

모래무지(Teleostei, Cyprinidae) 정자변형과정과 정자의 미세구조

김구환*·권덕문·이준일·정성배¹
 대구보건대학 방사선과·대구대학교대학원 생물학과¹

Ultrastructure of *Pseudogobio esocinus* (Teleostei, Cyprinidae) Spermogenesis and Spermatozoa

Kgu Hwan KIM*, Deok Mun KWON, Jun Ill LEE and Sung Bae JUNG¹
 Department of Radiologic Technology, College of Daegu Health, Daegu 702-722, Korea
¹Department of Biology, School of Graduate, University of Daegu, Gyeongsan 712-714, Korea

Spermogenesis and mature spermatozoa of the Korean false minnow *Pseudogobio esocinus* (Cyprinidae) are described by means of scanning and transmission electron microscopy. Spermogenesis is characterized by lateral development of the flagellum, absence of nuclear rotation, and eccentric nuclear fossa formation. The spermatozoa have a spherical head containing a nucleus with highly condensed chromatin and no acrosome. The nuclear fossa contains the proximal centriole and anterior part of the distal centriole. The midpiece is type A II and contains semi-fused mitochondria around the axoneme. However, the symmetrical distribution of 4 or more the mitochondria does not follow a general pattern of the cyprinid spermatozoa. Cytoplasmic vesicles in the midpiece are common in Cypriniformes and some of Siluriformes and Characiformes spermatozoa.

Key words: Sperm, Spermogenesis, Ultrastructure, Cyprinidae

서 론

모래무지 *Pseudogobio esocinus*는 잉어과 (Cyprinidae) 모래무지아과 (Gobioninae)에 속하는 어류로 한국의 주요하천에 서식하며 중국과 일본에도 분포하고 있다 (Kim, 1997). 본 종은 1846년 Temminck and Schlegel가 일본 나가사키 부근에서 채집한 표본을 근거로 *Gobio esocinus*로 명명하였으나 1863년 Bleeker에 의해 *Pseudogobio* 속으로 전속되었다. 한편 국내의 서식에 관해서는 1939년 Uchida가 처음으로 *P. esocinus*의 형태와 생태에 관하여 보고하였다 (Kim, 1997).

동북아 지역에 서식하고 있는 담수어류중 기존에 동일한 종으로 알려진 종이 최근에는 일부종이 새롭게 구분 명명되고 있어 (Hosoya, et al., 2003; Kim et al., 2005) 기존의 분류된 종에 관하여서도 다양한 방면에서 연구가 요구된다고 할 수 있다. 이와같은 면에서 어류의 분류와 계통을 연구하는 데 있어서 정자의 구조를 활용한 연구는 많은 분류군에서 중요한 단서를 제공하여 왔다 (Jamieson, 1991; Mattei, 1991).

잉어류 정자에 관한 연구는 *Carassius auratus* (Fribourgh et al., 1970; Guan, 1990), *Cyprinus carpio* (Billard, 1970), *Brachydanio rerio* (Kessel et al., 1983), *Rhodeus sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991), *Pungtungia herzi* (Lee and Kim, 1998b), *Zacco temminckii* (Kim et al., 2006), *Squalidus* 2종 (Lee and Kim, 1998a; Kim et al., 1998), cyprinid 7종

(Baccetti et al., 1984) 등에서 진행된 연구에서 정자의 전반적인 미세구조는 등근두부, 짧은중편, 긴편모로 밝혀져 있으나 종간, 속간, 과산의 미세구조에서는 현격한 차이를 나타내고 있다.

본 연구는 모래무지 정자의 미세구조와 정자의 변형과정을 추적하여 인접분류군과의 형태적 차이점을 규명하여 계통적 관계를 고찰하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료는 2005년의 4월부터 7월사이 번식시기에 경북 군위군 위천에서 채집한 성숙한 수컷 모래무지 개체들이다. 채집된 개체는 활어상태로 정소를 추출한 후 투과전자현미경 및 주사전자현미경으로 관찰하였다.

투과전자현미경 (TEM) 방법은 정소조직을 구분하여 2.5% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde (4℃ phosphate buffer, pH 7.2) 용액에서 2시간 전고정하고, 완충용액 (4℃ phosphate buffer, pH 7.2)으로 10분간 3회 수세한 후 1% osmium tetroxide에서 후고정 하였다. 계속해서 동일 완충용액으로 3회 수세한 후, ethanol (50% → 100%)로 탈수하고, propylene oxide로 치환하여 Epon 812 혼합액에 포매한 다음, 35℃, 45℃ 및 60℃ 순으로 vaccum oven에서 중합반응시켰다. 포매된 재료는 ultramicrotome (MTXL)으로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (H-7500)으로 검정하였다. 정자의 외부구조 관찰을 위한 주사전자현미경적

*Corresponding author: guhwan@hanmail.net

방법은 투과전자현미경적 방법과 동일한 전고정 과정을 거쳤고 완충용액과 ethanol로 수제한 다음 iso-amylacetate로 치환하여 임계점 건조법으로 건조한 후 IB-5로 ion coating하여 주사전자현미경 (S-4100)으로 검경하였다.

결 과

정자변형과정 (spermiogenesis)

초기 정세포 (early spermatid)는 구형이며 전자밀도가 낮은 염색질의 핵과 세포질에 산재되어 세포소기관들이 관찰되었다 (Fig. 1a). 핵의 측면으로부터 핵막이 일부 함몰되어 핵와 (nuclear fossa)가 생성되기 시작하고 핵와로 중심립이 이동하고 중심립 근처에는 과립물질들이 덩어리를 형성하고 있었다 (Fig. 1a). 정세포의 변형과정이 진행됨에 따라 핵와는 더욱 깊게 함몰되어 기부중심립이 완전히 핵와 안으로 위치하게 되고 기부중심립과 핵막은 섬유성 물질에 의하여 상호 연결되어 있었다 (Fig. 1b). 세포질의 측면에 위치한 말단부 중심립에서는 편모가 돌출되어 나오며 편모 돌출부의 세포질은 함몰되어 cytoplasmic canal을 형성하고 있었다 (Fig. 1c). Cytoplasmic canal에 의하여 편모와 세포질은 상호 분리되며 편모주변의 세포질로 미토콘드리아가 이동해 위치하고 있었다 (Fig. 1d). 정세포 변형과정이 더욱 진행됨에 따라 핵은 더욱 농축되고 세포질과 세포소기관은 핵의 반대편에 위치해 있으며 정세포들은 cytoplasmic bridge에 의해 서로 연결되어 생식세포의 동시분화를 유지할 수 있도록 하고 있었다 (Fig. 1e)

정세포 변형과정이 거의 끝난 시기에 핵은 완전히 농축되었고 세포질의 잔여물도 없애지고 Sertoli 세포도 점차 축소되며 정세포의 빈공간이 나타나기 시작했다. 한편 이시기의 정세포의 중편에는 많은 vesicle들이 나타났다 (Fig. 1f).

성숙한 정자 (mature spermatozoa)

모래무지 정자의 외부형태는 둥근 두부, 짧은 중편, 단편모로 구성되어 있었다 (Fig. 2a). 정자의 두부에는 첨체가 없으며 핵은 매우 농축되어 있으며 핵의 기저부에 형성된 핵와는 기부중심립을 포함하고 있었다 (Fig. 2b). 함몰된 핵와의 핵막과 기부중심립사이에는 섬유성 물질이 상호연결하고 있으며 중심립의 기저부에서는 편모가 신장되어 있었다 (Fig. 2b). 두 중심립사이의 각도는 약 120° 이고 이와 같은 각도는 핵과 편모와의 각도에 반영되어 나타나고 있었다 (Fig. 2a, d). 중편부는 cytoplasmic canal에 의하여 세포질과 편모사이가 분리되어 있으며 3-5개의 mitochondria가 2층으로 편모의 주변을 둘러싸고 있었다 (Fig. 2b, e, f, g). 정세포 (spermatid) 단계에 비하여 미토콘드리아의 구조가 분명하지 않으며 내부의 크리스테의 수도 줄어 있고 융합된 구조도 관찰되었다 (Fig. 2f, g). 중편에는 약간의 공포가 불규칙적으로 나타나는데 그 수가 많지 않으며 편모에서도 일부 관찰되나 (Fig. 2d~g) 편모의 기저부로 가면서 vesicle 구조는 나타나지 않았다 (Fig. 2h). 편모는 전형적인 9+2 이중미세소관 구조이며 axonemal fin은 관찰되지 않았다 (Fig. 2h).

고 찰

잉어류 정자의 일반적인 미세구조는 구형의 두부, 짧은 중편, 하나의 긴 편모를 가진 미부로 구성되어 있다 (Baccetti et al., 1984). 정세포의 변형과정 또한 이와 같은 형태를 구성하기 위한 일련의 과정이라 할 수 있다. 하지만 세포의 전체적인 구조는 유사하지만 각 소기관의 위치와 구성 그리고 그 형태는 종간의 특이성을 보여주고 있다.

모래무지 (*Pseudogobio esocinus*) 정세포의 변형과정은 핵의 회전이 일어나지 않고 편모가 비대칭적으로 자리잡고 있는 Type II (Mattei, 1970)에 해당한다고 할 수 있으나 핵와안에 기부중심립이 위치하고 있어 Type II와는 다소 차이가 있었다. 모래무지 정자의 편모는 핵의 농축이 일어난 이후에도 핵의 회전은 일어나지 않으며 성숙한 정자에서 핵과 편모의 각도가 약 120° 의 예각을 나타내고 있었다. 핵과 편모의 각도가 예각으로 나타나는 것은 대부분의 잉어류에서 나타나는 공통된 현상으로 볼 수 있으며 핵과 편모의 각도는 기부중심립과 기저중심립의 각도가 반영된 것으로 잉어류에서는 다양성을 보이고 있다 (Baccetti et al., 1984; Lee and Kim, 1998a, b; Kim et al., 1998; Hara and Okiyama, 1998). Mattei (1970)는 체외수정을 하는 경골어류 정자의 편모는 핵의 측면에서 발생하여 핵의 농축이 일어나기 전까지 핵에 대한 각도가 직각이거나 평형을 유지한다고 보고하였다.

경골어류 정자 핵의 농축은 이형적으로 나타나는 것 Osmeridae, Plecoglossidae, Salmonidae (Hara and Okiyama, 1998)과 동형적으로 나타나는 것 Siluridae (Lee and Kim, 2001), Bagridae (Lee, 1998), Heptapteridae와 Pseudopimelodidae (Quagio-Grassiotto et al., 2005), Plotosidae (Hara and Okiyama, 1998) 으로 구분할 수 있다. 잉어류에서는 핵물질 대부분 동형으로 농축되고 있어 (Baccetti et al., 1984; Kim et al., 1998; Hara and Okiyama, 1998) 이와 같은 형질이 잉어류의 공통된 특징으로 볼 수 있다.

모래무지 정자의 핵와는 정세포 단계가 진행되면서 서서히 발달되어 핵와안에 기부중심립을 완전히 포함하고 있었다. 경골어류의 핵와는 위치에 따라 크게 2가지로 구분할 수 있는데, 핵의 측면에 위치한 Type A에 속하는 *Leuciscus cephalus*, *L. souffia*, *Rutilus rubilio*, *Alburnus alburnus alborella*, *Chondrostoma toxostoma*, *Barbus barbus plebejus*, *Carassius auratus* (Baccetti et al., 1984), *Squalidus chankaensis tsuchigae* (Kim et al., 1998)와 핵의 중앙에 위치한 Type B에 속하는 *Silurus microdorsalis* (Lee and Kim, 2001), *Acanthopagrus schlegeli* (Gwo and Gwo, 1993), *Pseudobagrus fulvidraco* (Lee, 1998) 으로 구분할 수 있다. 또한 함몰정도에 따라서는 세가지 형태, Type I 중심립을 전혀 수용하지 못할 정도로 매우 얇게 함몰된 것 (Lahnsteiner and Patzner, 1996), Type II 기부중심립을 포함할 만큼 함몰된 것 (Baccetti et al., 1984), Type III 기부중심립과 기저중심립을 모두 포함할 만큼 깊이 함몰된 것 (Lee, 1998; Lee and Kim, 2001)으로 구분할 수 있다. 잉어류는 *Rhodeus sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991)를 제외한

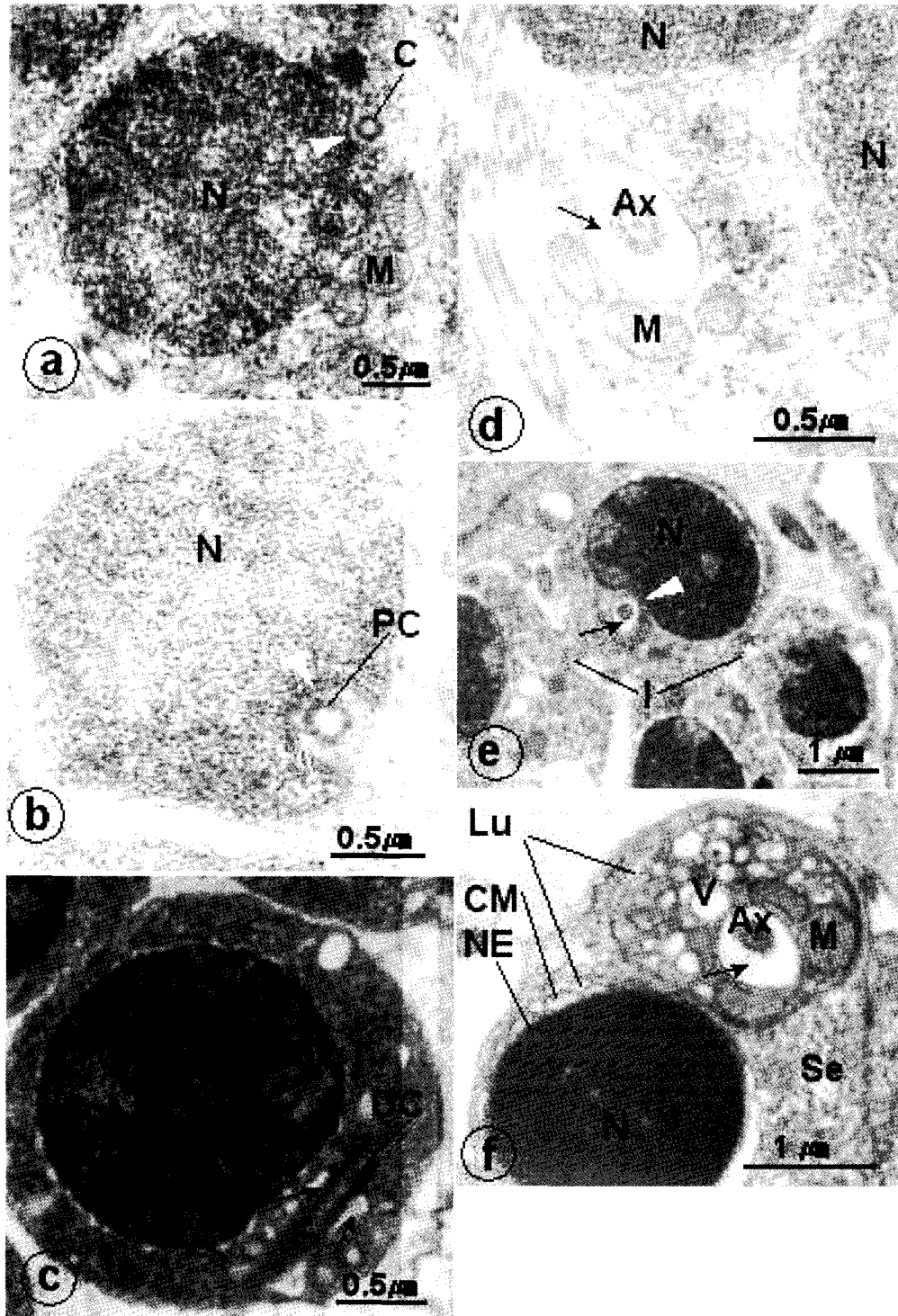


Fig. 1. Transformation of *Pseudogobio esocinus* spermatids into mature spermatozoon during spermiogenesis. ㉑: The mitochondria (M) of an early spermatid migrates to centriolar complex (C). Note the invagination (white arrowhead) of basal part of nucleus(N). ㉒: Invaginated nuclear fossa includes aproximal centriole (PC). Note the connection fiber (white arrow) between centriole and nuclear envelope. ㉓: Flagellum (F) projected from the distal centriole (DC) and pass through the midpiece. ㉔: The axoneme (Ax) seperated by cytoplasmic canal (black arrow) including mitochondria (M). ㉕: Nuclear condensation and discard excess cytoplasm, vesicles will form the apical membrane of spermatid. ㉖: Cross section of the late spermatid showing the seminiferous lumen (Lu), several vesicles (V), nuclear envelope (NE), cell membrane (CM) and sertoli's cell (Se).

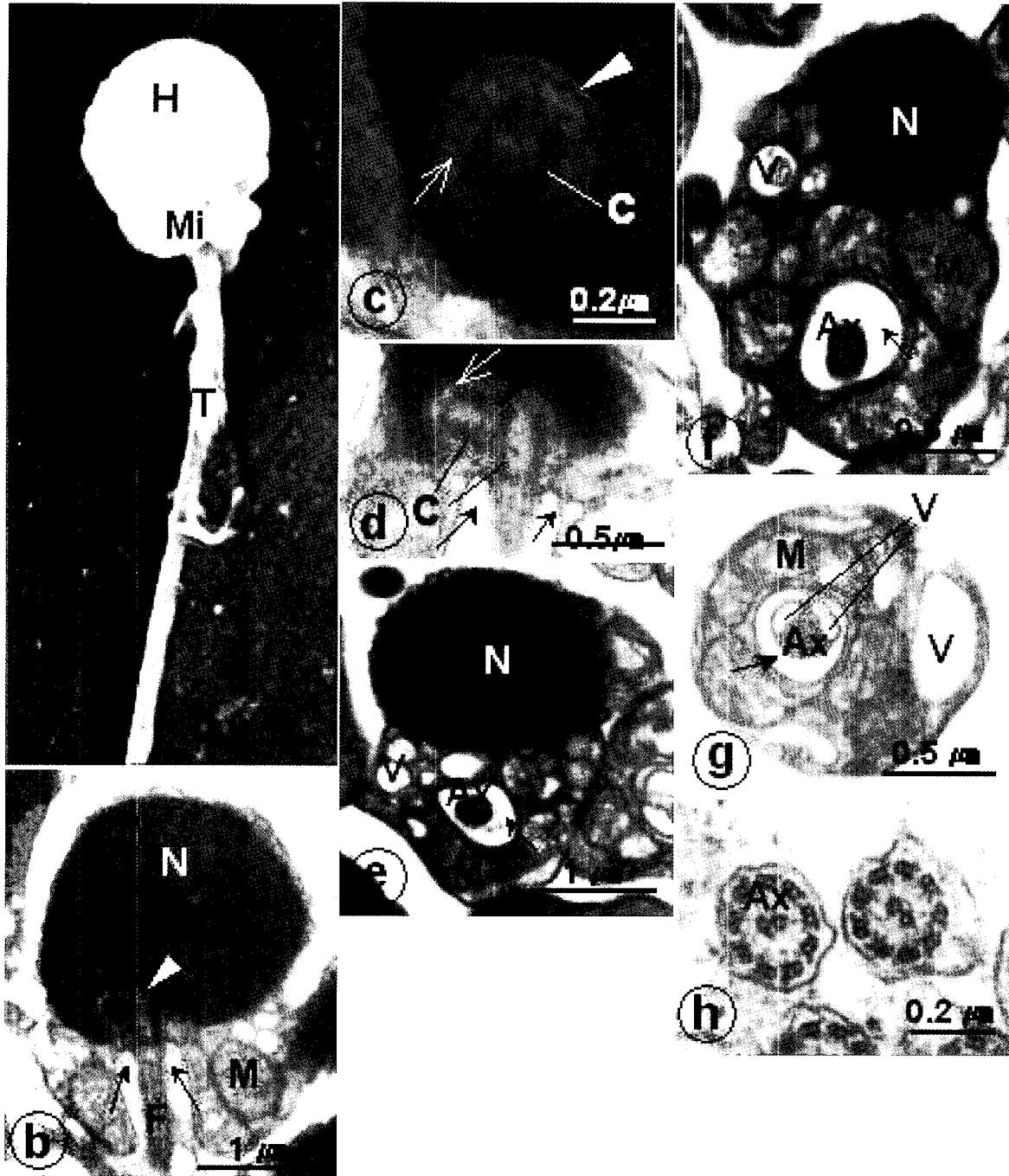


Fig. 2. Mature spermatozoon of *Pseudogobio esocinus*. (a): Scanning electron micrographs of a spermatozoon showing a spherical head (H), a short midpiece (Mi) and a tail (T). (b): Longitudinal section through the nucleus invaginated a nuclear fossa (white arrowhead) showing the cytoplasmic canal (black arrow), mitochondria (M) and flagellum (F). (c): Transverse section of the level of the basal nucleus containing the centriole (C) in a nuclear fossa (white arrowhead). Note the fibrous connection (white arrow) between the nuclear envelope and centriole. (d): Longitudinal section of the midpiece showing the two centrioles (C) and cytoplasmic canal (black arrows). (e)-(g): Transverse section through various levels of the midpiece showing the distribution of the mitochondria, which is separated from the axoneme by the cytoplasmic canal. (e): Transverse section at the level of the anterior part of the cytoplasmic canal containing nucleus (N), mitochondria (M), vesicles (V) and axoneme (Ax). (f): Transverse section at the middle level of the cytoplasmic canal. Note the axoneme surrounded by several mitochondria (M). (g): Transverse section at the posterior level of cytoplasmic canal (black arrow) containing mitochondria (M), a few vesicles and axoneme. Note the axoneme include vesicles (V). (h): Transverse section of the endpiece showing the axoneme. There is no axonemal fin.

모래무지를 포함한 대부분이 Type A II에 속하는 것으로 볼 수 있다.

잉어류 정자의 중편에서 관찰되는 미토콘드리아는 종에 따라 수와 형태가 다양하게 나타나고 있다. 잉어류 정자에서 미토콘드리아가 하나로 융합된 구조 *Pungtungia herzi* (Lee and Kim, 1998b), *Rhodeus sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991)와 융합되지 않은 구조 *Leciscus cephalus*, *Rutilus rubilio*, *Alburnus alburnus alborella*, *Chondrostoma toxostoma*, *Barbus barbatus plebejus* (Baccetti et al., 1984) *Squalidus gracilis majimae* (Lee and Kim, 1998), *Zacco temmincki* (Kim et al., 2006), *Z. koreanus* (Kim, 2006) 일부 융합된 구조로 미토콘드리아가 C자형으로 편모를 둘러싸고 있는 *Squalidus chankaensis tsuchigae* (Kim et al., 1998), *Leciscus souffia*, *Carassius auratus* (Baccetti et al., 1984)로 구분할 수 있다. *Squalidus* 2종은 미토콘드리아의 형태가 다르게 보고되었다.

한편 *Pungtungia herzi*, *Squalidus gracilis majimae*, *S. chankaensis tsuchigae*와 모래무지는 모래무지아과 Gobioninae에 속해 있는 종들로 미토콘드리아의 형태로 볼때 모래무지 정자는 일부 융합되어 C자형으로 편모를 둘러싸고 있는 *Squalidus chankaensis tsuchigae* (Kim et al., 1998)와 유사하다고 할 수 있다. Baccetti et al. (1984)는 정자의 분류에 있어 미토콘드리아의 수와 위치가 중요한 분류형질로 볼 수 있다고 주장하였다. 또한 모래무지 정자에서 편모를 중심으로 대칭적으로 분포한 미토콘드리아의 구조는 잉어류에서 일반적으로 나타나는 형태는 아니다.

모래무지 정자의 중편에서 관찰되는 vesicle 구조는 정자의 편모 기부에서는 뚜렷하게 나타나나 기저부에서는 관찰되지 않았다. 이와같은 vesicle 구조는 Cyprinidae (Baccetti et al., 1984; Kim et al., 1998)에서는 중편부와 편모에서 나타나고, Siluridae (Lee and Kim, 2001)에서는 중편부에서 관찰되며, Citarinidae, Erythrinidae, Curimatidae (Quagio-Gassiotto et al., 2003)에서는 중편부와 편모에서 보고되었다. Siluridae와 Citarinidae의 중편부에서 나타나는 vesicle 구조는 정교한 관구조 (tubular structure)를 형성한 것과 같이 규칙적으로 나타나고 있는 반면, 모래무지를 포함한 잉어류에서는 불규칙한 모양으로 중편과 편모에서 주로 관찰되고 분류군간에 확연한 차이가 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

Baccetti, B., A.G. Burrini, G. Callaini, G. Gibertini, M. Mazzini, and S. Zerunian. 1984. Fish germinal cells I. Comparative spermatology of seven cyprinid species. *Gamete Res.*, 1, 373-396.
 Billard, R. 1970. Ultrastructure comparée de spermatozoïdes de quelques poissons Téléostéens. In: *Comparative Spermatology*. Baccetti, B., ed. Academic Press, New York, 71-79.
 Fribourgh, J.H., D.E. McClendon, and B.F. Sollfe. 1970.

Ultrastructure of the goldfish, *Carassius auratus* (Cyprinidae), spermatozoon. *Copeia*, 2, 274-279.
 Guan, T.L. 1990. Resional specificity within plasma membrane and nuclear membrane of goldfish sperm. *Acta Biol. Sinica*, 23, 17-27.
 Guan, T.L. and B.A. Afzelius. 1991. The spermatozoon of the Chinese bitterling, *Rhodeus sericeus sinensis* (Cyprinidae, Teleostei). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23, 351-356.
 Gwo, J.C. and H.H. Gwo. 1993. Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopagrus schegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Molecuar. Reprod. Develop.*, 36:75-83.
 Hara, M. and M. Okiyama. 1998. An ultrastructural review of the spermatozoa of Japanese fishes. *Bull. Ocean Res. Inst. Univ. Tokyo*, 33, 1-138.
 Hosoya, K., H. Ashiwa, M. Watanabe, K. Mizuguchi and T. Okazaki. 2003. *Zacco sieboldii* a species distinct from *Zacco temminckii* (Cyprinidae). *Ichthyol. Res.*, 50, 1-8.
 Jamieson, B.G.M. Jr. 1991. *Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa*. Cambridge University Press, New York, 1-139
 Kessel R.G., H.W. Beams, H.N. Tung and R. Roberts. 1983. Unusual particle arrays in the plasma membrane of zebrafish spermatozoa. *J. Ultrastruct. Res.*, 84, 268-274.
 Kim, I.S. 1997. *Illustrated Encyclopedia of Fauna & Flora of Korea*. Vol. 37. Freshwater Fishes. Ministry of Education, Seoul, 1-629.
 Kim, I.S., M.K. Oh and K. Hosoya. 2005. A new species of cyprinid fish, *Zacco koreanus* with redescription of *Z. temminckii* (Cyprinidae) from Korea. *Kor. J. Ichthyol.*, 17, 1-7.
 Kim, K.H. 2006. Ultrastructure of *Zacco koreanus* (Teleostei, Cypriniformes, Cyprinidae) spermiogenesis and spermatozoa. *Kor. J. Ichthyol.*, 18, 347-354.
 Kim, K.H., A.S. Kwon and Y.H. Lee. 1998. Spermatozoal ultrastructure and phylogenetic relationships of the subfamily Gobioninae (Cyprinidae, Teleostei). 2. Ultrastructure of the spermatozoa of the Korean gudgeon *Squalidus chankaensis tsuchigae*. *Kor. J. Limnol.*, 31, 159-164.
 Kim, Y. J., C. Y. Choi and I. S. Park. 2006. Ultrastructure of dark chub *Zacco temmincki* (Cyprinidae) spermatozoa. *J. Fish. Sci. Technol.*, 9, 1-6.
 Lahnsteiner, F and R.A. Patzner. 1996. Fine structure of spermatozoa of three teleost fishes of the Mediterranean Sea: *Trachinus draco* (Trachinidae,

- Perciformes), *Uranuscopus scaber* (Uranuscopidae, Perciformes) and *Synodon saurus* (Synodontidae, Aulopiformes). J. Submicrosc. Pathol., 28, 297-303.
- Lee, Y.H. 1998. Ultrastructure of spermatozoa in the bagrid catfish, *Pseudobagrus fulbidraco* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae). Kor. J. Electron Microsc., 28, 39-48.
- Lee Y.H. and K.H. Kim. 1998a. Spermatozoal ultrastructure and phylogenetic relationships of the subfamily Gobioninae (Cyprinidae, Teleostei) 1. Ultrastructure of the spermatozoa of the Korean Gudgeon *Squalidus gracilis majimae*. Kor. J. Electron Microsc., 28, 63-71.
- Lee, Y.H. and K.H. Kim. 1998b. Ultrastructure of spermatozoa in *Pungtungia herzi*. Dev. Reprod., 2, 141-148.
- Lee, Y.H. and K.H. Kim. 2001. The ultrastructure of spermatozoa of the slender catfish *Silurus microdorsalis* (Teleostei, Siluriformes, Siluridae) with phylogenetic considerations. J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 33, 329-336.
- Mattei, C. 1970. Spermioyeneses Comparee des Poissons. In: Comparative Spermatology. Baccetti, B., ed. Academic Press, New York, 57~69.
- Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. Can. J. Zool., 69, 3038-3055.
- Quagio-Grassiotto I., M.A. Spadella, M. Carvalho and Oliverira C., 2005. Comparative description and discussion of spermiogenesis and spermatozoal ultrastructure in some species of Heptapteridae and Pseudopimelodidae (Teleostei: Siluriformes). Neotrop. Ichthyol., 3, 401-410.
- Quagio-GAssiotto, I., M.C. Gameiro, T. Schneider, L.R.Malabarba and C. Oliveira. 2003. Spermiogenesis and spermatozoa ultrastructure in five species of the Curimatidae with some considerations on spermatozoal ultrastructure in the Characiformes. Neotrop. Ichthyol., 1, 35-45.

2007년 2월 7일 접수
2007년 6월 14일 수리