

## 繁殖週期에 따른 무지개 松魚 精子形成時 細胞構造의 變化

尹鍾萬 · 金桂雄\* · 朴正吉\*\* · 盧淳昌

### Cell Structures of Spermatogenesis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* in Reproductive Cycles

Yoon Jong-Man, Gye-Woong Kim\*, Chung-Kil Park\*\* and Soon-Chang Roh

(Received September 20, 1994)

#### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the histological changes of sperm cells in testis, obtained from 100 of 3-year-old male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) collected and analysed from March in 1992 to February in 1993. Especially, the ultrastructural changes of spermatogonia, primary and secondary spermatocytes, spermatids, and spermatozoa were examined to describe the reproductive cycles of this species. The results obtained in this study were as follows:

The ultrastructures of the gonadotrophs largely parallel the cyclical changes in the testes. Each nest of cells belongs to one spermatogenetic stage, although nests at different stages can be found within the one lobule. At first heterochromatin is dispersed and then is condensed. In mature gamete, the nucleus is dense and homogeneous. The nuclear membrane appeared at the beginning of differentiation. In spermatogonia, Sertoli cells are located at the periphery of their cytoplasm. In the primary spermatocytes, the small mitochondria are abundant over the outer cytoplasm. During cell differentiation, the cytoplasm decreases and the nucleus increases. In spermatids, the protein masses moved towards the posterior part of the nucleus. In late spermatids, the two large mitochondria are located over the cytoplasm. In spermatozoa, two spheroidal mitochondria (about 145nm long) are situated in parallel between the nucleus and the axoneme. Spermatozoa mitochondria are assembled into an organized sheath surrounding the outer dense fibres and axoneme of the flagellar midpiece. The two centrioles are quite separate and the central pair and sheath complex of the flagellum is inserted into the base of the distal centriole.

**Key words:** rainbow trout, spermatogenetic changes, cell differentiation heterochromatin, mitochondria, flagellar midpiece

## 서 론

무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*) 정모세포의 5가지 발달 단계를 이해하기 위하여 光學 및 電子顯微鏡을 이용해서 본 연구를 하였다.

성선자극호르몬을 분비하는 뇌하수체의 조직부위(gonadotrophs, GTH)는 주기적으로 발달하는 정소의 변화단계와 시기적으로 거의 일치하는 것으로 나타났다. 미성숙단계의 정원세포에서는 이형염색질이 골고루 분포되어 있다가 성숙단계에서는 진하고 균질한 상태의 핵질을 구성한다. 같은 정자형성단계에 속하는 하나의 소엽속에는 발달단계가 다른 nest가 존재한다. 핵막은 분화초기에 나타났다. 정원세포의 세포질 주변에 세르톨리 세포가 존재한다. 제 1차 정모세포의 세포질 외측부에 작은 크기의 미토콘드리아가 풍부하게 존재한다. 세포분화가 진행되는 동안에 세포질은 그 크기가 수축되고 핵의 크기는 커진다. 정자세포의 경우 단백질이 주로 분포된 세포질이 핵 후미부의 한쪽으로 이동되었다. 정자세포 후기단계에 2개의 커다란 미토콘드리아가 세포질 끝부분에 위치해 있다. 성숙된 정자의 경우 그 크기가 약 145nm인 타원형 구조인 2개의 미토콘드리아가 핵과 軸絲 사이에 존재한다. 정자 증편부의 주위에는 미토콘드리아초와 외측 섬유소로 둘러싸여져 있다.

지금까지 외국에서 물고기의 정소 발달에 관한 연구가 많이 실행되어 왔다. Drance 등(1976)은 미성숙 무지개 송어에 얻어 뇌하수체 homogenate를 반복 주입시킴으로서 정소의 발달을, Davis(1977)는 담수산 메기(*Tandanus tandanus*)의 번식주기를 이해하기 위해서 성선의 조직형태를, Van Oordt 등(1987)이 아프리카산 메기(*Clarias gariepinus*)의 성선을, Leung(1988)은 호주산 경골어류(*Lepidogalaxias salamandroides*)의 정자의 미세구조와 종분류학상 중요성에 대해서 언급했다. Rejon 등(1988)은 고사리 정충의 핵성분을, Bernardini 등(1990)은 아프리카산 두꺼비(*Xenopus laevis*)의 정자완성과정을, Johnson(1991)은 말 정자의 계절적 변화를, Courtens 등(1992)은 토끼 정자세포의 중심체 단백질의 이동, Olson과 Winfrey(1992)는 햄스

터의 정자에 대해서 연구하였다.

국내에서는 어류 및 패류의 계절적 변화에 따른 성선의 발달에 관한 연구 보고로서 미꾸리(尹 등, 1991), 이슬라일 잉어(Lee 등, 1989), 점망둑(백 등, 1985) 등에 관한 것이 있다. 그러나 이들 보고가 모두 암컷에 국한된 연구로서 수컷에 대한 연구 결과가 드문 편이다.

따라서 광학(LM) 및 전자현미경(TEM, SEM)을 이용하여 무지개 송어 수컷의 정자형성(Spermatogenesis)에 관여하는 정소의 미세구조의 변화과정을 규명하고, 궁극적으로 종분류의 기초자료로 활용할 목적으로 본 연구를 실시하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 供試動物 및 飼養管理

1992년 3월부터 1993년 2월까지 건국대학교 축산대학부설 양어장에서 수온이 14-16°C이고, 溶存酸素量이 7.6±0.3ppm이며, pH 6.8±0.2인 정상적인 光週期를 받는 1개의 10m<sup>3</sup> 사육조에서 N.R.C. 사양표준에 준한 펠렛 배합사료를 급여하여 사육중인 체중 700-1,200g의 同腹새끼인 무지개 송어 수컷 3년생 100마리를 공시어로 이용하였다.

### 2. 組織學의 方法

#### 1) 광학현미경적 방법(LM)

조직학적 검사로는 각 탱크에서 사육중인 무지개 송어의 정소를 적출하여 picric acid 75%, formalin 25% 및 acetic acid 5% 용액으로 제조한 Bouin's fluid 용액으로 고정시킨 다음 여러 농도의 ethanol 용액으로 탈수 처리한 다음 soft 및 hard paraffin으로 포매(embedding)시킨 후 microtome(Reichert-Jung, U.S.A.)으로 자른 다음 haematoxylin-eosin 염색 후 ×125로 경검하여 염색 특징(acidophilic, basophilic)을 관찰하였다.

#### 2) 透過形 電子顯微鏡의 方法(TEM)

뇌하수체와 정소 조직편을 pH 7.3인 0.1M phosphate buffer가 포함된 3% glutaraldehyde 용액에 고정시키고, 2시간 동안 1% osmium 용액으로 후고정시키며, 1

시간 동안 여러가지 농도의 ethanol 용액으로 계속해서 탈수시킨다. Epon 812로 포매시키고, 초박절기(No. 2088, LKB, Bromma, Sweden)로 50nm의 크기로 초박절시킨 후 일부는 toluidine blue로 염색시켜서 광학현미경으로 관찰하였다. 나머지는 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색시킨 다음 투과형 전자현미경 (ISI-LEM 2000, Japan)으로 70kV의 전압하에서 精母細胞의 두부와 중편부의 미세구조적 특징을 관찰하였다.

### 3) 走査形 電子顯微鏡의 方法(SEM)

정소 조직편을 PBS로 수세시키고, pH 7.4인 3.5% phosphate-buffered glutaraldehyde 용액으로 1.5h 동안 침지시키며, 0.1M phosphate-sucrose buffer로 3회 수세시킨다. 30분 동안 2% osmium tetroxide-phosphate buffer-sucrose 용액으로 후고정시키며, 점액성분을 제거시키기 위해서 고정, 수세, osmication 단계를 거치고, 탈수시키기 위해서 원심분리시킨다. 組織片을 0.1M phosphate buffer-sucrose 용액으로 20분 동안 수세시키고, 30%, 50%, 70%, 90%, 100%, 100%의 ethanol 용액으로 계속해서 15분 간격으로 탈수시키며, amyl acetate 용액 (amyl acetate:EtOH=1:3), amyl acetate 용액 (amyl acetate:EtOH=3:1), 최종적으로 100% amyl acetate 용액으로 2회 정도 15분 동안 계속해서 침지시킨다. 관찰하기 전에 gold-palladium으로 코팅시킨 다음, 주사전자현미경 (Hitachi, Japan)을 이용하여 20kV의 전압으로 검경한다.

## 結果 및 考察

### 1. 미성숙시기인 9월과 성숙시기인 12월의 腦下垂體의 微細構造

Fig. 1에 나타난 바와 같이 toluidine blue로 염색한 후 전자현미경으로 살펴보면 10월경의 뇌하수체는 진한 상태로 염색되었고, 불규칙한 덩어리형태의 globular cells의 수가 증가하였으며, 반면에 vesicular cells의 수는 상대적으로 감소하는 추세를 나타내었다. 이러한 결과는 미성숙 단계인 1월과 2월에 미꾸리의 뇌하수체가 toluidine blue로 염색한 경우 호리게 염색되었고, vesicular cells이 상대적으로 많이 존재한다는尹 등 (1993)의 연구 결과와 비교해 볼 때 어종의 차이가 있을 뿐 미성숙 시기의 뇌하수체의 조직상의 형태는 유사한

경향을 보였다. 정자완성기에 혈장내 GTH 수준의 증가와 함께 뇌하수체내의 globular cell의 수가 급격하게 증가하기 때문에 이 세포를 GTH의 분비 부위로 생각되며, 정소 발달 이후에 vesicular cell의 수가 상대적으로 증가한다는 Ueda와 Hirashima (1979)의 결과와 비교해 볼 때 대체로 일치하는 것으로 나타났다. 또한 본 연구에서 얻어낸 결과는 무지개 송어 숫컷 뇌하수체에 있는 GTH 세포는 9월경에 globular stage에 있게 되며 RNA 방법에 의해서 측정된 혈장내 호르몬 농도와 이 세포의 밀도를 비교해 본 결과 유의성이 높게 나타났다는 Peute 등(1978)의 결과와 유사하게 나타났다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 번식계절 직전인 10월, 11월, 12월경에 뇌하수체의 微細構造는 팽창된 cisternae를 지닌 내형질세망(RER or GER)과 granules, globules, 커다란 불규칙한 형태의 성선자극 호르몬이 포함된 분비과립들이 존재하는 것을 특징으로 한다. 특히 불규칙한 형태의 내용물(IM)의 수가 10월경의 뇌하수체에는 다량 존재하게 되고, 그 크기도 비대해져서 세포질의 대부분을 차지하게 되었다. 미성숙기에는 이러한 형태의 분비과립이 존재하지 않는다. 따라서 이러한 물질에는 성선자극호르몬이 존재하는 분비과립으로 생각된다. 또한 이러한 변화는 아프리카산 메기 (*Clarias gariepinus*) 뇌하수체에 불규칙하고 커다란 형태의 분비과립이 번식계절에 가장 높은 수준으로 존재한다는 Van Oordt 등(1987)의 결과와도 유사하다. 또한 이러한 변화는 윤 등(1993)이 보고한 한국산 미꾸리의 뇌하수체의 미세구조가 번식계절인 4-5월경에 granules, globules, 특히 불규칙한 형태의 내용물(IM)의 수가 증가하게 되고, 그 크기도 비대해져서 세포질의 대부분을 차지하게 된다는 결과와 비교해 볼 때 거의 일치하는 것으로 사료된다. 그리고 Kim (1991)이 무지개 송어 혈청내 성선자극호르몬의 수준이 번식시기 직전에 높게 나타났다는 결과와 뇌하수체의 조직학적 특징을 상호 비교해 볼 때 일치되는 결과를 나타내었다. 즉 번식시기 직전에 성선자극호르몬의 급증(surge)은 精母細胞形成 및 精子完成을 이루는 데 필요한 것으로 思料된다.

### 2. 精母細胞의 各 발달단계별 특징

#### 1) 精巢組織의 變化

Fig. 3은 광학현미경하에서 11월에 무지개 송어의 정소를 관찰한 사진으로서 주로 정자세포와 성숙된 精子로

충만되어 있으며, Fig. 4의 정소도 성숙된 卵子の 수가 상당히 많은 것으로 보아 9월경에도 受精이 가능하다. Fig. 5, 6, 7, 8, 9, 11은 超薄切器(ultramicrotome)로 자른 다음 電子顯微鏡에서 여러 배율로 관찰한 것으로서 무지개 송어의 각 단계의 精子形成 단계를 나타내며, 이에 따른 현미경적 관찰에 의한 세포학적 특징은 다음과 같다.

**Spermatogonia**—精祖細胞로서 미성숙 계절인 3월부터 8월까지 많이 존재하고, Fig. 5-A와 B에 나타난 바와 같이 長徑폭이 약  $11\mu\text{m}$ 로 염색정도가 약간 흐린 상태를 나타내었다. 전자밀도가 높은 이형염색질이 골고루 분산된 핵은 그 크기가 약  $6.8\mu\text{m}$ 로 커다란 형태를 가지고 있다. 이 정원세포 주변에는 세르톨리 세포가 존재하고 있다. 이러한 결과는 숫말의 정조세포가 세르톨리 세포 주변에 인접해 있다는 Johnson(1991)의 결과와 비교해 볼 때 일치하였다. 그리고 핵주변부에는 많은 수의 내형질세망이 존재하여 세포활동이 왕성한 것으로 관찰되었다. 이것은 Amor와 Durfort(1990)이 *Murex brandaris* 정원세포의 세포질에 잘 발달된 내형질세망이 존재한다는 결과와 일치하였다.

**Primary spermatocytes**—제 1차 精母細胞로서 4월에 가까울수록 많이 존재하며, Fig. 6-A와 B에 나타난 바와 같이 핵의 크기는 약  $4.5\text{-}5.7\mu\text{m}$ 로서 정조세포보다 상대적으로 염색정도가 약간 진한 상태가 되었다.尹 등(1993)이 보고한 이 단계의 미꾸리 정모세포와 달리 핵은 일정한 형태를 유지하며 정원세포와 마찬가지로 이형염색질(heterochromatin)이 골고루 분산된 형태를 가지고 있다.

**Secondary spermatocytes**—제 2차 精母細胞로서 Fig. 7-A와 B에 나타난 바와 같이 그 크기는 長徑이 약  $3.5\text{-}4.3\mu\text{m}$ 로서 염색정도가 약간 진한 상태가 되었다. 핵은 타원형의 일정한 형태를 가지면서  $2.7\text{-}2.8\mu\text{m}$ 의 크기를 가지고 있다. 이형염색질은 시간이 흐를수록 크고 긴 타원형을 나타내면서 점점 진한 상태를 나타내었다. Table 1에 나타난 바와 같이 시간이 흘러 성숙에 접근할수록 정자 세포질의 전체적인 면적이 줄어들고 정자핵이 상대적으로 증가하게 되며 이 시기에는 그 비율이 41.11%에 이른다. 이 수치는尹 등(1993)이 보고한 한국산 미꾸리의 비율보다 약간 높게 나타났다.

**Spermatids**—精子細胞로서 4월말부터 5월에 접어들수록 점차적으로 증가하는 추세를 나타내었고, Fig.

8-A와 B에 나타난 바와 같이 頭部의 크기는 약  $2.4\mu\text{m}$ 로서 염색정도는 진한 상태를 나타내었다. 이형염색질(HC)로 구성되어 있던 핵이 진하고 균일한 형태의 염색 상태를 나타내었다. 미토콘드리아(화살표)가 포함된 세포질의 일부가 미부를 형성하기 위해서 한쪽으로 쏠리는 형태적인 변화가 일어난다. Bernardini 등(1990)은 아프리카산 두꺼비(*Xenopus laevis*)의 정자완성과정에서 세르톨리 세포에 있는 actin과 microtubules가 정자세포로부터 성숙된 정자로 변형되는 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 시간이 흘러갈수록 정자 세포질의 전체적인 면적이 줄어들고 정자핵이 상대적으로 증가하게 되어 이 단계에서는 그 비율이 79.71%에 이른다.

**Table 1.** Morphometric data for different stages of spermatogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) based on light, transmission and scanning electron microscopy.

Developmental stages	Head Volume ( $\mu\text{m}^3$ )	Nucleus Volume ( $\mu\text{m}^3$ )	Ratio (%)	Heterochromatin Type
Spermatogonia	5,741.3	445.67	7.76	Sparse
Primary	1,225.7	286.44	23.37	Sparse
Spermatocytes				
Secondary	418.24	171.92	41.11	Little
Spermatocytes				Sparse
Spermatids	74.44	59.34	79.71	Dense
Spermatozoa	41.03	39.33	95.85	Dense

Ratio (%): Nucleus volume/Head volume  $\times 100$

**Spermatozoa**—성숙된 精子로서 12월에 상당히 증가하여 精巢의 대부분을 차지하며 Table 2에 나타난 바와 같이 1월에는 정소의 비율인 GSI(gonadosomatic index)가 4.86%이며, 그 두부의 長軸은 精子細胞보다 약간 작은 약  $2.2\mu\text{m}$  정도를 차지한다. Table 1에 나타난 바와 같이 핵의 크기는 약  $1.9\mu\text{m}$ 로서 두부의 전체 부피의 약 95% 이상을 차지하며 Fig. 9-A와 B에 나타난 바와 같이 진하면서도 균일한 염색 상태를 보여준다. 정자의 중편부에 해당되는 위치에 미토콘드리아가 일부 존재한다. 타원형의 두부를 가진 정자핵에는 중앙부를 장축으로 해서 후방으로부터 전방쪽으로 향하여 세포질의 일부에 함몰되어 있다. 그 앞부분에 편모의 기부가

위치해 있다. Fig. 9-B, 11-A와 B에서와 같이 중편부는 두부후방의 돌출부로서 2개의 미토콘드리아초(MT)가 보였지만 몇개의 미토콘드리아가 있는지를 확인할 수는 없었다. 그러나 Molinia와 Swan(1991)은 rock oyster (*Saccostrea commercialis*) 미부에 있는 미토콘드리아의 수가 4개라고 보고하였다. Olson과 Winfrey(1992)은 햄스터의 정자미부에 있는 중편부는 아주 두꺼운 미토콘드리아와 섬유질 성분이 복합 형태로 구성되어 있다고 보고하였다. 그러나 Fig. 11-B에 나타난 바와 같이 정자의 중편부를 살펴보면 포유동물처럼 두꺼운 미토콘드리아초에 의해서 둘러싸여 있는 상태가 아니라 얇은 미토콘드리아초로 싸여 있다. 따라서 어류의 정자가 물속으로 방출되면 수분 이상을 생존하지 못하기 때문에 가능한한 빠른 시간내에 수정이 이루어져야 하는 것으로 사료된다.

그러나 Fig. 4에 나타난 바와 같이 미성숙 시기(9월)에 있는 무지개 송어 精巢의 경우 하나의 lobule 안에서 서로 다른 2단계의 정모세포가 존재한다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 성성숙에 가까울수록(11월) 단계적으로 정모세포의 비율에 차이가 나서 완전한 성숙시기인 12월말, 1월, 2월에는 Fig. 9-A와 B에서처럼 성숙된 精子만이 精巢에 존재한다. 이러한 변화는 완전한 성숙단계에 도달된 온수성 어종인 미꾸리 精巢에서 비율의 차이는 있지만 5단계의 모든 精子細胞가 존재한다는 尹等(1993)의 결과와 비교해 볼 때 차이가 있다. 이것은 온수성 어종과 냉수성어종간에 성성숙과정이 초기에는 비슷하게 정자형성이 이루어지다가 말기에는 정자형성과정이 다르게 나타난다는 것을 알 수 있다. 냉수성어종은 미꾸리와 같은 온수성어종과 달리 번식계절이 상대적으로 그 시기가 짧다는 것을 알 수 있다. Table 2에 나타난 바

와 같이 정액의 빛깔은 진한 우유빛 색이며 그 농도는 ml당 약 10-15억 마리가 되며 정액의 삼투압은 246-323 mOsmol로 나타났다.

2) 精子의 形態 變化

Fig. 9-B는 무지개 송어의 정자로서 무지개 송어의 두부 형태가 타원형을 나타내고 있다. 이는 尹 등(1993)이 보고한 온수성 어종인 미꾸리의 두부가 거의 구형인 형태와 비교해 볼 때 확실한 차이를 나타내었다. 이러한 형태는 냉수성 어종인 열목어, 산천어 및 다른 연어과의 두부 형태가 타원형이라 보고한 Guraya(1986)의 결과와 일치한다. 또한 성숙된 무지개 송어는 頭部의 길이가 1.8-2.2 $\mu$ m이고, 全長의 길이가 약 18-21 $\mu$ m를 나타내었다. Fig. 9-B에서 보는 바와 같이 무지개 송어는 尹 등(1993)이 보고한 미꾸리 정자와 마찬가지로 그 형태가 頭部, 頸部, 中片部 및 헤엄치는 데 필요한 尾部(鞭毛)로 구성되어 있고, 두부에는 정자핵이 진하게 농축되어져 있다는 것을 알 수 있다. Fig. 10-A와 B, 11-A와 B에서 보는 바와 같이 중앙부를 장축으로 해서 후방으로부터 전방쪽으로 향하여 세포질이 함몰된 함몰부(화살표)가 있으며, 전단에 편모의 기부가 위치해 있다. 이러한 형태는 2개 근위소체의 거리가 멀어지고, 편모의 2개인 중앙섬유소가 원위소체의 기저부안으로 삽입된 형태로 되어 있다는 잉어 정자의 구조에 대해서 연구한 Saad 등(1988)의 결과와 비교해 볼 때 유사한 특징을 나타내었다.

Fig. 12-A와 B에서와 같이 신선한 무지개 송어 精子의 중편부는 두부후방의 돌출부로서 일반적으로 2本の 중앙섬유소, 9本の 외측조대섬유로 구성되어 있다. 尾部는 2개의 중심체와 1개의 편모의 기저소체로 되어 있고, 頭部의 함몰부 또는 후단보다 중편을 관통해서 외측에 연결되어 있다. 중앙부를 편모의 근위부가 통하여 있으며, 운동모로서의 기본구조로 되어 있는 軸絲는 1개의 중심소관에 대하여 9개의 주변소관으로 되어 있다. 무지개 송어의 편모 근위부는 약간 크고, 미부 형질막과 주변소관 사이는 1층의 활면소포체가 망상에 배열되어 있으며, Fig. 12-B에서와 같이 이 소포체막은 여기저기에 외부로 통해 있다. 무지개 송어의 편모 원위부의 끝부분은 가늘게 되어 있다. 2本の 중앙섬유소와 이것의 주변을 放射狀으로 둘러싸고 있는 9本の 外側粗大纖維를 볼 수 있는 데, 인간과 가축의 정자에서 볼 수 있는 尾部를 둘러싸고 있으면서 에너지를 생성하는 탄력있는 미토콘

Table 2. Summary of properties of testis, milt and spermatozoa of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

TESTIS			MILT		SPERM	
GSI (%)	APPEARANCE	SHAPE	DENSITY (sperms ml <sup>-1</sup> )	OSMOLARITY (mOsmol kg <sup>-1</sup> )	LENGTH OF HEAD ( $\mu$ m)	MOTILITY
4.86	Milky white	Long tubular	10-15 $\times$ 10 <sup>8</sup>	246-323	1.8-2.2	75%

드리아초가 존재하지 않는 것으로 나타났다. 이것이 인간이나 일반 가축의 精子와 가장 큰 차이를 나타내는 것으로서 이 미토콘드리아초가 미부 및 頭部 부위에 근접해서도 존재하지 않는 까닭으로 말미암아 포유동물의 정자에 비해서 무지개 송어의 정자가 물속에서 오래 생존하지 못하는 것으로 사료된다. 그러나 미꾸리나 메기 및 잉어의 정자는 이러한 미토콘드리아초가 미부에는 존재하지 않으나 頭部 부위에 근접해서 존재하기 때문에 무지개 송어나 산천어에 비해서 물속에서 더 오래동안 생존하는 것으로 사료된다. 따라서 냉동정자를 신선한 난자와 수정시켰을 때 朴과 尹(1992)이 수행한 무지개 송어보다 미꾸리, 메기, 잉어에서 더 높은 수정 및 부화성적이 기대되며, 앞으로 이에 대한 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

尹 등(1993)이 미꾸리의 정자에 대해서 형태학적으로 다른 점은 尖體(acrosome)를 가지고 있지 않다는 것이다. 그 이유로는 Fig. 13-A, B, C에서 보는 바와 같이 무지개 송어의 난자표면에는 정자가 들어가는 구멍인 卵門(micropyle)이 존재하기 때문에 굳이 침체반응이 필요하지 않기 때문인 것으로 사료된다. 투과 및 주사형 전자현미경에 의해서 무지개 松魚의 受精時, 精子의 微細構造의 特徵과 수정시의 역할 등을 밝혀낼 수 있을 것이다.

### 參 考 文 獻

- Amor, M.J. and M. Durfort, 1990. Atypical spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Molecular Reproduction and Development* 25, 357-363.
- Bernardini, G., P. Podini, P., R. Maci and M. Camatini, 1990. Spermiogenesis in *Xenopus laevis*: From late spermatids to spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development* 26, 347-355.
- Clérot, J.-C., 1976. Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. *J. Ultrastructure Res.* 54, 461-475.
- Courtens, J.L., M. Biggiogera, N.F. Rothfield, M. Burnier and S. Fakan, 1992. Migration of centromere proteins in rabbit spermatids. *Molecular Reproduction and Development* 32, 369-377.
- Davis, T.L.O., 1977. Reproductive biology of the freshwater catfish, *Tandanus tandanus* Mitchell, in the Gwydir river, Australia I. Structure of the gonads. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 139-158.
- Drance, M.G., M.J. Hollenberg, M. Smith and V. Wylie, 1976. Histological changes in trout testis produced by injections of salmon pituitary gonadotropin. *Can. J. Zool.* 54, 1285-1293.
- Guraya, S.S., 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis, Karger, pp. 141-147.
- Johnson, L., 1991. Seasonal differences in equine spermatocytogenesis. *Biol. Reprod.* 44, 284-291.
- Kessel-Shih, 1976. Scanning electron microscopy in biology (A students' atlas on biological organization). pp. 334-335.
- Kim, G.Y., 1991. Studies on serum hormone, serum components levels, genotype frequency and histological changes in reproductive cycles of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Dissertation of doctoral degree. Kon-Kuk Univ. Seoul.
- Lee, Jae-Hyun, Jong-Man Yoon and Hong-Yang Park, 1989. Histological changes of oocytes development and hormone levels in the Israeli carp (*Cyprinus carpio*) from February to May. *Journal of Aquaculture*, 2(1): 21-31.
- Lee, J.H., B.J. Choi and S.W. Son, 1992. Spermiogenesis in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J. Electron Microscopy* 22(2), 97-117.
- Leung, L.K.-P., 1988. Ultrastructure of the spermatozoon of *Lepidogalaxias salamandroides* and its phylogenetic significance. *Gamete Research* 19, 41-49.
- López, A., M.L. and W. de Souza, 1991. Distribution of filipin-sterol complexes in the plasma membrane of stallion spermatozoa during the epididymal maturation process. *Molecular Reproduction and Development* 28, 158-168.
- Molinia, F.C. and M.S. Swan, 1991. Effect of ethanol and methanol on the motility of *Saccostrea commercialis* sperm and sperm models. *Molecular Reproduction and Development* 30, 241-249.

- Olson, G.E. and V.P. Winfrey, 1992. Structural organization of surface domain of sperm mitochondria. *Molecular Reproduction and Development* 33, 89-98.
- Park, H-Y and J-M Yoon, 1992. Studies on genetics and breeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) VII. Fertilization of fresh egg with cryo-preserved sperm and ultrastructural changes. *Bull. Korean Fisheries Society* 25(2), 79-92.
- Peute, J., H.J.T. Goos, M.G.A. De Bruyn and P.G.W. J. Van Oordt, 1978. Gonadotropic cell of the rainbow trout pituitary during the annual cycle. Ultrastructure and hormone content. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18(4), 905-910.
- Rejon, E., C. Bajon, A. Blaize and D. Robert, 1988. RNA in the nucleus of a motile plant spermatozoid: Characterization by enzyme-gold cytochemistry and in situ hybridization. *Molecular Reproduction and Development* 1, 49-56.
- Resink, J.W., W.G.E.J. Schoonen, R. Van Den Hurk, W.J.A.R. Viveen and J.G.D. Lambert, 1987. Seasonal changes in steroid metabolism in the male reproductive organ-system of the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 63, 59-76.
- Saad, A., R. Billard, M.C. Theron and M.G. Hollebecq, 1988. Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Aquaculture* 71, 133-150.
- Ueda, H. and T. Hirashima, 1979. On two different types of putative gonadotrophs in the pituitary gland of the masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Annot. Zool. Jap.* 52(2), 114-124.
- Van Oordt, P.G.W.J., J. Peute, R. Van Den Hurk and J.A.R. Viveen, 1987. Annual correlative changes in gonads and pituitary gonadotrophs of feral African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 63, 27-41.
- 고선근, 김정우, 권혁방, 1993. 북방산 개구리의 정자 형성주기에 관한 연구. *한국동물학회지* 36(4), 580-587.
- 이정훈, 손성원, 毛利孝之, 白石 哲, 1993. 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*)의 응성생식 pattern에 관한 연구—1. 세정관상피의 주기 및 정소의 조직변화 —, *한국동물학회지* 36(1), 36-50.
- 尹鍾萬, 金炳喆, 朴弘陽, 1991. 韓國產 미꾸리에 관한 育種 繁殖學의 研究—II. 未成熟과 成熟 段階에서의 韓國產 미꾸리의 組織學的 變化. *한국축산학회지* 33(8), 552-561.
- 尹鍾萬, 金桂雄, 盧淳昌, 朴弘陽, 1993. 한국산 미꾸리에 관한 육종 번식학적 연구—V. 미꾸리의 수컷의 뇌하수체와 정소의 미세구조. *동물자원연구지* 제18집, 11-22.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Electron micrograph of the gonadotrophs (GTH) in mature times, October. Details of gonadotropic cells (GTH) showing a large number of secretory vesicles (SV), small and large granules. RER: round endoplasmic reticulum, SG: secretory granules.  $\times 18,000$
- Fig. 2.** Higher magnification of gonadotropic cells (GTH) in Fig. 1. Note Golgi apparatus and round endoplasmic reticulum (RER) showing a few of secretory vesicles (SV), massive secretory granules (SG), large granules (GL), and irregular masses. IM: irregular masses, SER: spherical endoplasmic reticulum.  $\times 23,000$
- Fig. 3.** Light micrograph of mature testis in male rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* in November. Testis lobules containing a number of spermatids and spermatozoa.  $\times 125$
- Fig. 4.** Portion of a developing lobule showing early stages (in September) of spermatogenesis. The lobule is packed with primary germ cells, some of primary and secondary spermatocytes, spermatids, and spermatozoa. Note some of lobules are already packed with spermatozoa. PSC: primary spermatocytes, SSC: secondary sper-

matocytes, ST: spermatid, SZ: spermatozoa.  $\times 2,300$

- Figs. 5-A, B.** Spermatogonia. These cells are the primary germ cells, having a mean nuclear diameter of  $6.8\mu\text{m}$ . The prominent nucleus contains sparse chromatin material and lacks a distinct nucleolus. The electron micrograph shows that  $5\text{nm}$  gold particles are distributed around the germ cells just under the Sertoli cell plasma membrane. Note that spermatogenesis is less advanced. HC: heterochromatin, N: nucleus, NU: nucleolus, SG: spermatogonia, STC: Sertoli cell, A:  $\times 4,600$ , B:  $\times 18,000$
- Figs. 6-A, B.** Primary spermatocytes. These cells are formed by mitotic division. Their nuclei are small (mean diameter,  $5.1\mu\text{m}$ ) and contain dense chromatin material and lack a distinct nucleolus. N: nucleus, PSC: primary spermatocytes. A:  $\times 4,600$ , B:  $\times 23,000$
- Figs. 7-A, B.** Secondary spermatocytes. These cells are formed by meiotic division of primary spermatocytes. The chromatin in the nucleus of these cells is very dense and the nuclei are small (mean diameter,  $2.7\mu\text{m}$ ). No cytoplasm can be seen around the nuclei of these cells. Portion of a larger lobule showing spermatogonia with prominent nucleoli attached to the lobule wall. SSC: secondary spermatocytes. A:  $\times 5,800$ , B:  $\times 23,000$
- Figs. 8-A, B.** Spermatids. Secondary spermatocytes divide mitotically to form spermatids which have no distinguishable cytoplasm. The cytoplasm leans to one side. The nuclei are very small (mean diameter,  $2.4\mu\text{m}$ ) and contain dense chromatin. The nest membrane is no longer apparent although these cells remain in dense clusters after detachment from the lobule wall. ST: spermatid, A:  $\times 6,900$ , B:  $\times 34,500$
- Figs. 9-A, B.** Longitudinal section of a motile spermatozoon (SZ). The chromatin is highly condensed. Note each head and flagellum of spermatozoa. Transverse section of rainbow trout sperm midpiece. The central outer dense fiber, axoneme is surrounded by the thin mitochondrial sheath in the midpiece. CP: central piece, FG: flazellum, MP: middle piece, NM: nuclear membrane, SZ: spermatozoa. A:  $\times 6,900$ , B:  $\times 46,000$
- Figs. 10-A, B.** Scanning electron micrographs of spermatozoa. Note most of lobules are already packed with spermatozoa. Their spheroid-shaped heads have a mean width of  $1.4\mu\text{m}$ . The sperm often retains its organization into parachute-shaped clumps due to adhesion of the sperm tails and reduced spermatogenetic activity in the lobule walls. A:  $\times 4,000$ , B:  $\times 6,000$
- Figs. 11-A, B.** Longitudinal section through the sperm head and middle-piece. No acrosome can be seen around the nuclei (SN) of these cells. Two of the four mitochondrial bodies (MT) are seen in the middle-piece. The two centrioles are quite separate and the central doublet of the flagellum is inserted into the base of the distal centriole. FG: flazellum, MT: mitochondria, SN: sperm nucleus. A:  $\times 34,500$ , B:  $\times 184,000$
- Figs. 12-A, B.** Longitudinal and transverse section through the flagellar axoneme. The 9 peripheral doublet tubules (DT) are related to the central pair and sheath complex (CC) via radial spoke attachments (RS). The axoneme on the left is viewed from base to tip as the dynein arms (closed arrow) point in a clockwise direction. CC: central pair and sheath complex, DT: doublet tubules, FG: flazellum, RS: radial spoke. A:  $\times 276,000$ , B:  $\times 184,000$
- Figs. 13-A, B, C.** A micropylar apparatus (arrow in -A and -B) and the egg surface beneath the inner opening (C) of the micropyle of an unfertilized egg. MC: micropylar canal









