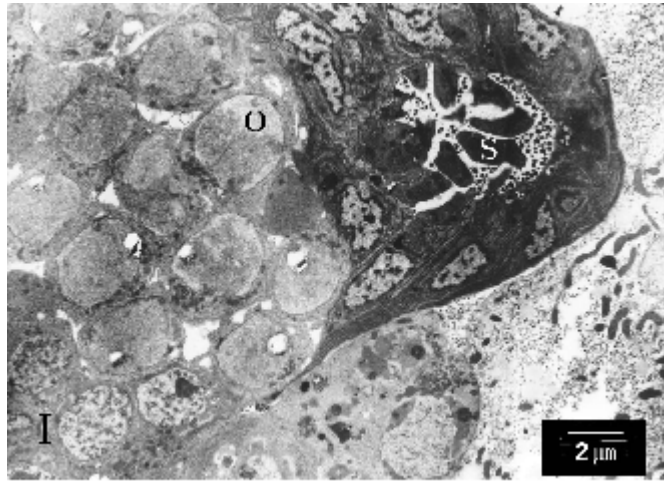


Figure 10. Spermatozoa in seminal receptacle (TEM). I , ovum (O) and spermatozoon (S). $\times 2500$; II, fertilization of ovum and spermatozoon in seminal receptacle. $\times 5000$.

IV. 논 의

Tigriopus japonicus (Copepoda, Harpacticoda) 는 교미기관이 결핍되어 있어 단순한 형의 정포를 통하여 생식을 하게된다. 제 4 혹은 5 copepodid 유생기 암컷과 성체 수컷은 일주일 정도의 교미기간을 가지며 수컷은 암컷에게 flask모양인 정포 2개를 전달한다. 채집된 *Tigriopus japonicus*들을 관찰한 결과 수컷이 암컷에 비해 상대적으로 많았으며, 수컷이 copepodid 유생기 암컷을 붙들며 암컷이 성숙한 후 교미를 하는 것이 수컷끼리의 경쟁을 의식한 것으로도 생각할 수 있다. 암컷과의 교미기간 동안 수컷의 정포는 몸안에서 2개씩을 만들어내었는데 암컷과 짝을 짓고 있는 동안 성숙한 정포는 생식절 밖으로 나왔고, 성숙된 정포이외에 계속적으로 정포형성을 하였다. 이것은 한 마리의 암컷과 교미 후 다시 다른 암컷과의 교미를 준비하는 것으로 볼 수 있다. 정포는 수정관 (정소에서 생식절까지의 관)을 따라 생식절까지 내려오면서 계속적인 분화를 하였는데, 이때 수정관은 골지체와 소포체의 작용으로 정포 내부와 외부에 여러 가지 분비물을 형성하였다. 우선, 정포를 이루는 단단한 정포벽을 이루었으며, 정포벽 안쪽으로 축적되는 밀도 높은 소포성 물질을 형성하였다. 이 소포성 물질에 대해 다른 요각류의 보고에 따르면 정포가 성숙해가면서 팽창하여 부풀어오르게 하는 역할을 한다고 알려져 있다 (Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982). 그리고 수란관에서 만드는 정포벽 외부의 분비층은 정포가 수란관을 지나는데 용이하게 하고, 마찬가지로 정포가 팽창하는데 작용한다(Hipe-Jacquotte and Coste, 1989, Rousset et al., 1981, Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982, Grant and Whitfield, 1988, Coste et al., 1982, Pocdon-Masson and Gharagozlouvan Ginneken, 1977). 정자를 저장하는 정포의 벽은 여러 개의 큐티클층으로 이루어져 있다. 정포의 이런 벽구조는 정포가 외부로부터의 자극에 정자를 보호

하는 중요한 기능을 가지고 있다고 볼 수 있다 (Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982). 실험과정 중 투과전자현미경 관찰을 위한 시료제작에서 epon 812 혼합액에 실험재료를 오랜 시간 포매시켜 약 1 μ m 두께로 semi section한 후 슬라이드로 관찰해 보거나 약 70-100nm 두께로 thin section 하여 투과전자현미경으로 관찰해 보면 정포의 벽으로 포매제가 침투되지 않은 경우가 많았다. 이것은 정포의 벽이 외부물질에 대한 침투성이 적다는 것을 추측하게 한다.

요각류 정자에 대한 연구가 많이 이루어진 상태가 아니지만 지금까지 보고된 Harpacticoida 목에 속하는 요각류 중에서는 *Tisbe holothuriae* (Pocdon-Masson and Gharagozlouvan Ginneken, 1977)와 *Heterolaophonte minuta* (Barbara Hosfeld, 1994)의 정자구조에 관한 연구가 있었다. *Tisbe holothuriae*의 정자와 *Heterolaophonte minuta*의 정자구조에서 주목할만 것은 정자의 핵을 덮는 첨체성 물질이 있다는 점이다. Pocdon-Masson과 Gharagozlouvan Ginneken (1977)의 보고에 따르면 *Tisbe holothuriae* 정자는 전체적으로 정자는 길게 신장된 실모양였고, 정자의 상부에는 십자모양의 osmiophilic lamina로 이루어져 있었고, 중부에 핵이, 후부에는 미토콘드리아를 갖었다는 형태적 모식화를 하였다. osmiophilic lamina를 첨체인 것으로 해석하였으나 이 기능에 대해서는 잘 알려지지 않았다. Barbara Hosfeld(1994)의 *Heterolaophonte minuta*에 관한 연구에서는 정자가 filiforme의 세포로서 그길이가 약 20-25 μ m 정도이며 지름이 약 1 μ m이다. *Heterolaophonte minuta* 정자는 osmiophilic cap을 가지고 이 cap이 첨체기능을 갖는 것으로 설명하였으나 이 종에서도 역시 첨체성 물질이라는 확실한 증거는 제시하지 못했다. 이 두 종은 모두 부동성이며, 비편모성 정자라는 점에서 *Tigriopus japonicus* 정자와 유사하나 *Tigriopus japonicus*에서는 첨체성 물질을 관찰하지 못했다. *Tigriopus japonicus* 정자의 길이는 약 2.5 μ m였고, 최대 폭이 약 1 μ m로 정자 중심부에서 양옆으로 세포질이 가늘어지는 약간 편평한 disc형이었으며 정자의 핵주위에 약 2-4개의

미토콘드리아를 가졌고, 편모가 결여되어 있었다. 앞에서 언급한 *Tisbe holothuriae* 와 *Heterolaophonte minuta*의 정자와 같이 비편모성이나 침체성 물질은 나타나지 않았으나 그 구조적인 특징만을 비교해 본다면 *Tigriopus japonicus*는 오히려 Cyclopoidae에 속하는 *Pachypygus gibber* (Hipe-Jacquotte and Coste, 1989)와 *Acanthocyclops viridis* (Rousset et al., 1981), Calanoidae에 포함되는 *Labidocera aestiva* (Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982)와 유사하였다. 세 종은 모두 단순한 disc형의 정자 모양을 나타내고 있고, 이들 종의 정자는 편모성 정자의 고도로 응축된 핵 형태가 아니며, 세포질 안에 넓게 자리잡은 핵과 그 주위에 몇 개의 미토콘드리아를 가진다는 공통점을 보인다 (Table 1). 성숙한 정자가 가지는 미토콘드리아는 세포의 대사과정의 지속성을 연장시키고, 정자의 에너지 보조역할을 한다고 보고된 바 있다 (Blades-Eckelbarger and Youngbluth, 1982). 특히 *Acanthocyclops viridis* (Rousset et al., 1981) 정자의 모양이 본 연구의 *Tigriopus japonicus* 정자와 가장 유사하며, *Acanthocyclops viridis* 정자는 약 4 μ m 정도이고, 좌우 세포질 두께가 가늘고 길게 신장된 형태를 띠고 있으며 길에 늘어진 세포질 주위에 미토콘드리아가 자리잡고 있다.

이상의 내용과 더불어 이미 보고된 바 있는 요각류 종들의 정자 미세구조적 특징을 요약해보면 Table 1과 같다. 요각류 정자의 형태는 편모성 정자와는 다르며, filiform, disc, star, spindle, ovoid 형으로 그 모양이 다양하다.

본 연구에서는 *Tigriopus japonicus* 생식과 정포 및 정자의 미세구조에 대한 형태적 특징을 현미경적 방법을 통하여 시행하였다. 그러나 정자형성에 관여하는 수정관의 기능이나 그 분비물의 종류와 기능에 대한 설명을 위해서는 더 많은 과정의 연구가 필요하다고 생각된다. 그리고, 무척추동물 중 어류, 산호충류, 거미류, 진드기류 및 곤충류와 같은 후생동물 분류군에서는 정자의 초미세구조의 연구를 계통분류의 상호 관련성에 대한 분석자료로 사용하고 있는데 (Babara, 1994, Jan hendlberg, 1986), 요각류에서도 현미경적 방법을 통한 여러 분류군의 정자 미세구조에 대한 연구를 함으로써 계통분류학적인

유연 관계의 해석이 이루어질 수 있다고 생각된다.



Table 1. Summary of the ultrastructural characteristics of some copepod spermatozoa.

Oders & Species	Gamete Shape	Size (μ)	Helical twist	Motility	Mito-chondria	Nuclear envelope	Acrosome	Centriole	Author
HARPACTICOIDA									
<i>Tisbe holothuriae</i>	fil	?	+	-	+	+	+	-	Pouchon-Masson & Gharagozolou van Ginneken, 1975
<i>Heterolaophonte minuta</i>	fil	25μm	-	-	+	+	+	-	Babara, 1994
<i>Tigriopus japonicus</i>	disc	2.5μm	-	-	+	+	-	-	This study
CALANIDA									
<i>Labidocera aestiva</i>	disc	5	-	-	+	-	-	-	Blades-Eckelbarger & Youngbluth, 1982
CYCLOPOIDA									
<i>Acanthocyclops viridis</i>	disc	5	-	-	+	+	-	?	Rousset <i>et al.</i> , 1981
POECILOSTOMATOIDA									
<i>Regasilus lizae</i>	fil	15 - 20	+	-	+	+	+	-	Coste <i>et al.</i> , 1982
<i>Mytilicola intestinalis</i>	fil	200	+	+	+	+	+	-	Coste <i>et al.</i> , 1982
<i>Chondracanthus angustatus</i>	star	3 - 4	-	-	+	-	-	-	Rousset <i>et al.</i> , 1978
SIPHONOSTOMATOIDA									
<i>Lernanthropus kroeyeri</i>	spdl	6	-	-?	-	+	+	-	Coste <i>et al.</i> , 1979
<i>Naobranchia cygniformis</i>	ovoid	?	-	-	-	+	-	+	Manier <i>et al.</i> , 1977
<i>Lernaeocera branchialis</i>	fil	30	+	-	-	-	-	-	Helen <i>et al.</i> , 1988

+ present; - absent; ? not mentioned by author; -? absence uncertain; fil filiform; spdl spindle shaped

V. 요약

Tigriopus japonicus (Copepoda, Harpacticioda) 생식방법과 정포와 성숙한 정자의 미세구조를 광학, 전자현미경으로 연구하였다.

*Tigriopus japonicus*는 정포를 이용하여 생식하였다. 수컷의 생식절에 돌출되는 정자는 2개였으며, 교미기간 동안에 수컷은 암컷의 생식공에 정포를 붙혔다. 암컷 몸안으로 정포에 저장되었던 정자가 들어가면 정포는 생식공에서 떨어졌다. 정포의 길이는 약 $60\mu\text{m}$ 였고 최대 폭은 약 $20\mu\text{m}$ 였다. *Tigriopus japonicus* 정포의 모양은 단순한 flask형였다. 정포는 수정관에서 형성되는 다른 종류의 분비물들을 함유하였다. 정포의 벽은 큐티클층으로 구조화 되어 있었다.

Tigriopus japonicus 정자는 보고된 Harpacticioda 목의 종과는 다른 형태로 나타내었다. *Tigriopus japonicus* 정자는 비편모성였고, 첨체가 없는 disc형이었다. 그 길이는 약 $2.5\mu\text{m}$ 였고, 최대폭은 약 $1\mu\text{m}$ 였으며 정자는 핵과 2-4개의 미토콘드리아를 가졌다. *Tigriopus japonicus* 정자의 미세구조를 9종의 다른 요각류와 비교하였다. *Tigriopus japonicus* 정자는 *Acanthocyclops viridis*의 정자모양과 가장 유사하였다.

VI. 참고 문헌

- Annemaie Avenant-Oldewage and J. H. Swanepoel, 1993, The Male Reproductive System and Mechanism of Sperm Transfer in *Argulus japonicus* (Crustacea: Branchiura), *Morphology* 215:51-63.
- Atsushi Hagiwara, 1995, Some Reproductive Characteristics of the Broods of the Harpacticoid Copepod *Tigriopus japonicus* Cultured in Different Salinities, *Fisheries science*, 61(4): 618-622.
- Baccetti B, 1976, The Biology of the Sperm cell.
- Barbara Hosfeld, 1994, On sperm ultrastructure, spermiogenesis and the spermatophore of *Heterolaophonte minuta* (Copepoda, harpacticoida), *Zoomorphology* 114: 195-202.
- Barbara Hosfeld, 1999, Ultrastructure of ionocytes from osmoregulatory integumental windows of *Tachidius discipes* and *Bryocamptus pygmaeus*(Crestacea, Copepoda, Harpacticoida) with remarks on the homology of nonsensory dorsal organs of crustaceans, *Acta Zoologica*(Stockholm) 80:61-74.
- Barbara Niehoff, 1998, The gonad morphology and maturation in Arctic *Calanus* species, *Marine Systems* 15:53-59.
- Bowman, T. E. and L. G. Abele, 1982, Classification of the recent Crustacea. In: The biology of Crustacea, vol. 1 Systematics, the fossil record and biogeography(edited by L. G. Abele). Academic press, pp 1-27.
- Bodin Ph, 1988, Catalogue des nouveaux copepodes harpacticoides marin.

univ. Bretagne Occidentale., 289.

Brady, 1880, A monograph of the free and semi-parasitic Copepoda of the British Islands 1:1-148, pls1-33.

C. C. TUDGE, 1991, Spermatophore Diversity Within and Among the Hermit Crab Families, Crab Families, Coenobitidae, Diogenidae, and Paguridae(Paguroidea, Anomura, Decapoda), Biol. Bull 181:238-247.

C. Cuoc•D. Defaye •M. Brunet•R. Notonier•J. Mazza, 1997, Female genital structures of Metridinidae (Copepoda: Calanoida), Marine Biology 129: 651-665.

Cheul Min An, 1999, Ultrastructural Study on the Spermatogenesis of the Marbled Sole, *Limanda yodohamae* (Teleostei: Pleuronectidae), Korean J. Electron Microscopy 29(4):427-435.

Danielle Defaye, Corinne Cuoc, and Michel Brunet, 2000, Genital structures and spermatophore placement in female paradiaptominae (copepoda, calanoida, diaptomidae), crustacean biology 20(2):245-261.

D. J. Lonsdale, P.Weissman and F.C. Dobbs, 1993, A Reproductive-resting stage in an harpacticoid copepod, and the significance of Genetically based differences among populations, Bulletin of marine science, 53(1)180-193.

D. W. Spurgeon, J. R. Raulston, P. D. Lingren, T. N. Shaver, F. I. Proshold, and J. M. Gillespie, 1994, Temporal Aspects of Sperm Transfer and Spermatophore Condition in Mexican Rice Borers (Lepidoptera:Pyralidae), Journal of economic entomology 87:371-376.

- Ernestina Castro-longoria, 2001, Comparative Observation on the External morphology of Subitaneous and Diapause Eggs of Acartia species from Southanpton Water, Koninklijke Brill NV, Leiden Crustaceana 74(3): 225-236.
- F.coste, J.F manier et A. raibaut, un type structural de spermatozoide chex les copepodes, Crustanceana 43(3):249-260.
- Frans Ferrari and Masahiro dojiri, 1987, The calanoid copepod *euchaeta antarctica* from southern ocean atlantic sector midwater spermatophore dimorphism, crustacean biology 7 : 458-480.
- Fumihiro KOGA, 1970, On the Life History of *Tigriopus jaonicus* Mori (Copepoda), journal of the Occanographical Society of Japan, 26(1) 11-21.
- Giesbrecht, W., 1882 Die freilebenden Copepoden der Kieler Foehrde. Foehrde -V island Ber. Comm. wiss. Untersuch. dt. Meere, 1877-1881 Abt, 1:87-168, pls 1-12.
- J. Pochon-Masson and I.D. Gharagozlou-van Ginneken, 1979 . Peculiar Features of the Sperm of an Harpacticoid Copepod, *Tisbe holothruiae*, pp. 61-74.
- Jens Hoeg-Barbara Hosfeld-Peter Gran Jensen, 1998, TEM studies on the lattice organs of cirripede cypris larvae (Crustacea, Thecostraca, Cirripedia), zoomorphology 118:195-205.
- Judith K. Pell and Elizabeth U. Canning, 1993, Light Microscope and Ultrastructural Observations of a Microsporidian Parasite of *Mesocyclops rarus* (copepoda: Cyclopoida) in Tanzania, Journal of invertebrate pathology 61:275-280.

K. Steger, 2001, Spermatogenese and Spermatogenesestörungen, Reproduktionsmedizin 17:137-148.

Kazuma Hoshikoshi, 1987, The Morphology of Absorption of Nutritives Substances in the Gut of *Tigriopus japonicus*, Nippon Suisan Gakkaishi 54(2):203-208.

Kazuma Yoshikoshi, 1975, On the structure and function of the Alimentary Canal of *Tigriopus japonicus* (Copepoda; Harpacticoida)- I Histological Structure, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 41(9):929-935.

Kazuma Yoshikoshi, 1980, On the Structure and Function of the Alimentary Canal of *Tigriopus japonicus* (Copepoda; Harpacticoida)- II Cellular Renewal in the Mid-gut Epithelium, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 46(6):705-710.



Kazuma Yoshikoshi, 1987, Ultrastructure of the Mid-gut Epithelium of *Tigriopus japonicus*, Nippon Suisan Gakkaishi 54(2):197-202.

M. Anne Bergey, Robert J. Crowder and George L. Shinn, 1994, Morphology of the Male System and Spermatophores of the Arrowworm *Ferosagitta hispida* (Chaetognatha), Morphology 221:321-341.

Maria Balsamo•Marco Ferraguti•Loretta Guidi M.Antonio Todaro•Paolo Tongiorgi, Nada Chang and David G. Jenkins, 2000, Plastid endosymbionts in the Freshwater Crustacean *Daphnia Obtusa*, Journal of Crustacean Biology, 20(2):231-238.

Mark J. Grygier, 1982, Sperm morphology in Ascothoracida (Crustacea: Maxillopoda): confirmation of generalized nature and phylogenetic

- importance, International Journal of Invertebrate Reproduction 4:323–332.
- M. grazia corni, vanessa vigoni and franca scanabissi, 2000, ultrastructural aspects of the reproductive morphology and spermatophore placement of *centropages kroyeri* giesbrecht, 1892, Crustaceana 73(4):433–445.
- Thaddeus Mann, 1984, Spermatophores, Springer–Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo.
- Nenad C. Bojat•Ursula Sauder•Martin Haase, 2002, Functional anatomy of sperm storage organs in Pulmonata: the simple spermatheca of *Bradybaena fruticum*(Gastropoda, Stylommatophora), Zoomorphology 121:243–255.
- Nina Wedell, 1994, Dual function of the bushcricket spermatophore. Reproductive system and spermatozoa of *Paraturbanella teissieri*(Gastrotricha, Macrotrichida):implications for sperm transfer modality in Trubanellidae, Zoomorphology 121:234–241.
- Ting, J. H., 2000, Identification of sex, age and species–specific proteins on the surface of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*, Marine Biology 137(1): 31–37.
- Vanessa Vigoni, Franca Scalabissi and M. Grazia Corni, 1849, Ultrastructural Aspects of the Reproductive Morphology of *Centropages Typicus* Kroyer, Koninklijke Brill NV, Leiden Crustaceana 74(4):405–414.
- Voronin, V. N., 1996, Ultrastructure and Horizontal Transmission of *Gurleya macrocyclopis*(Protozoa, Microspora) to *Macrocylops albidus*(Crustacea, Copepoda), Journal of invertebrate pathology

67:105-107.

V.rousset, F. coste, J. F. manier, 1981, L'appareil genital male et la spermatogenese d'un copepode cyclopoide libre: acanthocyclops megacyclops vridis (surine,1820) (copepoda, cyclopoida), Crustaceana 40(1):65-78.



감사의 글

흐르는 강물처럼 스쳐가는 시간들처럼 인생에는 순리라는 것이 있습니다. 가야할 길을 가지 않고는 다다를 수 없는 곳이 있고, 기다리지 않고는 만날 수 없는 것이 있고, 진심이 아니고는 얻을 수 없는 것이 있습니다. 새로운 창을 꿈꾸지 않는 사람은 창을 바꿀수 없고, 새로운 인생도 살 수 없습니다. 제게 세상의 또다른 꿈의 창을 일깨워주시고 부족함이 많은 저를 가르침으로 인도해주신 이화자교수님과 바쁘신데도 불구하고 사랑의 관심으로 제 논문을 수정해주신 김원택교수님, 김세재교수님께 이글을 통해 감사함을 전하고 싶습니다. 학부과정부터 지금까지 잘못된 것에는 꾸짖임과, 잘한 것에는 칭찬으로 늘 제가 잘익은 사람이 되도록 지도해주셨던 오문유교수님, 허인옥교수님, 오덕철교수님, 이용필교수님, 김문홍교수님, 고석찬교수님께도 고개 숙여 깊이 감사드립니다.

힘든 일에 대한 두려움과 나태함으로 고민에 잠길때면 언제나 관심어린 위로와 격려를 아끼지 않으셨던 고미희선생님, 김형신선생님, 문명옥선배님, 송관필선배님과 함께 일하면서 많은 배려를 해주신 김상범선배님, 나의 동기 송국만, 한미선언니, 최홍순언니, 그 외 모든 선배님께 고마움을 표하며 주신 사랑에 보답하기 위해 선배님들처럼 후배들에게 든든하고 좋은 선배가 되도록 노력할 것을 다짐해봅니다. 말하지 않아도, 그리 자주 만나지는 못했어도 항상 저의 후원자였고 벗이었던 주현, 지은, 안희, 선희, 지혜, 현정, 희영, 그리고 이름을 다해아릴수 없는 친구들과 실험하는 처음부터 마지막까지 선배의 부족함을 채워주고, 가까이에서 늘 힘이 되어주었던 실험실 후배들 너무도 고맙구나!!

아울러 의문과 숙제가 생길때면 힘께 고민해주시고 새로운 도전을 주셨던 박창현선생님, 조극래선생님, 김영숙선생님, 강태연선생님께도 고마움을 전하고 싶습니다.

힘한 날씨가 사람들을 서로 가까워지게 하듯 어려운 크고 작은 일로 더욱 끈끈해졌었고, 사랑하게 된 가족들... 저를 믿어준 가족들에게 마지막으로 고마움을 전하며, 겸손을 알고, 용기와 열정이 있는 사람이 되도록 노력할 것을 약속하겠습니다. 그리고 진심으로 사랑합니다.