

한국산 잉어과어류 갈납자루 (*Acheilognathus koreensis*) 정자의 미세구조

김 구 환 · 김 정 기^{1,*} · 황 기 주²

대구보건대학 방사선과, ¹대구보건대학 작업치료과,
²한국기초과학지원연구원 대구센터

Ultrastructure of Spermatozoa of a Korean Bitterling, *Acheilognathus koreensis* (Pisces, Cyprinidae)

Kgu-Hwan Kim, Jeong-Ki Kim^{1,*} and Ki-Ju Hwang²

Department of Radiologic Technology, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

¹Department of Occupational therapy, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

²Daegu Center, Korea Basic Science Institute, Daegu 702-701, Korea

The bitterling, *Acheilognathus koreensis* spermatozoon has been examined by electron microscopy. The epididymal spermatozoa of *A. koreensis* are representing typical characteristic of cyprinid spermatozoa including the lateral insertion of flagellum, the organization of centriolar complex in shallow nuclear fossa and the asymmetrical arrangement of mitochondria. The sperm mid-piece contains a large mitochondrion characteristic enclosed by membranous vesicles. The mitochondria aspect is different from that of other cyprinid spermatozoa, which their mitochondria have a conventional aspect and never fuse to form a mitochondrial derivative. In term of sperm evolution, the fused mitochondria are regarded as the apomorphic character in comparison with the separate mitochondria. The single mitochondrion is not found in cyprinid spermatozoon except for *Rodeus* and *Pungtungia*.

Key words : spermatozoa, ultrastructure, cyprinidae, *Acheilognathus koreensis*

서 론

갈납자루 (*Acheilognathus koreensis*) 정자의 생식 형태는 척추동물 중에서 특이하다. 압축된 긴 관을 통하여 자신의 난자를 담수 이매패류의 아가미에 산란하며, 정자는 산란이후에 이매패류의 입수공에 사정한다. 수정은 이매패류 안에서 이루어지고 초기발생 또한 그곳에서

이루어진다.

정자의 구조는 생식생물학적인 여건(특성)뿐만 아니라 동물의 분류학적 위치에 따른다(Afzelius, 1972). 어류 정자의 구조적 특징은 많은 분류군에서 다양한 형태로 나타나고 있다(Jamieson, 1991). 이와 같은 관점에서 갈납자루 정자의 미세구조는 매우 흥미롭다. 갈납자루는 잉어과(김, 1997)에 속하며 잉어과 어류 정자의 미세구조에 관한 연구는 *Acanthopthalmus semicinctus* (Jamieson, 1991), *Cobitis striata* (김과 박, 1996), 한국산 미꾸리과 6속 12종(박과 김, 1996), *Carassius auratus*

*Corresponding author: jkkim@mail.thc.ac.kr

(Guan, 1990), *Cyprinus carpio* (Morisawa, 1979), *Rhodnius sericeus sinensis* (Guan and Afzelius, 1991), *Pungtungia herzi* (Lee and Kim, 1998b), *Squalidus gracilis majimae* (Lee and Kim, 1998a), *Squalidus chankaensis tsuchigae* (Kim et al., 1998), *Zacco temmincki* (Kim et al., 2006), *Z. koreanus* (김, 2006) 등에서 많은 연구가 있었으나 단편적으로만 밝혀져 있는 실정이다. 이들 잉어류 정자의 구조는 모두 원시형질의 특징 (primitive character) 을 가지고 있었다. 즉, 두부는 구형으로 되어있고 중편은 짧으며 긴 편모로 구성된 구조이다 (Baccetti et al., 1984). 이와 같이 비교적 단순한 구조를 하고 있으나 핵외의 형태와 중심립의 각도, 미토콘드리아의 수와 분포, 중편부와 편모의 형태에서 종간의 구조적 특징을 나타내고 있다. 따라서 정자구조의 특이성은 종을 구분하고 계통관계를 규명하는데 유용한 자료로 활용할 수 있다 (Mattei, 1991). 그러나 어류는 종의 수가 매우 방대하여 일부 분류군에서만 정자의 미세구조가 밝혀져 있는 형편이다.

한편 국내의 담수어류의 정자구조에 관한 연구는 일부 있으나 납자루류에 관한 연구는 진행되지 않은 실정이다. 따라서 본 연구는 한국산 칼납자루 정자의 미세구조를 밝히고 인접분류군과 비교하고자 한다.

재료 및 방법

연구에 사용된 재료는 수컷 칼납자루 *Acheilognathus koreensis*로서 2005년 4월~8월 경상북도 군위군 일대에서 포획한 후 살아있는 상태로 실험실로 운반하여 해부 후 정소를 추출하였다. 적출된 정소조직은 즉시 4°C, 2.5% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde (4°C, phosphate buffer, pH 7.2) 용액에서 2~3시간 전고정하고 고정된 정소조직을 동일한 완충용액 (4°C, phosphate buffer, pH 7.2)으로 10분간 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO₄)에서 후고정 하였으며 고정된 재료는 다시 동일한 완충용액으로 3회 세척한 후, ethanol 농도 상승순(50→100%)으로 탈수하고, propylene oxide로 치환하여 Epon812 혼합액에 포매한 다음 35°C, 45°C 및 60°C 순으로 vacuum dry oven에서 중합반응 하였다. 포매된 재료는 ultramicrotome (MTXL)으로 초박절편을 만들어 copper grid에 부착한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경 (Hitachi, H-7100)으로 관찰하였다.

결 과

칼납자루 *Acheilognathus koreensis* 정자는 구형의 두

부에 짧은 중편과 긴 미부로 구성된 매우 단순한 구조를 하고 있었다. 정자의 두부는 구형으로 직경이 약 1.9 µm이었다. 핵은 침체가 없고 핵의 기저에는 핵외가 얇게 함입되어 있었다. 핵외에는 중심립이 위치해 있으며 말단부 중심립에서 하나의 편모가 돌출되어 미부를 형성하고 있었다 (Fig. 1a). 미부는 핵에 비스듬하게 접해 있으며 cytoplasmic canal에 의하여 세포질과는 분리되어 있었다 (Fig. 1a). 핵은 구형으로 염색질이 매우 잘 농축되어 있으며 핵막과 원형질막사이는 상호 밀접하게 붙어 있었다 (Fig. 1b). 핵의 측면으로 핵막이 얇게 함입되어 형성된 핵외가 있는데 그 주변으로는 두 중심립이 위치해 있으며, 기부중심립은 핵외안에 위치해 있으나 말단부 중심립은 일부만 핵외 안으로 포함되어 있었다 (Fig. 1c, d). 핵외 아래로는 중편세포질이 위치해 있는데 세포질이 한쪽면으로만 치우쳐져 있었다 (Fig. 1c, d). 세포질은 직경이 약 2.27 µm이며, 길이는 약 2 µm로 편모를 둘러싸고 있으며 하나의 미토콘드리아가 한쪽으로 치우쳐져 분포해 있었다 (Fig. 1c, d). 핵외 주변의 중심립은 섬유성물질로 핵막과 연결되어 있고 (Fig. 1d). 두 중심립은 각도가 130°로 나타나며 (Fig. 1e) 그 아래쪽으로 세포질에는 미토콘드리아가 1개 위치해 있었다 (Fig. 1c). 미토콘드리아는 직경은 1.67 µm이고, 길이는 1.96 µm로 중편의 대부분을 차지하고 그 주변은 vesicles에 의해 완전히 둘러싸여 있었다 (Fig. 1f). 미토콘드리아를 둘러싸고 있는 vesicle들은 최대두께가 0.39 µm로 미토콘드리아를 완전히 둘러싸고 있었다 (Fig. 1f). 중편세포질의 대부분이 한편으로 위치해 있는 것과 마찬가지로 vesicle도 편모를 중심으로 한쪽면에서만 관찰되었다 (Fig. 1a, c, d, f). 편모는 전형적인 9+2구조로 vesicle과 axonemal fins은 없었다.

고 찰

칼납자루 *Acheilognathus koreensis* 정자의 구조는 잉어류 정자의 일반적인 구조 (Mattei, 1991)와 유사하여 침체가 없는 둥근 두부와 미토콘드리아를 포함하는 짧은 중편 그리고 두부와는 비스듬하게 위치한 긴편모로 구성되어 있었다 (Fig. 2). 경골어류의 정자는 대부분 침체가 없는데 알(egg)의 동물극에 있는 난문(micropyle)의 존재와 밀접한 관계가 있다 (Jamieson, 1991). Jamieson (1991)은 난문이 있는 경우에는 난문을 통해서 정자가 직접 들어가서 수정하기 때문에 침체가 필요 없다고 하였다. 보통 난문이 있는쪽을 동물극이라고 하고 그 반대쪽을 식물극이라고 한다. 난문을 통하여 정자가 들어

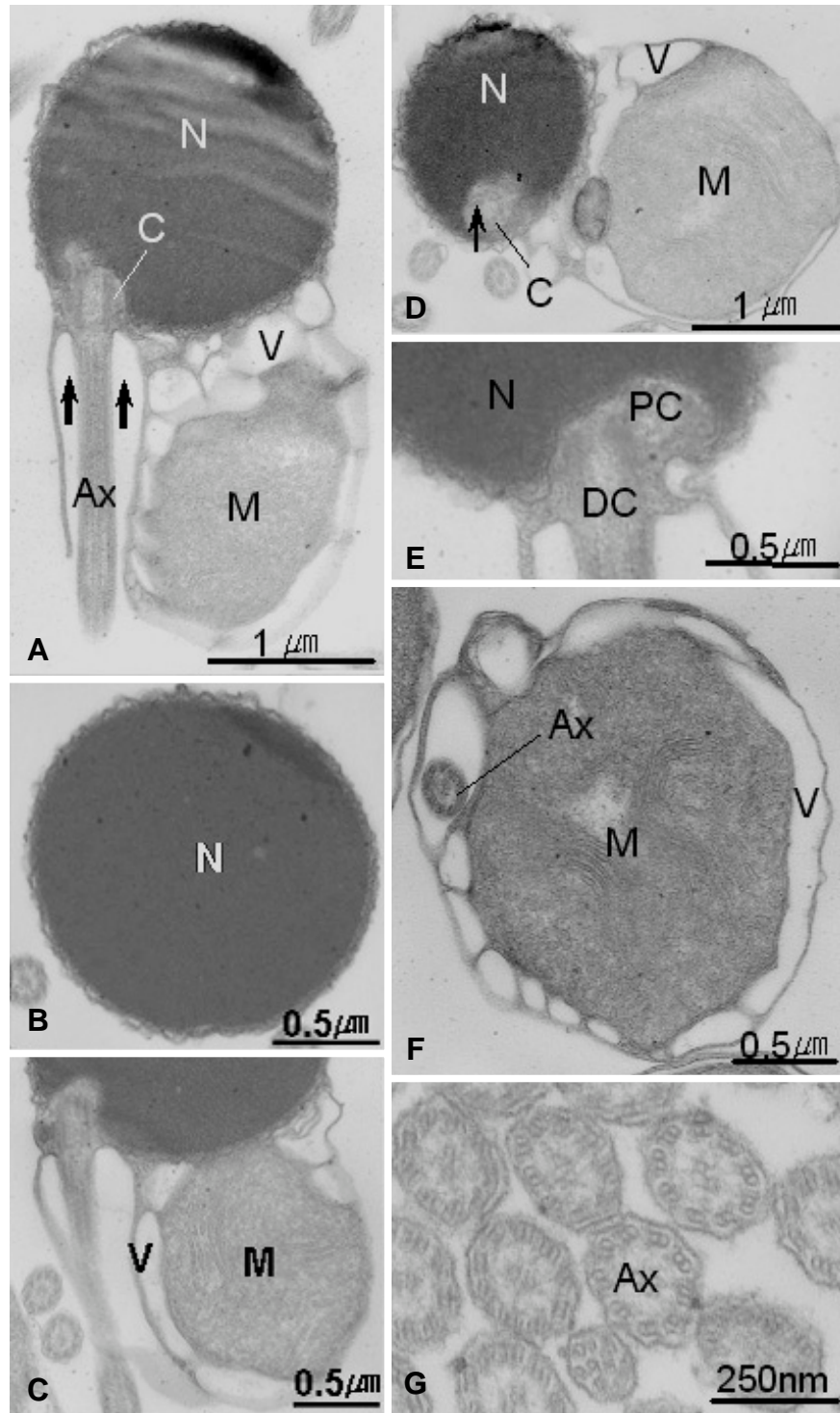


Fig. 1. Ultrastructure of spermatozoa in *Acheilognathus koreensis*. A. Longitudinal section of the spermatozoon showing the spherical nucleus, the mitochondrion and a tail. Arrows indicate the cytoplasmic canal. Note the flagellum projects from the distal centriole and is surrounded by a thin cytoplasmic sleeve in its portion. B. Cross section through the middle portion of the nucleus showing the well dense homogeneous chromatin material. C. Longitudinal section through the midpiece showing the centriole and the mitochondrion. D. Oblique section through the posterior region of nucleus showing the centriole and the mitochondrion. E. Longitudinal section of anterior portion of midpiece showing the two centriole. F. Cross section through the posterior portion of midpiece. There are spaced numerous vesicle outside the mitochondrion. G. Cross section of a flagella showing the 9+2 arrangement of microtubules surrounded by the plasma membrane.

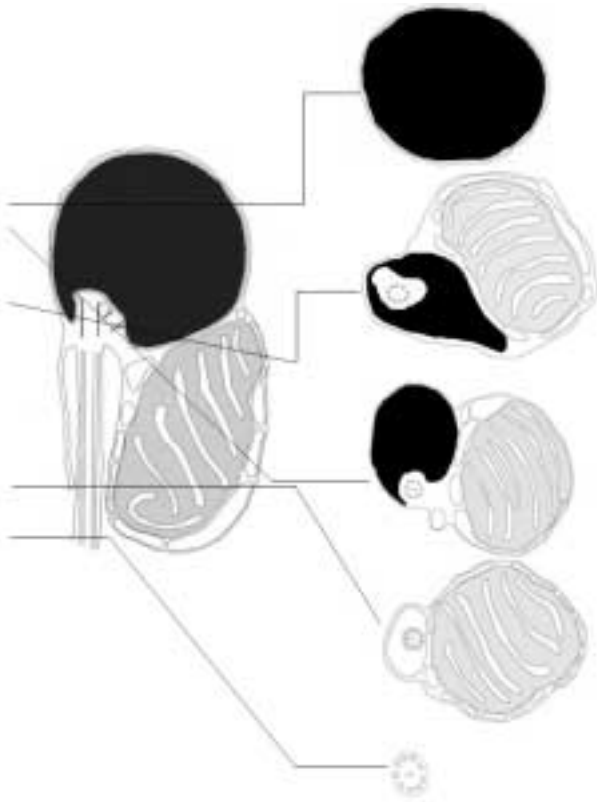


Fig. 2. Diagram of the spermatozoon and corresponding transverse section in *Acheilognathus korensis*.

와 정자머리 부분의 핵이 알 속의 핵과 융합되면 난문이 막히고 난황의 표층을 둘러싸고 있던 원형질이 동물극 쪽으로 이동한다. 칼납자루가 포함되어 있는 잉어목에서는 침체에 관한 보고가 없으며 다만, 박과 김 (1996)은 한국산 잉어목의 미꾸리과 *Nemacheilus toni*의 정자 발생 초기와 중기에 침체의 흔적인 *acrosome-like vesicle*이 관찰되었다가 발생 후기에는 소실되어 나타나지 않음을 관찰하였다. 잉어목을 포함한 현생 어류의 대부분을 차지하는 신조기하강(*Neopterygii*)에서 침체의 소실은 파생형질(*apomorphy*)인 반면에 다른 척추동물에서는 이러한 침체를 가지는 경우는 원시형질(*plesiomorphy*)이라고 보고되었다(Mattei, 1991).

칼납자루 정자의 얇은 핵외는 기부 중심립을 포함하고 있는 구조로 잉어목 어류의 정자에서 흔히 나타나는 구조이나(Baccetti *et al.*, 1984; Lee and Kim, 1998a, b), 메기목(*Siluriformes*)을 포함한 다른 분류군에서는 기부와 말단부 중심립을 포함하는 깊은 핵외(Emel'yanova and Makeyeva, 1991a, b; Gwo and Gwo, 1993; Gwo *et al.*, 1996)가 나타나고 있어 잉어목어류와는 현저한 차이를 보여주고 있었다.

기부 중심립과 말단부 중심립은 예각을 유지하고 있는데 어류 정자 중심립의 각도는 종에 따라 다양하게 나타나고 있다(Mattei, 1991). 경골어류 정자에 있어서는 직각을 나타내고 있는 *Silurus glanis* (Emel'yanova and Makeyeva, 1991a)와 둔각으로 배열하는 *Pungtungia herzi* (Lee and Kim, 1998b), *Squalidus chankaensis tshigae* (Kim *et al.*, 1998), *S. gracilis majimae* (Lee and Kim, 1998a), *Pseudobagrus fulvidraco* (Lee, 1998), *Silurus asotus* (Kwon *et al.*, 1998), *Leiocassis ussuriensis* (Kim and Lee, 2000), *S. microdoralis* (Lee and Kim, 2001) 그리고 평행하게 배열된 *Amiurus nebuloasus* (Emel'yanova and Makeyeva, 1991b), *Liobagrus medidiposalis* (Lee and Kim, 1999)로 구분할 수가 있다. 어류 정자에서 기부 중심립이 말단부 중심립에 대한 각도가 다양한 것이 직각인 것에 비해 파생형질(*apomorphy*)로 분석되고 있다(Jamieson, 1991).

1개로 융합된 칼납자루 정자의 미토콘드리아는 일반적인 잉어류를 포함한 체외수정형의 경골어류 정자구조에서 관찰되는 미토콘드리아의 수와 많은 차이점을 보이고 있다. 잉어류 정자의 미토콘드리아 수는 *Alburnus* 2개, *Leuciscus* 2~3개, *Chondrostoma* 3~4개, *Rutilus* 5~6개 (Baccetti *et al.*, 1984), *Squalidus* 7개 (Kim *et al.*, 1998), *Zacco* 12개 (김, 2006)에서와 같이 미토콘드리아의 수는 다양하게 나타나고 있었다. 잉어류 정자에서 미토콘드리아가 1개만 관찰되는 경우는 *Rodeus* (Ohta and Iwamatsu, 1983; Guan and Afzelius, 1991)와 *P. herzi* (Lee and Kim, 1998b)에서 나타나고 있다. 잉어목어류내에서 미토콘드리아가 1개로 융합되어 나타나는 종은 파생형질(*apomorphic character*)인 것으로 보고되어 있다(Kim *et al.*, 1998). 경골어류정자에서 미토콘드리아의 수와 분포는 다양하게 보고되어 있으며 (Mattei, 1991; Jamieson, 1991) 미토콘드리아의 수와 분포는 정자의 분류와 계통학적 관계를 파악하는데 좋은 형질로 알려져 있다(Baccetti *et al.*, 1984).

한편 칼납자루 중편에서 나타나는 vesicles 구조는 미토콘드리아를 완전히 둘러싸는 구조로, 이와 같이 vesicle이 미토콘드리아를 완전히 둘러싸는 구조는 잉어류에서는 *R. sericeus sinensis* (Guan and Afzelus, 1991)에서 보고되어 있으나, 대부분의 잉어류 정자에서 나타나는 vesicles은 세포질과 편모에 불규칙적으로 산재해 있었다. Vesicle 구조는 잉어과, Cyprinidae (Baccetti *et al.*, 1984; Kim *et al.*, 1998)에서는 중편과 미부, 메기과, Siluridae (Lee and Kim, 2001)에서는 중편, Citarinidae, Erythrinidae, Curimatidae (Quagio-Gassiotto *et al.*, 2003)에서는 중편과 미부에서 관찰되고 있었다. 따라서 현재까

지의 결과로 볼때 미토콘드리아를 완전히 둘러싸고 있는 vesicles 구조는 칼납자루와 *R. sericus sinensis*에서 관찰되는 구조이다.

한편 Cyprinidae 정자의 중편과 미부에서 지속적으로 관찰되고 있는 vesicle 구조와 Citarinidae, Erythriniidae, Curimatidae (Quagio-Gassiotto *et al.*, 2003)의 중편과 미부에서 vesicle 구조에 관한 지속적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

칼납자루 정자의 편모는 어류에서 일반적으로 나타나는 1개의 편모를 가지는 uniflagellate sperm이었고, 9쌍의 이중미세소관과 2개의 중심미세소관으로 구성된 전형적인 9+2 이중미세소관의 구조를 보여 주었는데 이것은 진골어류 정자의 일반적인 구조로 알려져 있다 (Mattei, 1988). 칼납자루 정자의 편모에서는 axonemal fins이 관찰되지 않았는데, 어류 정자의 편모의 axonemal fins은 종에 따라 다르게 관찰되는 구조물로 어류 정자의 계통을 구분에 중요한 형질이 활용되고 있다 (Mattei, 1991). 잉어류에서 axonemal fins이 나타나지 않는 것은 파생형질(apomorphy)인 것으로 알려져 있다 (Jamieson, 1991).

적 요

칼납자루 *Acheilognathus koreensis* 정자의 미세구조를 전자현미경으로 관찰하였다. 칼납자루 정자의 미세구조는 잉어과 어류정자의 일반적인 구조와 같이 둥근 두부, 얇은 핵외, 세포의 측면에 위치한 편모구조 그리고 비 대칭적인 편모구조의 특징을 취하고 있었다. 그러나 중편에 위치한 미토콘드리아는 대부분의 잉어류에서와 달리 융합되어 하나를 형성하고 있으며 그 주위를 막성 구조물들이 둘러싸고 있었다. 하나로 융합된 미토콘드리아를 가지는 정자의 구조는 여러개로 나타나는 것에 비하여 경골어류에서는 파생형질로 알려져 있다. 잉어류 정자에서 미토콘드리아가 융합되어 하나로 나타나는 구조는 *Rodeus*와 *Puntungia*에서 보고되어 있으며 그 주위를 막성구조물이 둘러싸고 있는 것은 납자루류에서만 보고되고 있다.

인 용 문 헌

김구환. 2006. 참갈겨니 (Teleostei, Cypriniformes, Cyprinidae) 정자변형과 정자의 미세구조. *한어지*, 18 : 347~354.
 김익수. 1997. 한국동식물도감 제37권 동물편 (담수어류), 교육

- 부, pp. 155~353.
 김익수 · 박종영. 1996. 한국산 줄종개 *Cobitis striata* (미꾸리과)의 정소 및 정자의 구조. *한어지*, 8 : 1~8.
 박종영 · 김익수. 1996. 한국산 미꾸리과 Cobitidae (잉어목) 어류의 정자 미세구조. *한어지*, 8 : 74~83.
 Afzelius, B.A. 1972. Sperm morphology and fertilization biology: in Beatty and Gluecksohn-Wawlsch the genetics of the spermatozoon. Edinburgh and New York. NY, pp. 131~143.
 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.*, 373~396.
 Emel'yanova, N.G. and A.P. Makeyeva. 1991a. Morphology of the gametes of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Vopr. Ichtiol.*, 31 : 143~148.
 Emel'yanova, N.G. and A.P. Makeyeva. 1991b. Ultrastructure of spermazoids of some representative catfishes. *Vopr. Ichtiol.*, 31 : 1014~1019.
 Guan, T.L. and B.A. Afzelius. 1991. The spermatozoon of the Chinese bitterling, *Rhodeus sericeus sinensis* (Cyprinidae, Teleostei). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23(3) : 351~356.
 Guan, T.L. 1990. Resional specificity within plasma membrane and nuclear membrane of goldfish sperm. *Acta. Biol. Sinica.*, 23 : 17~27.
 Gwo, J.C., H.H. Gwo, H.C. Wu and P.W. Lin. 1996. The ultrastructure of Formosan landlockes salmon, *Oncorhynchus masou formosanus*, spermatozoon (Teleostei, Salmoniformes, Salmonidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 28 : 33~40.
 Gwo, J.C. and H.H. Gwo. 1993. Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopagrus schegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Molecuar. Reprod. Develop.*, 36 : 75~83.
 Jamieson, B.G.M. 1991. Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. New York: Cambridge University Press. pp. 135~148.
 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*. *Korean J. Limnol.*, 31(3) : 159~164.
 Kim, K.H. and Y.H. Lee. 2000. The Ultrastructure of spermatozoa of the Ussurlan Bullhead, *Leiocassis ussuriensis* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae) with Phylogenetic Considerations. *Korean J. Limnol.*, 33(4) : 405~412.
 Kim, Y.J., C.Y. Choi and I.S. Park. 2006. Ultrastructure of dark chub *Zacco temminckii* (Cyprinidae) spermatozoa.

- J. Fish. Sci. Technol., 9(1) : 1~6.
- Kwon, A.S., K.H. Kim and Y.H. Lee. 1998. Ultrastructure of spermatozoa in the catfish, *Silurus asotus* (Teleostei, Siluriformes, Siluridae). Dev. Reprod., 2 : 75~80.
- Lee, Y.H. 1998. Ultrastructure of spermatozoa in the bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae). Korean J. Electron. Microscopy., 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 Slender Gudgeon *Squalidus gracilis majimae*. Korean J. Electron. Microscopy., 28(1) : 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. 1999. Ultrastructure of the south torrent catfish, *Liobagrus mediadiposalis* (Teleostei, Siluriformes, Amblycipitidae) spermatozoon. Korean J. Limnol., 32 : 271~280.
- 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, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. Can. J. Zool., 69 : 3038~3055.
- Mattei, X. 1988. The flagellar apparatus of spermatozoa in fish. ultrastructure and evolution. Biol. Cell., 63 : 151~158.
- Morisawa, S. 1979. The fine structure of the spermatozoon of the carp. *Cyprinus carpio*. Bull. St. Marianne. Univ., 8 : 23~28.
- 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.
- 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. Neotropical. Ichthy., 1 : 35~45.

Received : August 29, 2007
Accepted : November 5, 2007