

볼락 (*Sebastes inermis*)의 정자형성과정에 관한 미세구조적 연구

이 정 식

부산수산대학교 해양생물학과

Ultrastructural Study on Spermatogenesis of Rockfish, *Sebastes inermis* (Pisces : Scorpaenidae)

Lee, Jung Sick

Department of Marine Biology, National Fisheries University of Pusan,

Pusan 608-737, Korea

(Received May 30, 1996)

ABSTRACT

The internal ultrastructural changes of germ cells and external morphology of spermatozoon during the spermatogenesis in the rockfish, *Sebastes inermis* were studied using transmission and scanning electron microscope.

The testis is seminiferous tubule type in internal structure. Seminiferous tubule consist of many cyst which contain numerous germ cells in same developmental stage. Spermatogonium contained a large nucleus with single nucleolus in interphase. Primary spermatocyte identified by the presence of synaptonemal complex in nucleus and the contained a number of mitochondria, endoplasmic reticula and Golgi bodies in cytoplasm. The nucleoplasm of secondary spermatocyte was more concentrated than that of the previous phase. Spermatids were more condensed in nucleus and cytoplasm, and show the long-spherical shape. In the cytoplasm of spermatid mitochondria located to lower portion of the nucleus and Golgi bodies located to upper portion, but proacrosomal granule is not appeared. The spermatozoon consist of the head and tail. No acrosome could be found in the head. The cytoplasmic collar of posterior part in sperm head contained mitochondria which surrounded axial filament.

The well developed axonemal lateral fins were identified in sperm flagellum, and the axial filament of the flagellum consist of nine pairs of peripheral microtubules and one pair of central microtubules.

Key words : Rockfish, Spermatogenesis, No acrosome, Cytoplasmic collar, Axonemal lateral fin

서 론

대부분의 난생어류는 체외수정을 하는데 반해 태생 또는 난태생어류는 체내수정을 함으로서 난발생을 촉발하게 된다.

어류 정자의 형태 및 미세구조는 종간 또는 그들의 생식상태와 관련하여 그 변이가 아주 다양하다. 일반적으로 어류의 정자는 수정장소에 따라 체외수정형(aquasperm type)과 체내수정형(introsperm type)으로 나뉘고, 이는 다시 첨체의 유무에 따라 첨체형(acrosomal type)과 무첨체형(anacrosomal type)으로 나누어진다고(Jamieson, 1991).

블락, *Sebastes inermis*은 양블락과에 속하는 해산 난태생 경골어류로서 수정과 체내자어의 발달은 난소강내에서 이루어지며, 2월을 전후하여 연중 1회 자어를 산출하는 종이다(이와 김, 1992).

난소강내 수정형 어류는 Characidae의 27종(Burns et al., 1995)을 비롯하여 썸뱅이, *Sebastiscus marmoratus* (Mizue, 1957), *Sebastodes paucispinis* (Morser, 1967), *Sebastes flavidus* (Michael, 1992), 조피블락, *Sebastes schlegeli* (Chung and Chang, 1995), 황점블락, *Sebastes oblongus* (장 등, 1995) 등이 보고되고 있으며, 체내수정형 어류의 정자미세구조에 관한 연구는 썸뱅이 (Mizue, 1968), *Ameca splendens*, *Ataenobius toweri*, *Characodon lateralis*, *Xenotoca eiseni* (Grier et al., 1978), *Cymatogaster aggregata* (Gardiner, 1978), 조피블락 (Chung and Chang, 1995), 그리고 망상어, *Ditrema temmincki* (이, 1995) 등이 있는데, 이들 어류의 정자는 두부에 첨체를 가지지 않는다고 알려져 있다.

본 연구는 블락의 정자형성과정 및 완숙정자의 형태를 미세구조적으로 밝힘으로써 차후 체외수정어류와 체내수정어류의 정자 미세구조 및 형태를 비교·고찰함에 있어서 기초자료를 제공하고자 함이다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 연구에 사용된 블락, *Sebastes inermis*은 부산 수

영만 인근해역에서 정치망에 의해서 채집된 전장 18.0 cm 이상의 성숙개체들이다. 채집된 재료는 활어상태로 실험실로 옮겨 해부 후 정소를 추출하여 조직표본을 제작하였다.

2. 방 법

1) 투과전자현미경 관찰

투과전자현미경(TEM)의 조직표본 제작은 0.1M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (O_8O_4)로 4°C에서 2시간 동안 후고정 하였으며, 고정이 끝난 재료는 0.1M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μ m의 semithin section과 70 nm의 ultrathin section을 하였으며, ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경(JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

2) 주사전자현미경 관찰

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

결 과

블락 정소의 내부조직상은 많은 곡정세관(semiferous tubule)으로 구성되며, 곡정세관사이에는 간질세포(interstitial cell)들로 채워진다. 각각의 곡정세관은 다수의 소낭(cyst)을 가지며, 소낭상피의 Sertoli cell(cyst cell)은 불규칙한 형태의 핵을 가진다. 곡정세관 내에서 소낭의 형태는 생식세포들이 감수분열을 시작하는 시기에 점차 뚜렷해지는데, 각각의 소낭내에서 생식세포는 같은 발달단계를 보인다(Fig. 4). 소낭내에서 발달한 정자들은 수정관을 통하여 체외로 방출되는데 수정관의

내벽은 많은 stereocilia로 덮혀있다 (Fig. 16).

간기의 정원세포들은 직경 약 $5.7\ \mu\text{m}$ 의 난형으로 세포질의 비율이 적은 대신 핵은 직경 약 $4.5\ \mu\text{m}$ 으로 뚜렷하며, 핵 내부에는 전자밀도가 높은 단일인이 나타난다 (Fig. 1). 분열증식기의 정원세포에서 인은 소실되어 관찰할 수 없고, 핵 내부는 염색질이 응축되어 전자밀도는 증가하며, 세포전체에 대한 핵의 비율은 감소되어 나타난다 (Fig. 2).

(leptotene stage)의 제 1 정모세포는 세포전체에 대한 핵의 비율은 더욱 감소되어 나타나며, 핵 내부의 염색질은 응축되어 전자밀도가 증가하면서 이형염색질의 형태를 나타낸다. 핵막은 파동무늬를 나타내며, 세포질에서는 미토콘드리아와 소포체 등의 세포소기관들이 관찰된다 (Fig. 3). 태사기 (pachytene stage)의 제 1 정모세포는 synaptonemal complex와 같은 복잡한 핵내의 상황에 의해 특징지워지며, 세포질의 골지체는 시스터네가 발달된 상태이고, 미토콘드리아는 수가 증가되며, 미토콘드리아의 기질은 전자밀도가 높아지며 확장된 크리스테를 가진다 (Fig. 5). 제 2 정모세포의 핵질은 응축되어 높은 전자밀도를 나타낸다 (Fig. 6).

성숙분열 완료 후 초기정세포는 핵질이 한쪽으로 응축되면서, 핵의 상부 세포질에서는 중앙부분의 시스터네와 주변부의 주머니 구조가 명확한 골지체가 관찰된다 (Fig. 7). 그 후 정세포는 세포질과 핵질이 응축되면서 장축으로 길어진 형태를 나타내고, 세포질내에 분포하는 미토콘드리아들은 핵의 하방으로 이동하기 시작하며, 전자밀도가 낮은 공포들이 세포질 전체에서 관찰된다 (Fig. 8). 변태과정이 계속 진행되면서 정세포에서는 이중막구조를 가진 미토콘드리아가 수와 크기면에서 증대되면서 핵의 하방에 위치하게 되는데, 이때 미토콘드리아의 외막과 수직으로 분포해있는 내부의 크리스테는 팽대되면서 구조적으로 명확해진다. 그러나 세포질 전체에 분포하던 전자밀도가 낮은 공포들은 관찰할 수 없다 (Fig. 9). 변태과정중의 정세포에서 proacrosomal granule의 형성은 관찰할 수 없었다.

주사전자현미경 (SEM)상에서 정자는 두부와 미부 그리고 이를 연결하는 부위인 neck으로 구성되며, 두부형태는 고추 또는 가지형태로 나타났다 (Fig. 14). 투과전자현미경 (TEM)상에서 침체는 관찰되지 않았다 (Fig. 10). SEM으로 관찰된 볼락 완숙정자의 두부 길이는

$3.5 \pm 0.5\ \mu\text{m}$, 두부의 폭은 $1.0 \pm 0.2\ \mu\text{m}$, 미부의 길이는 약 $22.0 \pm 2.0\ \mu\text{m}$, 미부 중간부분의 폭은 $1.0 \pm 0.2\ \mu\text{m}$ 이며, 정자의 전체길이는 약 $27.0 \pm 2.0\ \mu\text{m}$ 이다. SEM상에서 두부의 후방 한쪽에서는 두개의 용기부분이 관찰되는데 (Fig. 15), 이들 용기부분은 TEM상에서 미토콘드리아를 포함하고 있는 cytoplasmic collar로 확인되었다 (Fig. 11). 미부 편모의 횡단면을 TEM으로 보면 편모축사는 1쌍의 중심 미세소관과 이를 둘러싸는 9쌍의 주변 미세소관으로 전형적인 "9+2"의 축사 (axoneme) 구조를 나타낸다. 편모축사는 다시 섬유성 피막에 싸여있는데, 섬유성 피막은 축사를 중심으로 좌우로 넓게 신장된 axonemal lateral fin의 형태를 뚜렷하게 나타낸다 (Fig. 12). 하지만 미부 편모의 말단부에서는 이와 같은 axonemal lateral fin의 형태는 나타나지 않는다 (Fig. 13).

고 찰

볼락, *Sebastes inermis* 정소의 기본적인 외부형태는 대부분의 경골어류와 유사하나, 정소의 내부조직상은 다수의 곡정세포관으로 구성되어 있으므로 高橋 (1989)가 제시한 lobule type과 tubule type가운데 tubule type에 속한다. Tubule type을 가지는 종으로서의 썸베이, *Sebastes marmoratus* (Mizue, 1957), *Sebastes paucispinis* (Morser, 1967), 누루시볼락, *Sebastes vulpes* (Sasaki and Igarashi, 1974), 조피볼락, *Sebastes schlegeli* (Chung and Chang, 1995), 황점볼락, *Sebastes oblongus* (장 등, 1995) 그리고 *Neotoca bilineata* (Mendoza, 1941), *Cymatogaster aggregata* (Wiebe, 1968), *Micrometrus minimus* (Grier, 1981), 망상어, *Ditrema temmincki* (이, 1995) 등의 주로 체내수정을 하는 난태생 또는 태생 경골어류를 예로 들 수 있다.

정자형성과정의 결과로 만들어진 정자들은 수정관을 통하여 체외로 방출되는데, 볼락의 수정관 내부상피는 많은 stereocilia로 덮혀있는 것으로 보아 성숙된 정자들이 수정관을 통과하는데는 이들 stereocilia의 도움이 작용하는 것으로 생각된다.

어류의 정자형태는 종간 또는 그들의 생식생태와 관련하여 그 변이가 아주 다양하다. Jamieson (1991)은 완

숙정자를 체외수정종인가 또는 체내수정종인가에 따라 체외수정형과 체내수정형으로 나누고 이를 다시 침체의 유무에 따라 침체형과 무침체형으로 나누었으며, 편모의 수에 따라 편모가 하나인 형태 (uniflagellate type)와 편모가 두개인 형태 (biflagellate type)로 나누었다.

볼락의 완숙정자는 두부와 미부로 구성되어 있다. 두부의 형태는 긴 고추모양으로 두부에는 침체가 없는 무침체 체내수정형 (anacrosomal introsperm type)이다. 편모는 한개이고 편모의 횡단면은 "9+2" 구조를 나타내며, 미부에는 말단을 제외한 나머지 부분에 두개의 axonemal lateral fin을 가지므로서 전형적인 체외수정형 경골어류의 정자와 유사하다.

정자의 두부에 침체를 가지지 않는 종류는 체외수정 경골어류 가운데는 노래미, *Agrammus agrammus* (정과 이, 1985), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Colak and Yamamoto, 1974), 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis* (김, 1995), 흰줄납줄개, *Rhodeus ocellatus* (Ohta and Iwamatsu, 1983), 송사리, *Oryzias latipes* (Jamieson, 1991)가 있으며, 체내수정 경골어류는 썸뱅이 (Mizue, 1968), *Cymatogaster aggregata* (Gardiner, 1978), *Ameca splendens*, *Ataenobius toweri*, *Characodon lateralis*, *Xenotoca eiseni* (Grier et al., 1978), 조피볼락, (Chung and Chang, 1995), 그리고 망상어 (이, 1995) 등이 있는 것으로 알려져 있다.

어류에서 정자의 편모에 axonemal lateral fin을 가지는 종으로는 썸뱅이 (Mizue, 1968), *Neoceratodus forsteri* (Jespersen, 1971), *Ameca splendens* (Grier et al., 1978), 그리고 *Aphyosemion gardneri*, *Craterocephalus marjoriae*, *C. stercusmuscarum*, *Gastrophysus hamiltoni*, *Hypseleotris galii*, *Iriatherina wernerii*, *Lepisosteus osseus*, *Maccullochella macquariensis*, *Macquaria ambigua*, *Melanotaenia duboulayi*, *M. macullochi*, *Protopterus annectens*, *Pseudomugil mellis*, *P. signifer*, *P. tenellus* (Jamieson, 1991)가 보고되고 있다.

정자두부의 다양한 형태 및 침체의 유무는 난모세포의 난문 (micropyle) 유무와 난문의 형태 및 구조와 연관되

며, 미토콘드리아와 편모의 수, 편모의 형태 및 길이는 정자의 운동성과 관련이 있는 것으로 생각된다.

볼락의 정자형성과정 가운데 특히, 정자변태기 동안 proacrosomal granule은 관찰되지 않는데 이는 정자형성동안 침체가 형성되지 않기 때문인 것으로 생각된다.

Jamieson (1991)은 어류 정자의 편모형태에 있어서 체외수정종의 대부분은 axonemal lateral fin을 가지는데 반하여, 체내수정종의 정자는 편모에 axonemal lateral fin을 가지지 않는다고 언급하였는데, 체외수정종인 미꾸라지 (김, 1995)는 정자의 편모에 axonemal lateral fin이 없으며, 체내수정종인 썸뱅이 (Mizue, 1968)와 *Ameca splendens* (Grier et al., 1978) 그리고 본 연구에서도 밝혀진 바와 같이 체내수정종인 볼락은 두개의 axonemal lateral fin을 가지는 것으로 볼 때 이러한 axonemal lateral fin의 유무는 체외수정종과 체내수정종 어류의 정자를 구분하는 기준점이 되기 보다는 각각 정자들의 운동형태와 운동성과 관련이 있는 구조적 특이성으로 보아야 할 것이다.

결 론

볼락의 정소 내부조직상은 곡정세관형이다. 각각의 곡정세관은 다수의 소낭을 가지며, 각 소낭내의 생식세포들은 같은 발달단계를 보인다. 간기의 정원세포는 세포질이 미약한 반면, 커다란 핵과 뚜렷한 인을 가진다. 제 1 정모세포의 핵내에서는 synaptonemal complex가 뚜렷하고 세포질내에서는 미토콘드리아, 소포체, 골지체 등의 세포소기관이 증가한다. 제 2 정모세포의 핵질은 응축되어 높은 전자밀도를 나타낸다. 정세포는 세포질과 핵질이 응축되면서 타원형의 형태를 취하고, 미토콘드리아는 핵의 하방으로 위치하며, 골지체는 핵의 상부에서 주로 관찰되지만, proacrosomal granule은 관찰되지 않는다. 변태를 마친 정자는 두부와 미부로 구성된다. 두부에서 침체는 관찰되지 않으며, 핵의 아래쪽 cytoplasmic collar내에서는 미토콘드리아가 편모축사를 싸고 있다. 미부에서는 잘 발달된 axonemal lateral fin을 관찰할 수 있으며, 편모축사를 구성하는 미세소관은 "9+2"의 축사구조를 나타낸다.

참 고 문 헌

- 김봉석, 1995. 2배체와 3배체 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*의 성분화와 생식소 발달에 관한 비교 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위논문 p.108
- 이정식, 1995. 태생 경골어류 망상어, *Ditrema temmincki*의 생식생물학적 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위 논문 p.118
- 이택열, 김성연, 1992. 난태생 경골어류 볼락, *Sebastes inermis*의 생식과 체내자어 발달. 한국수산학회지 25(5), 413-431
- 장영진, 임한규, 변순규, 1995. 황점볼락, *Sebastes oblongus*의 성숙과 생식주기. 한국양식학회지. 8(1), 31-46
- 정의영, 이택열, 1985. 노래미, *Agrammus agrammus* (Temminck et Schlegel)의 생식 주기에 관한 연구. 부산수산대학 연구보고. 25(1), 26-42
- 高橋裕哉, 1989. 精巢의 構造と配偶子形成. 水族繁殖學 (隆島史夫, 羽生 功 編). 東京. 綠書房. pp.35-64
- Burns JR, Weitzman SH, Grier HJ, Menezes NA, 1995. Internal fertilization, testis and sperm morphology in Glandulocaudine Fishes (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae). J. Morphol. 224, 131-145
- Chung EY, Chang YJ, 1995. Ultrastructural changes of germ cell during the gametogenesis in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish. Soc. 28(6), 736-752
- Colak A, Yamamoto K, 1974. An electron microscopic study of spermiogenesis in the Japanese Eel, *Anguilla japonica*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 25, 1-5
- Gardiner DM, 1978. The origin and fate of spermatophores in the viviparous teleost *Cymatogaster aggregata* (Perciformes: Embiotocidae). J. Morphol. 155, 157-172
- Grier HJ, 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. Am. Zool. 21, 345-357
- Grier HJ, Fitzsimons JM, Linton, JR, 1978. Structure and ultrastructure of the testis and sperm formation in Goodeid teleosts. J. Morphol. 156, 419-438
- Jamieson BGM, 1991. Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. Cambridge University Press, New York, p.319
- Jespersen A, 1971. Fine structure of the spermatozoon of the Australian Lungfish *Neoceratodus forsteri* (Kreffft). J. Ultrastr. Res. 37, 178-185
- Mendoza G, 1941. The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. III. The germ cell cycle. Biol. Bull. 81, 70-79
- Michael JB, 1992. Annual reproductive cycle of oocytes and embryos of yellowtail rockfish *Sebastes flavidus* (Family Scorpaenidae). Fish. Bull. 90, 231-242
- Mizue K, 1957. Studies on a Scorpaenous fish *Sebastes marmoratus* Cuvier et Valenciennes-I. On the monthly variation of gonad maturity. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ. 5, 27-29
- Mizue, K. 1968. Studies on Scorpaenous fish *Sebastes marmoratus* Cuvier et Valenciennes-VI. Electron microscopic study of spermatogenesis. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ. 25, 9-24
- Morser, H.G. 1967. Seasonal histological changes in the gonads of *Sebastes paucispinis* Ayers, an ovoviviparous teleost (Family Scorpaenidae). J. Morphol. 23, 329-353
- Ohta T, Iwamatsu T, 1983. Electron microscopic observations on sperm entry into eggs of the rose bitterling, *Rhodeus ocellatus*. J. Exp. Zool. 227, 109-119
- Sasaki T, Igarashi T, 1974. Seasonal changes of the testis and the spermatogenesis of *Sebastes vulpes* Steindachner et Doderlein. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 25, 100-106
- Wiebe JP, 1968. The reproductive cycle of the viviparous seaperch, *Cymatogaster aggregata* Gibbon. Can. J. Zool. 46, 1221-1234

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Transmission electron micrograph showing spermatogonium of interphase. Spermatogonium contained a large nucleus (N) with single nucleolus (No). C, cytoplasm.
- Fig. 2.** Transmission electron micrograph showing spermatogonium of growing stage attached to germinal epithelium (Ge). N, nucleus.
- Fig. 3.** Primary spermatocyte in leptotene stage of meiotic division. C, cytoplasm; Hc, hetero chromatin; N, nucleus.
- Fig. 4.** Primary spermatocytes (Psc) within the cyst (Cs) of seminiferous tubule. Ccn, nucleus of cyst cell.
- Fig. 5.** High magnification of Fig. 4. Primary spermatocyte in pachytene stage of meiotic division. Note the synaptonemal complex (Sc) in the nucleus (N) and endoplasmic reticula (Er), Golgi bodies (G) and mitochondria (Mt) in the cytoplasm.
- Fig. 6.** Secondary spermatocyte contained condensed chromatin. Er, endoplasmic reticula; Mt, mitochondria; N, nucleus.
- Fig. 7.** Early spermatid contained more condensed nucleus (N) and the Golgi bodies (G) located to upper area of nucleus.
- Fig. 8.** Mid spermatid showing long-spherical shape and the contained mitochondria (Mt) with well developed cristae (Cr) in lower area of cytoplasm (C). N, nucleus.
- Fig. 9.** Longitudinal section of lately spermatid. Note the sickle-like nucleus (N) and well developed mitochondria (Mt) in the cytoplasm (C).
- Fig. 10.** Longitudinal section of sperm head. No acrosome in apex region of nucleus (N). Af, axial filament; Cpc, cytoplasmic collar; Plm, plasma membrane.
- Fig. 11.** Longitudinal section of sperm flagellum (F). Note the cytoplasmic collar (Cpc) and axonemal lateral fin (Alf). Af, axial filament; Mt, mitochondria; N, nucleus; Pc, proximal centriole.
- Fig. 12.** Cross section in mid part of flagellum showing well developed axonemal lateral fin (Alf) and the axial filament consist of nine pairs of peripheral microtubules (Pm) and one pair of central microtubules (Cm).
- Fig. 13.** Cross section in end part of flagellum. Note the absent of axonemal lateral fin.
Scale bar=200 nm.
- Fig. 14.** Scanning electron micrograph of sperm. Sperm consist of head (H) and tail (T). Af, axial filament; Alf, axonemal lateral fin.
- Fig. 15.** High magnification of Fig. 14. Note the cytoplasmic collar (Cpc) in head (H). Nc, neck; T, tail.
- Fig. 16.** Transmission electron micrograph showing sperm efferent duct (Ed) covered with many stereocilia (Sci).





