

## 빙어 (*Hypomesus nipponensis*)의 정소 내 정자의 미세구조

김 재 구, 박 노 관<sup>1</sup>, 류 동 석<sup>1,\*</sup>

전북대학교 자연과학대학 생물과학부, <sup>1</sup>청주대학교 생명과학과

### Ultrastructure of the Sperm in Testes of the Pond Smelt (*Hypomesus nipponensis*)

Jae Goo Kim, No Kwan Park<sup>1</sup>, Dong Suck Reu<sup>1,\*</sup>

Faculty of Biological Science, College of Natural Sciences, Chonbuk National University,  
Jeonju 561-756, Korea

<sup>1</sup>Department of Life Science, Cheongju University, Cheongju 360-764, Korea

(Received December 13, 2010; Revised December 23, 2010; Accepted December 24, 2010)

#### ABSTRACT

The ultrastructure of sperms in testes of the pond smelt (*Hypomesus nipponensis*) was investigated using electron microscopes. The whitish testis was located between swim bladder and intestine. Especially, the left testis was larger than the right testis. The sperm was approximately 26  $\mu\text{m}$  in length. The sperm had an oval head and the acrosome was not found. The nucleus was about 400 nm in diameter and chromatin was incompletely condensed. The nuclear fossa deeply formed in sperm head and two centrioles were located in the fossa. The mitochondrion was observed only one in midpiece of the sperm and a motile flagellum consisted of an axoneme with a typical 9+2 pattern of microtubule. Also, the tail of the sperm has axonemal fins.

**Keywords :** *Hypomesus nipponensis*, Ultrastructure, Sperm, Flagellum, Axonemal fins

#### 서 론

바다빙어과(Osmeridae)에 속하는 빙어(*Hypomesus nipponensis*)는 담수산 경골어류로 동물성 플랑크톤과 수서곤충 등을 먹고 산다. 저수지나 호수의 깊은 곳에서 서식하다가 산란기인 3월이 되면 저수지 또는 호수의 가장자리나 하천의 얇은 곳으로 나와 수초나 모래바닥에 산란하며, 특히 수컷은 산란기가 되면 두부, 비늘 및 지느러미에 약한 추성과 같은 돌기가 생기고 배지느러미는 길어져 항문 가까이에 이르게 된다. 1925년 함경남도 용흥강 하구에서 채란한 빙어를 충청북도 제천 의림지, 전라북도 임실 옥정호 등에 이식

하여 현재는 전국적으로 분포하고 있다(Kim & Park, 2002; Kim et al., 2005).

대부분의 경골어류는 정소의 정소낭 내에서 정자형성과정이 이루어지며(van den Hurk et al., 1978; Billard, 1984; Gwo & Gwo, 1993; Chung, 2008), 정소낭 내에서 성숙한 정자는 즉시 방정되지만 큰가시고기처럼 부정소를 가지는 경우도 있다(Deung et al., 1999). 경골어류의 성숙한 정자는 두부, 중편 및 미부로 구분되며, 두부의 모양과 크기는 종에 따라 차이를 보이고 중편에 분포하는 미토콘드리아의 수도 다르게 나타난다(Todd, 1976; Park & Kim, 1996; Kim et al., 2007a). 또한 꼬리 부분인 미부는 대부분의 경골어류에서 편모 하나를 보유하지만 2개의 편모를 보유한 종도 알려져 있으며

\* Correspondence should be addressed to Dong Suck Reu, Department of Life Science, Cheongju University, Cheongju 360-764, Korea. Ph.: (043) 229-8528, Fax: (043) 229-8525, E-mail: re8448@cju.ac.kr

(Poirier & Nicholson, 1982; Matos et al., 2002), 편모의 미세소관은 대부분 9+2 구조로 이루어졌지만 일부 어류에서는 9+0 구조 또는 9+1 구조를 이루어 차이를 보이기도 한다 (Todd, 1976; Bern & Avtalion, 1990).

한국에 서식하는 대부분의 담수어는 연중 특정한 시기에만 산란하는 연주기를 보여 정소 내 생식세포에 관한 연구는 활발하게 이루어지지 못한 실정이다.

따라서 본 연구는 바다빙어과에 속하는 성숙한 빙어 (*Hypomesus nipponensis*)의 정소 내에 존재하는 정자의 미세구조를 투과전자현미경과 주사전자현미경으로 조사하여 기초자료로 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

2010년 1월부터 2010년 4월까지 충청북도 청원군 내수읍 비상저수지에 서식하는 빙어 (*Hypomesus nipponensis*)를 채집한 후 성숙한 수컷을 선별하여 실험재료로 사용하였다.

### 2. 실험방법

성숙한 빙어의 정소를 적출하여 외부형태를 관찰하고 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 4시간 전고정한 후 동일 완충액으로 세척하여 1% osmium tetroxide로 90분간 후고정하였다. 동일 완충액으로 세척한 후 ethanol 농도 상승 순으로 탈수시켜 propylene oxide로 치환하고 epon 혼합액으로 포매하여 ultramicrotome으로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 투과전자현미경 (JEM-1200EX II, JEOL, Japan)을 이용하여 정소내의 정자를 관찰하였으며, 주사전자현미경 시료의 경우 투과전자현미경 시료와 동일한 방법으로 고정한 후 isoamyl acetate로 치환하고 critical point dryer로 건조한 후 ion coater에서 금도금하여 주사전자현미경 (JSM-6300, JEOL, Japan)으로 정자의 외부형태를 관찰하였다.

## 결 과

본 실험에 사용된 빙어 (*Hypomesus nipponensis*)의 정소는 흰색으로 창자와 부레 사이에 머리 쪽에서 꼬리 쪽으로 한 쌍이 길게 분포하였으며, 좌측 정소가 우측 정소보다 훨씬 큰 것으로 관찰되었다 (Fig. 1a, b). 정소 내 정자의 두부는 난형으로 직경은 약 400 nm였으며 염색질은 완전하게 응축되지 않았고 첨체는 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 두부의 핵이 함입되어 핵와 (nuclear fossa)가 깊게 형성되었고 핵와 끝에 위치한 원위중심체 (distal centriole)와 근위중심체 (prox-

imal centriole)는 하나의 편모를 형성하였다 (Fig. 3). 특히 중편에는 미토콘드리아가 하나만 존재하였고 (Fig. 4), 편모에는 중심미세소관 축의 양 방향으로 가늘게 2개의 axonemal fin이 확장되어 있었으며, 한쪽 fin의 길이는 약 50 nm 이었다. 또한 편모의 미세소관은 전형적인 9+2 구조였다 (Fig. 5). 정소 내 성숙한 정자는 길이가 26 µm 정도였으며 난형의 두부, 중편 및 기다란 미부로 구분되는 전형적인 구조를 이루었다 (Fig. 6).

## 고 찰

본 실험에 사용된 빙어의 정소는 좌우 한 쌍으로 좌측 정소가 우측 정소보다 큰 것으로 나타나 (Fig. 1a, b) 바다빙어과에 속하는 은어 (Park et al., 2005)의 정소 분포와 유사한 것으로 나타났으나, 좌우 정소의 모양과 크기가 비슷한 피라미 (Cho & Reu, 1998) 및 곁지 (Gye, 2002) 등과는 차이를 보였다.

경골어류의 성숙한 정자는 두부, 중편 그리고 미부로 구분되며, 두부의 모양과 크기는 종에 따라 다를 뿐만 아니라 중편에 분포하는 미토콘드리아의 수도 차이를 보인다. 정자의 두부 모양은 신장형, 탄환형, 리본형, 초승달형 및 구형 등으로 다양하나 본 실험에 사용된 빙어의 정자 두부는 난형으로 관찰되어 (Figs. 2, 3, 4), 미꾸리과 종개 (Park & Kim, 1996)의 정자 두부의 모양과 유사하였으나 피라미 (Cho & Reu, 1998), 동자개 (Lee, 1998) 및 쉬리 (Reu, 2008) 등의 정자 두부가 구형인 것과는 차이를 보였다. 또한 정자의 두부 모양이 초승달형인 뱀장어과 어류 (Todd, 1976)와 장원추형인 난태생 어류 *Xiphophorus maculatus* (Kim et al., 2003) 등 과도 쉽게 구분되었다. 대부분의 경골어류에서 성숙한 정자의 핵은 염색질이 완전히 응축되어 전자현미경에서 동질적으로 전자밀도가 높게 나타나지만 *Plecoglossus altivelis* (Kudo, 1983)와 *Siganus fuscescens* (Gwo et al., 2004)의 성숙한 정자에서는 염색질의 이질적 응축이 나타난다고 보고되었다. 본 연구에서도 성숙한 빙어의 정자에서 염색질의 이질적 응축이 관찰되었으며 이는 빙어의 정자 미세구조가 다른 종의 정자미세구조와 비교될 수 있는 특징으로 판단된다. 정자의 두부에 첨체를 보유하지 않는 어종은 난자의 동물극쪽 난막에 위치한 난문 (micropyle)을 통해 수정이 이루어지는데 이는 정자의 진입통로로서의 기능을 수행하고 다수정을 방지하며 또한 종 사이에서 특이적인 것으로 알려져 있다 (Brummett & Dumont, 1979; Stehr & Hawkes, 1979; Iwamatsu & Ohta, 1981). 본 실험에 사용된 성숙한 빙어의 정자에서도 첨체가 관찰되지 않았으며 (Figs. 2, 3, 4), 피라미, 동자개 및 참갈겨니 등에서도 정자가 첨체를 보유하지 않은 것으로 알려졌다 (Cho & Reu, 1998; Lee, 1998; Kim,

2006). 따라서 빙어 난자에는 난문이 존재할 것으로 예측되며 난문을 통해 정자가 진입하여 수정과정을 수행할 것으로 판단된다. 정자형성과정 중에 나타나는 핵와의 깊이는 종에 따라 차이를 보인다. 본 실험에 의하면 빙어 정자의 두부 핵 기저부가 함입하여 핵와(nuclear fossa)가 깊게 형성되었는데(Fig. 2) 이는 동자개과 어류의 핵와가 깊게 형성된 것(Kim & Lee, 2000)과 유사하였다. 또한 핵와의 중심에는 근위중심체와 원위중심체가 만나 미부 쪽으로 길게 편모 하나를 형성하였으며(Fig. 3), 이는 2개의 편모를 보유한 시클리드과 *Satanoperca jurupari* (Matos et al., 2002)와 동자개과 어류인 channel catfish (Poirier & Nicholson, 1982)와는 차이를 보였다. 또한 편모는 대부분의 경골어류(Kim & Lee, 2000; Kim, 2006; Kim et al., 2007a) 정자처럼 9+2 구조의 미세소관이 확인되어(Fig. 5), 9+0 구조의 뱀장어(Todd, 1976)와 9+1 구조를 가진 tilapia (Bern & Avtalion, 1990) 등과는 차이를 보였다.

특히 빙어의 정자 중편에는 미토콘드리아가 하나만 분포하고 있었으며(Fig. 4) 이는 3~5개의 미토콘드리아가 분포하는 모래무지(Kim et al., 2007b)와 6개 이상의 미토콘드리아가 분포하는 참갈겨니(Kim, 2006) 및 10개 이상의 미토콘드리아가 분포하는 대농갱이(Kim & Lee, 2000)와는 차이를 보였다. 경골어류에서 편모운동에 영향을 미치는 axonemal fin은 볼락(Lee, 1996), 문치가자미(An et al., 1999), 대농갱이(Kim & Lee, 2000) 및 *Satanoperca jurupari* (Matos et al., 2002) 등의 정자 미부를 이루는 편모의 외측에 분포하고 있는 것으로 알려졌다. 본 실험에 사용된 빙어의 정자 편모에도 두개의 axonemal fin이 분포하였으나(Fig. 5), 대농갱이(Kim & Lee, 2000)와 문치가자미(An et al., 1999)의 axonemal fin보다는 크기가 작은 것으로 관찰되었다. 빙어의 정자에서 중편에 미토콘드리아가 하나만 있으며 axonemal fin의 크기도 작은 것으로 보아 수류가 거의 없는 호수 및 저수지 등에서 산란하는 특성에 따라 비교적 쉽게 정자와 난자가 수정할 수 있는 환경에 적응한 결과로 판단된다.

본 실험에 의하면 성숙한 빙어의 정소 내 정자는 길이가 약 26  $\mu\text{m}$ 였으며 첨체는 관찰되지 않았다. 또한 정자는 난형의 두부, 중편 및 기다란 미부로 구성되었으며 두부의 직경은 400 nm 정도였고 염색질은 완전히 응축되지 않았다. 중편에는 미토콘드리아가 하나만 분포하였고 미부를 이루는 편모의 미세소관은 전형적인 9+2 구조를 가졌다. 특히 편모의 외측에는 편모의 운동에 영향을 미치는 axonemal fin을 보유한 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

An CM, Lee JS, Huh SH : Ultrastructural study on the spermatogene-

- sis of the marbled sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuronectidae). Korean J Electron Microscopy 29(4) : 427-435, 1999. (Korean)
- Bern O, Avtalion RR: Some morphological aspects of fertilization in tilapias. J Fish Biol 36 : 375-381, 1990.
- Billard R: Ultrastructural changes in the spermatogonia and spermatocytes of *Poecilia reticulata* during spermatogenesis. Cell Tiss Res 237(2) : 219-226, 1984.
- Brummett AR, Dumont JN: Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. J Exp Zool 210 : 417-434, 1979.
- Cho JH, Reu DS: Ultrastructural study on the spermatogenesis of pale chub (*Zacco platypus*). Korean J Electron Microscopy 28(2) : 181-191, 1998. (Korean)
- Chung EY: Ultrastructure of germ cells, the Leydig cells, and Sertoli cells during spermatogenesis in *Boleophthalmus pectinirostris* (Teleostei, Perciformes, Gobiidae). Tissue and Cell 40 : 195-205, 2008.
- Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of gametes in the three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*. Korean J Electron Microscopy 29(2) : 177-178, 1999. (Korean)
- Gwo JC, Gwo HH: Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). Mol Rep Dev 36(1) : 75-83, 1993.
- Gwo JC, Yang WT, Kuo MC, Takemura A, Cheng HY: Spermatozoal ultrastructures of two marine perciform teleost fishes, the goatfish, *Parupeneus spilurus* (Mullidae) and the rabbitfish, *Siganus fuscescens* (Siganidae) from Taiwan. Tissue & Cell 36 : 63-69, 2003.
- Gye MC: Spermatogenesis of *Coreoperca herzi* (Perciformes; Percichthyidae). Korean J Limnol 35(3) : 232-236, 2002. (Korean)
- Iwamatsu T, Ohta T: Scanning electron microscopic observation on sperm penetration in teleostean fish. J Exp Zool 218 : 261-277, 1981.
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: An ultrastructural study on the spermatogenesis of *Xiphophorus maculatus*. Korean J Electron Microscopy 33(4) : 267-274, 2003. (Korean)
- Kim IS, Choi Y, Lee CL, Lee YJ, Kim BJ, Kim JH: Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Pub Co Ltd, Seoul, pp. 149-150, 2005. (Korean)
- Kim IS, Park JY: Freshwater fishes of Korea. Kyo-Hak Pub Co Ltd, Seoul, pp. 262-263, 2002. (Korean)
- Kim KH: Ultrastructure of *Zacco koreanus* (Teleostei, cypriniformes, Cyprinidae) spermiogenesis and spermatozoa. Korean J Ichthyol 18(4) : 347-354, 2006. (Korean)
- Kim KH, Kim JK, Hwang KJ: Ultrastructure of spermatozoa of a Korean bitterling, *Acheilognathus koreensis* (Pisces, Cyprinidae). Korean J Ichthyol 19(4) : 286-291, 2007a. (Korean)
- Kim KH, Kwon DM, Lee JI, Jung SB: Ultrastructure of *Pseudogobio esocinus* (Teleostei, Cyprinidae) spermiogenesis and spermatozoa. J Korean Fish Soc 40(3) : 147-152, 2007b. (Korean)
- Kim KH, Lee YH: The ultrastructure of spermatozoa of the ussuriian bullhead, *Leiocassis ussuriensis* (Teleost, Siluriformes, Bagri-

- dae) with phylogenetic considerations. Korean J Limnol 33(4) : 405-412, 2000. (Korean)
- Kudo S: Response to sperm penetration of the cortex of eggs of the fish, *Plecoglossus altivelis*. Develop Growth and Differ 25(2) : 163-170, 1983.
- Lee JS: Ultrastructural study on the spermatogenesis of rockfish, *Sebastes inermis* (Pisces : Scorpaenidae). Korean J Electron Microscopy 26(3) : 267-275, 1996. (Korean)
- Lee YH: Ultrastructure of spermatozoa in the bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae). Korean J Electron Microscopy 28(1) : 39-48, 1998. (Korean)
- Matos E, Santos MNS, Azevedo C: Biflagellate spermatozoon structure of the hermaphrodite fish *Satanoperca jurupari* (Heckel, 1840) (Teleostei, Cichlidae) from the amazon river. Braz J Biol 62(4B) : 847-852, 2002.
- Park IS, Zhang CI, Kim YJ, Bang C: Directional asymmetry of gonadal development in Ayn (*Plecoglossus altivelis*). J Fish Sci Technol 8(4) : 207-212, 2005.
- Park JY, Kim IS: Fine structure spermatozoa of Cobitidae (Pisces : Cypriniformes) from Korea. Korean J Ichthyol 8(2) : 74-83, 1996. (Korean)
- Poirier GR, Nicholson N: Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish. J Ultrastru Res 80(1) : 104-110, 1982.
- Reu DS: A study on the reproductive cells in testis of *Coreoleuciscus splendidus*. J Ind Sci Cheongju Univ 25(2) : 31-36, 2008. (Korean)
- Stehr CM, Hawkes JW: The comparative ultrastructure of the egg membrane and associated pore structure in the starry flounder, *Platichthys stellatus* (Pallas), and pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). Cell Tiss Res 202(3) : 347-356, 1979.
- Todd PR: Ultrastructure of the spermatozoa and spermiogenesis in the New Zealand freshwater eels (Anguillidae). Cell Tiss Res 171(2) : 221-232, 1976.
- van den Hurk R, Peute J, Vermeij JAJ: Morphological and enzyme cytochemical aspects of the testis and vas deferens of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Cell Tiss Res 186(2) : 309-325, 1978.

### < 국문초록 >

바다잉어과(Osmeridae)에 속하는 빙어(*Hypomesus niponensis*)의 정소 내 성숙한 정자들을 전자현미경을 이용하여 조사하였다. 빙어의 정소는 한 쌍으로 부레와 창자 사이에 위치하였고 좌측 정소가 우측 정소보다 큰 것으로 나타났으며 흰색이었다.

정소 내의 성숙한 정자의 길이는 26 µm 정도였다. 두부는 난형으로 직경은 400 nm 정도였으며 침체는 관찰되지 않았고, 특히 염색질의 이질적 응축이 관찰되었다. 두부의 핵이 함입되어 핵와(nuclear fossa)가 깊게 형성되었으며 핵와 내 기저부에서 편모가 직선으로 분포하였고 편모의 미세소관은 전형적인 9+2 구조를 이루고 있었다. 또한 편모의 외측에는 두개의 axonemal fin이 관찰되었으며, 중편에는 미토콘드리아가 하나만 존재하였다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** A photograph of testes in the pond smelt (*Hypomesus nipponensis*). a. a left testis (LT) and a right testis (RT), b. testes (arrow).
- Fig. 2.** A transmission electron micrograph of sperms (Bar=200 nm). N: Nucleus, NF: Nuclear Fossa, F: Flagellum.
- Fig. 3.** A transmission electron micrograph of centriole of sperms (Bar=500 nm). N: Nucleus, F: Flagellum, DC: Distal Centriole, PC: Proximal Centriole, M: Mitochondrium.
- Fig. 4.** A transmission electron micrograph of mitochondrium of sperms (Bar=500 nm). N: Nucleus, F: Flagellum, M: Mitochondrium.
- Fig. 5.** A transmission electron micrograph of flagella (Bar=200 nm). AF: Axonemal Fin.
- Fig. 6.** A scanning electron micrograph of mature sperms (Bar=20 µm). H: Head, Mp: Midpiece, T: Tail.





