

한국산 줄납자루 (*Acheilognathus yamatsutae*) 정자의 미세해부학적 구조

김 구 환

대구보건대학 방사선과

Anatomical Ultrastructure of Spermatozoa of a Korean Bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* (Pisces, Cyprinidae) by Kgu-Hwan Kim (Department of Radiologic Technology, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea)

ABSTRACT The spermatozoal ultrastructure of *Acheilognathus yamatsutae* was studied using transmission electron microscopy. The mature spermatozoa are similar to those of other cyprinids as follows: a spherical nucleus with a shallow nuclear fossa, a short midpiece containing mitochondria and a long flagellum. However, there are some differences from other cyprinids in the orientation and position of the centrioles, the number of mitochondria, and the structure of vesicles. The position of the proximal centriole was of two types: one located on the side of nucleus decline, the other situated on the opposite side.

Key words : Spermatozoa, ultrastructure, cyprinids, *Acheilognathus yamatsutae*

서 론

납자루아과 어류는 소형 담수어류로 전 세계에 약 40종이 서식하고 있으며 대부분 시베리아와 아시아에 분포하고 있다(김, 1997). 줄납자루는 한반도에 분포하는 한국고유종으로 산란기에 암컷이 긴 산란관을 내어 민물에 사는 조개의 새강 안에 산란하고 수컷은 입수공에 사정하여 수정이 이루어진다(김과 강, 1993). 수정란은 조개의 새강에서 부화하여 자유 유영기가 될 때까지 그곳에서 성장하는 독특한 생식생태를 가지고 있다(김, 1997). 납자루아과의 수컷은 혼인색이 매우 화려하고 형태적으로 아주 다양하여 분류학적으로 논란이 많다(김, 1997). 정자의 미세구조는 다루기 힘든 분류학적 위치와 관계를 해소하는데 효과를 증명하였으며, 분류학과 계통학분야에서 광범위하게 적용하고 있다(Jamieson, 1991).

납자루류의 정자구조에 관한 보고는 *Rhodeus sinensis* (Guan, 1990), *R. sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991), *R. ocellatus* (Otha and Iwamatsu, 1983)의 극히 일부 중에서만 밝혀져 있다. 이들 종의 정자구조는 잉어과 어류의 일반

적인 형태와 유사하여 구형의 두부, 짧은 중편, 긴꼬리로 구성된 원시형정자(primitive sperm type)을 하고 있다. 그러나 미토콘드리아의 크기나 위치, 중심립의 각도 등 세포소기관에 있어서 각 종에 따라 다르게 나타나고 있다(Baccetti *et al.*, 1984; Guan, 1990; 박과 김, 1996; Lee and Kim, 1998).

국내에 분포하고 있는 납자루아과 어류는 3종 13종이 분포하고 있으나(김, 1997) 정자구조에 관한 연구는 *A. cheilognathus koreensis* (김 등, 2007) 1종만 밝혀져 있어 부족한 현실이다. 따라서 본 연구는 한국 고유종인 줄납자루 정자의 미세구조를 밝히고 다른 잉어과 어류와 비교하고자 실시하였다.

재료 및 방법

연구에 사용된 재료는 수컷 줄납자루 *Acheilognathus yamatsutae*로서 2006년 3~7월 경상북도 안동시 용상동 반변천 일대에서 9마리를 포획하였다. 포획된 개체는 살아있는 상태로 실험실로 운반하여 해부 후 정소조직을 적출하였다. 적출된 정소조직은 4°C, 2.5% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde (4°C, phosphate buffer, pH 7.2) 용액에서 3

*교신저자: 김구환 Tel: 82-53-320-1320, Fax: 82-53-320-1449, E-mail: kimgh@mail.thc.ac.kr

시간 1차고정한 후 동일한 완충용액(4°C, phosphate buffer, pH 7.2) 으로 10분간 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO₄)에서 2차고정하였다. 고정된 재료는 완충용액 (phosphate buffer, pH 7.2)으로 3회 완충하였다. 완충된 재료는 ethanol 농도 상승순(50%, 60%, 70%, 90%, 95%, 100%에서 각 10분간 4회)으로 탈수하고, propylene oxide로 치환하여

혼합액 (Polyscience, Epon 812, USA)에 포매한 다음 35°C, 45°C 및 60°C 순으로 vaccum dry oven에서 중합반응 하였다. 포매된 재료는 ultramicrotome (RMC, MTXL, Germany) 으로 초박질편을 만들어 copper grid에 부착한후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (Hitachi, H-7100, Japan)으로 관찰하였다.

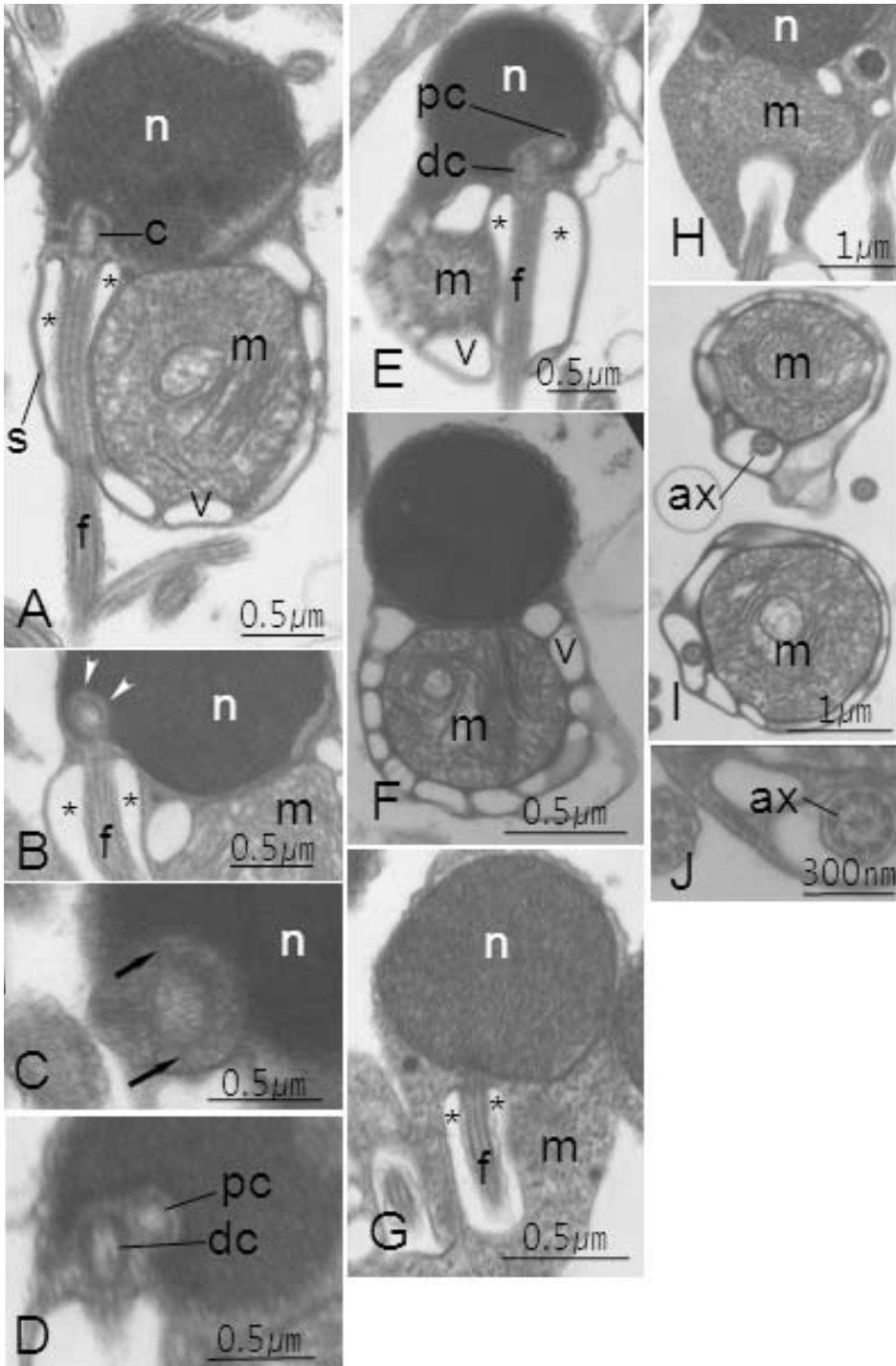


Fig. 1. Ultrastructure of spermatozoa in *Acheilognathus yamatsutae*. A. Longitudinal section of the spermatozoon showing a round head, a single mitochondrion and a flagellum. B. Longitudinal section of nuclear fossa showing which including the proximal centriole. C. Proximal centriole region of near the nuclear fossa which linked each other by fibrous material. D-E. Two centriole lay near the nuclear fossa. Note the proximal centriole location, there are two types of centrioles position. F. Longitudinal section of nucleus and mitochondrion showing the vesicles surrounding the mitochondrion. G-H. Formation of mitochondrion in spermiogenesis showing similar density of cytoplasm. I. Transverse section of the midpiece showing the mitochondrion was surround with numerous vesicles. J. Transverse section of the flagellum in midpiece showing the classic 9+2 microtubular doublet construction. ax: axomine, c: centriole, dc: distal centriole, f: flagellum, n: nucleus, m: mitochondrion, pc: proximal centriole, s: cytoplasmic sleeve, v: vesicle, blackarrow: fibrous material, star: cytoplasmic canal, white arrowhead: nuclear fossa.

결 과

줄납자루 *Acheilognathus yamatsutae*의 정자는 둥근 두부, 중편과 긴 꼬리로 구성되어 있었다(Fig. 1A). 두부는 미부와 일직선상에 있지 않고 세포의 장축에 대하여 두부는 125° 기울어져 있었다. 그 외부형태는 구형으로 횡경이 약 1.72 μm, 종경이 1.43 μm이며 핵을 포함하고 있지만 침체는 없었다. 원형질막과 핵막은 매우 밀접하게 근접해 있고 핵 물질이 균일하게 농축되어 있으며 핵의 일부에 빈 공간(nuclear lucent)이 관찰되었다(Fig. 1A).

두부는 아래로 중편부와 접해 있으며 핵의 기저부 일부가 함입되어 핵와(nuclear fossa)를 형성하고 있었다. 핵와는 두 중심립과 관련되어 나타나는데 핵와에 완전히 함입되어 있는 중심립과 일부만 함입되어 있는 중심립이 있었다(Fig. 1A, 1B). 중심립은 기부중심립과 말단부 중심립으로 구분할 수 있으며, 기부중심립의 위치는 핵이 기울어진 방향에 위치한 것과 반대방향에 위치한 두 가지 type이 나타나고 있었다(Fig. 1D). 말단부 중심립은 세포의 장축방향으로 향해 있었다(Fig. 1E). 두 중심립은 핵막과 섬유성물질에 의해 연결되어 있으며(Fig. 1C) 두 중심립사이의 각도는 약 125°로(Fig. 1D, 1E), 기부중심립과 말단부 중심립의 각도만큼 두부와 미부의 장축 사이가 반영되어 나타났다(Fig. 1A).

중편부에는 거대한 융합된 미토콘드리아(mitochondrion) 한 개가 위치해 있으며(Fig. 1F) 미토콘드리아의 횡단면은 1.53 μm, 종단면은 1.72 μm로 핵의 크기보다 약간 크고(Fig. 1A) 크리스테(cristae)가 잘 발달되어 있으며 그 주위를 소포(vesicle)들이 둘러싸고 있었다(Fig. 1E). 미토콘드리아

의 분포는 핵이 기울어진 방향으로 나타나며(Fig. 1A), 미토콘드리아의 형성은 정세포포시기에 밀도가 유사한 세포질에서 형성되어 하나로 만들어졌다(Fig. 1G, 1H).

편모는 두부의 정중앙에서 벗어난 핵의 외측에 위치해 있으며 말단부 중심립에서부터 돌출되어(Fig. 1A) 중편부를 관통하여 지나가고 있었다(Fig. 1G). 편모와 인접한 중편세포질에는 vesicle 구조는 관찰되지 않으며(Fig. 1A, 1I), 세포질관(cytoplasmic canal)이 편모를 중편세포질로부터 분리시켜 놓고 있었다. 편모의 구조는 전형적인 9+2 이중미세소관구조를 하고 있으며 편모의 소포(vesicle)이나 axone-mal fin은 관찰되지 않았다(Fig. 1I, 1J).

고 찰

경골어류 정자의 세포소기관은 매우 다양하게 나타난다. 일반적으로 체내수정형은 길게 신장된 핵과 긴 중편부를 가지나(Mattei, 1991), 체외수정을 하는 정자는 구형 또는 신장된 두부에 짧은 중편 그리고 긴 미부로 구성되어 있다(Jamieson, 1991; Gwo *et al.*, 2004). 줄납자루 정자의 구조는 구형의 두부, 짧은 중편 그리고 긴 꼬리로 구성되어 있어 전형적인 체외수정형으로 구분할 수 있다.

줄납자루 정자의 전반적인 형태는 편모가 핵의 측면에서 돌출되어 있고 세포소기관이 비대칭적으로 위치해있다. 즉, 꼬리의 축에 대하여 두부가 비스듬하게 접하여 있었다. 이와 같은 두부와 미부의 기울어진 구조와 세포소기관의 비대칭적 분포는 잉어과(Baccetti *et al.*, 1984)에서는 공통적으로 나타나는 구조이며 민물꼬치과(Billard, 1983)에서도 관찰되고 있다. 줄납자루 정자에서처럼 두부가 구형이며 침체가 존재하지 않는 이러한 핵의 특징은 신조기하강(Neopterygii)에 속하는 어류에서는 파생형질(apomorphic character)로 구분하고 있다(Mattei, 1991).

경골어류에서 두 중심립 사이의 각도는 종에 따라 다양하게 나타나고 있다(Jamieson, 1991). 잉어류에서는 주로 둔각으로 나타나고 있는데 대부분 기부중심립이 기울어진 방향으로 그 각도를 반영해서 두부가 기울어져 있다(Baccetti *et al.*, 1984). 그러나 줄납자루 정자에서 기부중심립은 Fig. 1D와 1E에서 나타난 바와 같이 핵이 기울어진 방향으로 기울어진 것과 그 반대 방향으로 기울어진 2가지 type으로 나타나고 있다. 이와 같은 구조는 같은 속에 분류되어 있는 *A. koreensis*(김 등, 2007) 사진결과에서도 확인할 수 있었다. 따라서 두부와 반대방향으로 기울어진 기부중심립은 경골어류에서 처음으로 보고되는 구조로 납자루속에서 나타나고 있다.

경골어류 정자의 미토콘드리아의 수와 분포는 다양하게 보고되어 있으며(Jamieson, 1991; Hara and Okiyama, 1998),

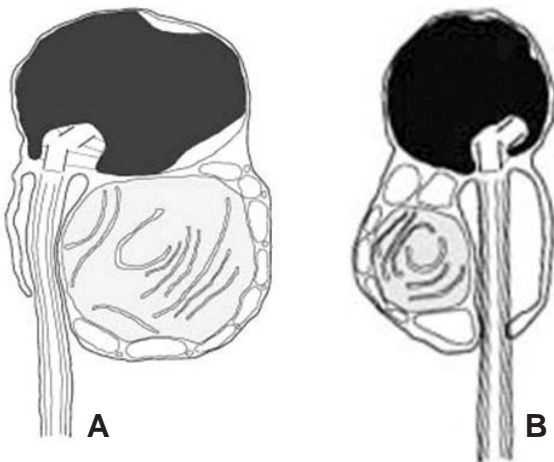


Fig. 2. Spermatozoon of *Acheilognathus yamatsutae*. Schematic representations. Note the two types of proxiaml centriole locations. A and B. The proximal centriole located nucleus decline (A) and the other situated opposite (B).

미토콘드리아의 수와 분포는 정자의 형태를 활용한 종간의 분류와 계통관계를 규명하는데 있어서 좋은 형질인 것으로 알려져 있다(Baccetti *et al.*, 1984). 줄납자루 정자에서는 같은 속에 있는 *A. koreensis* (김 등, 2007) 에서와 같이 융합된 미토콘드리아 (mitochondrion) 구조가 나타나고 있었다. 이와 같이 융합된 미토콘드리아 (mitochondrion) 구조는 잉어과내에서 *A. koreensis* (김 등, 2007), *Rodeus sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991) *Pungtungia herzi* (Lee and Kim, 1998) 에서 밝혀져 있다. 융합된 미토콘드리아 (mitochondrion)의 크기가 두부의 크기와 유사한 것은 *A. koreensis*와 *R. sericeus sinensis*이며 *P. herzi*의 mitochondrion은 두부에 비하여 현저히 작게 나타나고 있다. 따라서 bitterling에 속하는 줄납자루와 *A. koreensis*, *R. sericeus sinensis*의 mitochondrion은 두부의 크기와 비슷한 매우 큰 구조가 공통적으로 나타나고 있다.

또한 하나로 융합된 미토콘드리아 (mitochondrion)를 갖는 돌고기에서는 크기가 다양한 소포 (vesicle)들이 중편부와 편모에 불규칙하게 산재되어 있으나 bitterling에 속하는 *Acheilognathus*와 *Rhodeus*는 일정한 크기의 소포 (vesicle)들이 mitochondrion을 규칙적으로 둘러싸고 있었다.

한편, 줄납자루 정자의 편모는 9쌍의 이중미세소관과 2개의 중심미세소관으로 구성된 전형적인 9+2 구조를 나타내고 있는데 이와 같은 구조는 진골어류의 일반적인 축사구조에 속한다 (Mattei, 1991). 또한 축사에서 원형질막이 세로로 신장되어 형성된 fin이 있는 경우가 있는데 줄납자루에서는 이와 같은 구조가 관찰되지 않았다.

요 약

줄납자루 *A. yamatsutae* 정자의 미세해부학적 구조를 전자현미경으로 관찰하였다. 칼납자루 정자의 미세해부학적 구조는 경골어류 및 잉어과 어류의 일반적인 구조와 유사하였다. 즉, 둥근 두부와 긴 미부의 tangent한 연결, 비대칭적인 짧은 중편의 구조를 하고 있었다. 중편의 미토콘드리아는 핵과 유사한 크기로 하나로 융합되어 핵이 기울어진 방향에 위치해 있었다. 잉어과 중편에서 관찰되는 불규칙한 모양의 vesicle과는 달리 줄납자루에서는 vesicle이 미토콘드리아의 주위를 규칙적으로 둘러싸고 있었다. 이와 같은 융합된 미토콘드리아와 소포 (vesicle)의 규칙적인 배열은 bitterling에 속하는 *Acheilognathus*와 *Rodeus*에서 공통적으로 나타나는 특징이다. 두 중심립의 각도는 해부학적 단면

상에서 약 125°로 나타나며 기부중심립의 위치는 핵이 기울어진 방향에 위치한 것과 핵이 기울어지지 않은 곳 2가지 type으로 나타나고 있었다.

인 용 문 헌

- 김구환 · 김정기 · 황기주. 2007. 한국산 잉어과 어류 칼납자루 (*Acheilognathus koreensis*) 정자의 미세구조. 한국어류학회지, 19: 286-291.
- 김익수. 1997. 한국동식물도감 제37권 동물편 (담수어류). 교육부, 629pp.
- 김익수 · 강연중. 1993. 원색한국어류도감. 아카데미서적, 서울, 477pp.
- 박종영 · 김익수. 1996. 한국산 미꾸리과 Cobitidae (잉어목) 어류의 정자 미세구조. 한국어류학회지, 8: 74-83.
- 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., 10: 373-396.
- Billard, R., 1983. Ultrastructure of trout spermatozoa: Changes after dilution and deep freezing. Cell Tissue Res., 228: 205-218.
- 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., W.T. Yang, M.C. Kuo, A. Takemura and H.Y. Cheng. 2004. Spermatozoal ultrastructure of two marine perciform teleost fishes, the goatfish, *Paraupeneus spilurus* (Mullidae) and the rabbitfish, *Siganus fuscescens* (Siganidae) from Taiwan. Tissue Cell, 36: 63-69.
- Hara, M. and M. Okiyama. 1998. An ultrastructural review of the spermatozoa of Japanese fishes. Bull. Ocean Res. Inst. Univ. Tokyo, 33: 1-138.
- Jamieson, B.G.M. 1991. Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. New York: Cambridge University Press, pp. 135-148.
- Lee, Y.H. and K.H. Kim. 1998. Ultrastructure of spermatozoa in *Pungtungia herzi*. Dev. Reprod., 2: 141-148.
- Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. Can. J. Zool., 69: 3038-3055.
- Ohta, T. and T. Iwamatsu. 1983. Electron microscopic observations on sperm entry into eggs of the rose bitterling *Rhodeus ocellatus*. J. Exp. Zool., 227: 109-119.