# 경골어류 난태생 송사리과에 속하는 black molly와 sailfin molly의 정자형성과정

# 유 승 준, 김 동 희\* 역세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실

# Spermatogenesis of Black Molly and Sailfin Molly (Poeciliidae, Teleostei)

#### Seung Jun Ryu, Dong Heui Kim\*

Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea (Received September 3, 2010; Revised September 24, 2010; Accepted September 26, 2010)

#### ABSTRACT

Black molly (*Poecilia sphenops*) and sailfin molly (*Poecilia latipinna*) are a teleost belonging to Poeciliidae. The spermatogenesis between two species were investigated by light and electron microscope.

The whitish testes of both black molly and sailfin molly were located between intestine and air bladder. The size of testis was major axis 7 mm, minor axis 2 mm. The testis contained numerous testicular cysts.

In both black molly and sailfin, primary spermatocytes were comparatively large ellipsoidal, and mitochondria showed a marked development. The secondary spermatocyte was smaller than that of primary spermatocyte, highly condensed according to their development. The nucleus with electron-dense was round shape and flagella started to be formed. In spermiogenesis, chromatin was more condensed. The mitochondria were rearranged along the tail. The number of mitochondria was 2 to 4 in cross section and 8 to 10 in longitudinal section. The head of mature sperm was long cone shape and had not acrosome. The microtubules of flagella were arranged 9+2 structure. Also, the tail of sperm have lateral fins.

In conclusion, spermatogenesis and sperm morphologies of these two species were same. These morphological similarity seems to be an indication of the Poeciliidae.

Keywords : Fish, Spermatogenesis, Ultrastructure, Black molly, Sailfin molly

#### 서 론

어류의 생식은 태생(viviparity), 반태생(semiviviparity), 난 태생(ovoviviparity) 및 난생(oviparity)으로 구분되며 태생을 하는 종들은 체내수정을 하고 모체의 생식수관 내에서 발생 과정을 수행하며 반태생을 하는 어류는 체내수정을 통하여 배아를 만들고 발생초기에는 모체의 보호를 받다가 부화되 기 전 외부로 산란한다. 또한 난태생의 경우는 체내수정을 통하여 배아가 형성되며 모체 내에서 부화를 마친 후 자어가 된다. 또한 난생을 하는 대부분의 경골어류는 체외수정을 통 하여 배아를 형성하며 부화과정을 통하여 자어가 된다. 블랙 몰리와 세일핀몰리는 모두 난태생으로 발생과정을 수행하는 경골어류에 속한다.

<sup>\*</sup> Correspondence should be addressed to Dr. Dong Heui Kim, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162 Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0353, Fax: (033) 732-4446, E-mail: fish7963@yonsei.ac.kr

어류의 정자형성과정(spermatogenesis)은 종간에서 차이 를 보일 뿐만 아니라 동종의 개체 간에서도 생식습성 또는 서식환경에 따라 서로 다르게 나타난다(Wolenski & Hart, 1987). 일반적으로 경골어류의 경우 정자형성과정은 정소낭 내에서 이루어지며(Gwo & Gwo, 1993; Medina et al., 2003; Kim et al., 2010), 정소낭 내의 생식세포는 Oryzias latipes, Liza aurata, Acanthopagrus schlageli, Thalassoma duperrey 및 Anguilla japonica처럼 동시에 분화하는 종과(Grier, 1973; Brusle, 1981; Hourigan et al., 1991; Miura et al., 1991; Gwo & Gwo, 1993), Salmo gairdneri와 Mustelus palumbes처럼 동시에 분화하지 않는 종들로 나누어진다(Billard, 1983; Rossouw & Vanessen, 1993).

지금까지의 정자형성과정은 주로 체외수정을 하는 난생 어류에서 연구되어 왔으며(Gwo & Gwo, 1993; Rossouw & Vanessen, 1993; Medina et al., 2003; Kim et al., 2010), 체내 수정을 하는 난태생 어류의 정자형성에 대한 연구(Grier, 1973; Kim et al., 2003)는 미흡한 실정이다. 또한 체외수정하 는 정자의 기본구조는 대부분 두부형태가 구형이며 작은 중편부, 적은 미토콘드리아 수, 외부환경으로부터 난자까지 이동을 위한 편모주위에 lateral fin을 보유하고 있는 것이 기 본적인 구조이다. 그러나 난태생 어류의 경우 체내수정을 하 기 때문에 체외수정하는 종과 첨체의 유무, 두부의 형태, 중 편의 미토콘드리아 배열, 편모의 단면 9+2구조를 포함한 정 자의 미세구조 및 정자형성과정 자체가 서로 다를 것으로 생각된다. 난태생어류인 Xiphophorus maculatus의 정자형성 과정은 일반 난생어류의 정자형성과정과 유사한 경향을 보 이지만 정자의 두부형태가 타원형이고, 꼬리 끝에 특이한 고 리구조물이 달려있어 많은 형태학적 차이를 보인다(Kim et al., 2003).

따라서 본 연구는 수정방식에 따라 체내수정 하는 어류의 경우 체외수정 하는 어류의 정자형성과정과 정자의 미세구 조가 차이가 있는지를 확인하고 같은 과(Family)를 대표하 는 공통적인 특성인지 종마다 서로 다른 경향을 보여 종특 이성을 가지고 있는지를 밝히기 위하여 난태생 송사리과에 속하는 Poecilia black molly (Poecilia sphenops)와 sailfin molly (Poecilia latipinna)의 정자형성과정과 정자의 미세구 조를 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 서로 비교하고 자 하였다.

#### 재료 및 방법

#### 1. 기초사육

실험에 사용할 블랙몰리(black molly, *Poecilia sphenops*) 와 세일핀몰리(sailfin molly, *Poecilia latipinna*)는 산호수족 관(강원도 원주시)으로부터 종어를 구입하여 pH 7.8±0.5 및 26.0±0.5도의 수조(60×45×45 cm)에서 양어하였고, 사 육수는 Fritz-guard (Fritz Co. USA)로 상수의 염소를 제거시 킨 후 사용하였다. 물의 정화는 스폰지 여과기 (Brilliant sponge filter, Tetra Co. Ltd., Germany)를 이용한 생물학적 여과 (biological filtration)법을 이용하였고, 수조 바닥에 쌓인 배 설물은 3일 간격으로 1/4씩 환수시켜 제거하였다. 낮 환경 은 하루 10시간씩 유지시켰고, 먹이는 냉동장구벌레 (Blood Worms, Hikari Sales USA, Inc.m USA)를 오전 9시와 오후 5시에 하루 2번씩 공급하였다.

#### 2. 수컷의 선별

뒷지느러미가 변형된 교접기(gonopodium)를 가지고 있 는 수컷을 선별하여 실험에 사용하였다.

#### 3. 시료처리

정소를 적출하여 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.4)으로 조정된 10% 포르말린으로 4°C에서 24시간 고정한 후 흐르는 물 로 12시간 세척하였다. Ethanol 농도 상승 순으로 탈수하고 xylene으로 치확시킨 후 paraffin으로 포매하여 2~3 µm 두 께로 절편을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하여 관찰하였다. 투과전자현미경용 시료는 광학현미경 시료처리 법과 동일한 방법으로 정소를 적출한 후 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조성된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 4 시간 동안 전고정한 후 동일 완충용액으로 20분간 2번 세 척하였다. 후고정은 1% osmium tetroxide로 90분간 실시하 였고, 동일 완충용액으로 20분간 2번 세척한 후 ethanol 농 도 상승 순으로 탈수시켜 propylene oxide로 치환하였다. 포 매는 Epon 혼합액을 사용하였고, 열중합 후 초박절편기(Reichert Ultracut E, Germany)를 이용하여 60~70 nm 두께로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색 한 후 JEM-1200EX II형(JEOL, Japan) 투과전자현미경으로 정자형성과정을 관찰하였다.

#### 결과 및 고찰

난태생 송사리과에 속하는 블랙몰리와 세일핀몰리의 정자 형성과정을 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 서로 비 교한 결과는 다음과 같다.

정소의 단면을 광학현미경으로 관찰한 결과 두 종 모두 정소는 부레와 창자사이에 위치하고 있었고 장축 7mm, 단 축 2mm 정도의 크기로 흰색을 띠고 있었다(Figs. 1, 2). 정 자형성과정은 다른 경골어류와 마찬가지로 세정관내에서 이루어지지 않고 정소낭(testicular cyst)에서 이루어지며, 각 정소낭 내에 분화시기가 동일한 생식세포들이 분포하고 있 었다. 생식세포의 발달정도가 높아질수록 핵이 hematoxyline 으로 짙게 염색되어 푸른색을 띠었다(Figs. 3, 4). 정소의 색 깔은 분화정도에 따라 변화하는 것으로 알려져 있으며 카라 신과(Characidae)에 속하는 Oligosarcus hepsetus의 경우 휴 지기에는 반투명, 초기성숙기에는 흰색, 또한 성숙기에는 황 갈색으로 변화한다(Santos et al., 2006). 각 정소낭 내에는 동일한 분화시기의 생식세포들이 분포하고 있었고 단면구조 가 두 종간에 차이는 없었다(Figs. 3, 4). 따라서 2종 모두 정 소 내에서 모든 생식세포가 동시에 분화하는 종에 속하지 않는다. 블랙몰리의 경우 정자형성과정 초기의 제1정모세포 는 타원형으로 관찰되었으며, 핵과 세포질의 전자밀도는 다 른 생식세포들에 비해서 매우 낮았고 미토콘드리아는 핵막 주위에 분포하고 있었다. 제2감수분열 전기의 태사기에 나 타나는 태기사복합체(synaptonemal complex)들이 확인되었 다(Fig. 5). 또한 세일핀몰리의 경우 제1정모세포는 블랙몰 리와 거의 유사한 형태를 가지고 있었다(Fig. 6). 두 종 모두 제2정모세포는 구형으로 정원세포보다 크기는 작았고 인은 발달되어 있지 않았으며, 핵의 전자밀도는 더 높아졌다. 특히 미토콘드리아는 세포질 전체에 분포하고 있었고 정세포가 정자로 발달하는 정자완성과정시기에 편모가 형성되는 경 우가 일반적이지만 이미 정모세포시기에 편모형성이 관찰되 었다(Figs. 7, 8). 편모의 형성과정과 핵 내 염색질의 응축과 정이 시기적으로 동시에 발생되는 것은 분화가 끝난 후에 정자의 운동성을 최대한으로 제공하기 위한 구조적 변화로 생각된다. 제2정모세포에서 정세포로 분화가 시작될 때 세포 질 전체에 분포하고 있던 미토콘드리아는 핵이 세포막 쪽으 로 이동된 반대쪽으로 이동되었다. 제2정모세포에 비하여 핵 은 더 둥글고 전자밀도가 높아졌으며(Figs. 9, 10), 핵의 응 축은 바깥쪽 앞부분부터 이루어 졌으며 이 시기의 핵은 완 전히 생식세포의 세포질과 붙어있는 형태였고 미토콘드리아 는 핵의 반대쪽에 모여 있었다(Figs. 11, 12). 그러나 두 종간 의 차이를 발견할 수 없었다. 중편부위를 횡단한 결과 미토 콘드리아는 3개가 가장 많이 발견되었으며 위치에 따라서 2~4개 정도로 관찰되었다(Figs. 13, 14). 일반적으로 중편내 의 미토콘드리아는 종에 따라 차이가 있지만 난생인 경골어 류의 경우 미토콘드리아는 한 층으로 횡단면상 버들치의 경우 5~7개 (Kim et al., 2010), Cichlasoma managuensis의 경우 3~8개 (Lee et al., 2009) 정도로 적은 편이다. 편모의 미 세소관 배열은 전형적인 두 종 모두 9+2구조를 이루고 있 었고 편모에 횡단면상 양극에 세포막이 신장되어 형성된 lateral fin이 발견되었다(Figs. 15, 16). 큰가시고기의 경우도 lateral fin이 있으며 이 lateral fin은 정자의 이동에 보조역 할을 하여 수정하는데 더 유리한 도구로 사용될 수 있다 (Deung et al., 1999). 다른 대부분의 어류에서도 미세소관은 동일한 배열을 하고 있는 것으로 알려졌으나(Deurs & Lastein, 1973; Grier, 1973; Brusle, 1981; Jones & Butler, 1988), 뱀장어(Anguilla australis)의 정자는 편모의 미세소관 배열

이 9+0 구조를 가지고 있다(Todd, 1976). 정자완성과정 중 에 mitochondria의 형태변화는 수정 전 정자의 이동에 필요 한 에너지를 제공하는데 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려졌다(Favard & Andre, 1970). 성숙한 정자의 두부형태 는 구형인 정세포와 달리 장원추형이었으며 염색질 응축이 매우 뚜렷하였고, 두부에서 첨체는 관찰되지 않았으며 중편 부의 미토콘드리아는 두 종 모두 8~10개가 종렬로 위치하 고 있었다(Figs. 17, 18). 같은 난태생어류인 Xiphophorus maculatus의 경우 미토콘드리아가 6~7층으로 편모를 중심 으로 배열하는 (Kim et al., 2003) 방식과 매우 유사하다. 따 라서 난생어류의 정자는 정자수는 적은편이고 난태생어류는 많은 편이며 난태생의 경우 수정조건이 체내수정이고 난생 어류는 체외수정이므로 정자가 난자에 도달하는 거리상으로 보면 체외수정하는 어류인 경우 사정시 정액이 난자에 직접 적으로 닿아 바로 수정이 이루어지기 때문에 정자의 운동에 너지의 생성장소인 미토콘드리아는 많이 필요하지 않을 것 으로 생각된다. 같은 난태생어류인 Xiphophorus maculatus 의 경우 꼬리 끝에 고리모양의 구조물을 가지고 있어 종특 이성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2003). Zebrafish, 송어, black porgy, garfish, Liza aurata, Pantodon buchholzi 및 Platichthys flesus 등은 정자의 두부에 첨체가 존재 하지 않아(Gwo & Gwo, 1993) 난막을 뚫고 들어갈 수 없기 때문에 정자는 난막의 동물극 쪽에 위치한 난문(micropyle) 을 통하여 난자내로 진입하여 수정하는 것으로 알려졌다 (Brusle, 1981; Kim et al., 1999, 2005, 2007). 따라서 본 어종 의 성숙한 난자에서 난문의 존재 여부에 대한 연구도 수행 되어야 할 것으로 사료되다.

이상과 같이 Poecilia속 블랙몰리 (Poecilia sphenops)와 세일핀몰리 (Poecilia latipinna)의 정자형성과정은 제1정모 세포, 제2정모세포, 정세포 및 정자의 미세구조상 차이점은 발견할 수 없었으며 생식세포 발달과정 중에 정세포 이전시 기에 편모가 형성되고 미토콘드리아의 배열방식은 난생어 류와 다른 양상을 보여주었다. 따라서 이들의 정자형성과정 양상, 정자의 단면 미세구조와 미토콘드리아의 배열방식은 난태생어류의 공통적인 특징으로 생각된다. 앞으로 같은 속 으로 분류되는 다른 종들에 대한 추가적인 연구를 통하여 과연 이 정자의 미세구조와 정자형성과정 양상이 속을 대표 하는 공통점인지 아니면 이 두 종만이 가지는 특성인지 확 인할 필요성이 있고 정자의 외부미세구조를 밝히기 위한 주 사전자현미경적 실험이 차후에 이루어져야 할 것으로 생각 된다.

### 참 고 문 헌

Billard R: Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) An ultrastructural study. Cell Tissue Res 223 : 265-284, 1983.

- Brusle S: Ultrastructure of Spermiogenesis in *Liza aurata* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). Cell Tissue Res 217 : 415-424, 1981.
- Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of gametes in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*. Korean J Electron Microscopy 29(2): 177-187, 1999. (Korean)
- Deurs BV, Lastein U: Ultrastructure of the spermatozoa of the teleost *Pantodon buchholzi* Peters, with particular reference to the midpiece. J Ultrastr Res 42 : 517-533, 1973.
- Favard P, Andre J: The mitochondria of spermatozoa. In: Baccetti B, ed, Comparative Spermatology, pp. 415-429, Academic Press, New York, 1970.
- Grier HJ: Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna*. J Ultrastr Res 45 : 82-92, 1973.
- Gwo JC, Gwo HH: Spermatogenesis in the black porgy, Acanthopagrus schlegeli (Teleostei: Perciformaes: Sparidae). Mol Reprod Dev 36 : 75-83, 1993.
- Hourigan TF, Nakamura M, Nagahama Y, Yamauchi K, Grau EG: Histology, ultrastructure, and in vitro viteroidogenesis of the testes of two male phenotypes of the protogynous Fish, *Thalassoma duperrey* (Labridae). General and Comparative Endocrinology 83 : 193-217, 1991.
- Jones PR, Butler RD: Spermatozoon ultrastructure of *Platichthys flesus*. J Ultrastr Mol Struc Res 98 : 71-82, 1988.
- Kim DH, Chang BS, Kim WJ, Lee MS, Teng YC, Kim S, Lee KJ: The Spermatogenesis of Chinese minnow, Leuciscinae, Teleostei. Korean J Electron Microscopy 40(1): 1-8, 2010. (Korean)
- Kim DH, Deung YK, Kim WJ, Reu DS, Kang SJ: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes from three-spot gourami, pearl gourami and marble gourami, Belontiidae, Teleost. Korean J Electron Microscopy 29(3): 343-351, 1999. (Korean)
- Kim DH, Deung YK, Lee KJ: Ultrastructure of the fertilized egg envelope from *Hyphessobrycon serpae*, Characidae, Teleost. Korean J Electron Microscopy 35(2): 89-96, 2005. (Korean)
- Kim DH, Lee KJ, Kim S, Deung YK: A study on the oogenesis of False dace (*Pseudorasbora parva*). Korean J Electron Microscopy 37(2): 65-72, 2007. (Korean)
- 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)
- Lee KJ, Chang BS, Teng YC, Kim S, Song MS, Joo KB, Kim DH: The spermatogenesis of *Cichlasoma managuensis*. Cichlidae, Teleost. Korean J Microscopy 39(3) : 219-226, 2009. (Korean)
- Medina A, Megina C, Abascal FJ, Calzada A: The sperm ultrastructure of *Merluccius merluccius* (Teleostei, Gadiformes): phylogenetic considerations. Acta Zoologica 84(2): 131-137, 2003.

Miura T, Yamauchi K, Nagahama Y, Takahashi H: Introduction of

permatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. Zool Sci 8 : 63-73, 1991.

- Rossouw GJ, Vanessen LD: Spermatogenesis in the male white spotted houndshark, *Mustelus palubes* Smith, 1957. South African J Sci 89 : 244-246, 1993.
- Santos RN, Andrade CC, Santos LN, Santos AFGN, Arauujo FG: Testicular maturation of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier) (Actinopterygii, Characidae) in a Brazilian tropical reservoir. Braz J Biol 66(1A) : 143-150, 2006.
- Todd PR: Ultrastructure of the spermatozoa and spermiogenesis in New Zealand freshwater eels (Anguillidae). Cell Tissue Res 171 : 224-232, 1976.
- Wolenski JS, Hart NH: Scanning electron microscopic studies of sperm incorporation into the zebrafish (*Brachydanio*) egg. J Exp Zool 243 : 259-273, 1987.

#### <국문초록>

난태생어류인 성숙한 블랙몰리(black molly, *Poecilia sphenops*) 와 세일핀몰리(sailfin molly, *Poecilia latipinna*)의 정소를 적출하 여 정자형성과정과 정자의 미세구조를 광학현미경과 전자현미경 을 이용하여 관찰하였다.

정소는 부레와 창자사이에 위치하고 있었고 장축 7mm, 단축 2mm 정도의 크기로 흰색을 띠고 있었다. 두 종 모두 정자형성 과정은 정소낭(testicular cyst)에서 이루어졌으며, 각 정소낭 내에 동일한 분화시기의 생식세포가 분포하고 있었다. 제1정모세포는 타원형으로 관찰되었으며, 핵과 세포질의 전자밀도는 다른 생식 세포들에 비해서 매우 낮았고 미토콘드리아는 핵막주위에 분포 하고 있었다. 제2감수분열 전기의 태사기에 나타나는 태기사복 합체(synaptonemal complex)들이 확인되는 경우도 있었다. 두 종 모두 제2정모세포는 구형으로 정원세포보다 크기는 작았고 인은 발달되어 있지 않았으며, 핵의 전자밀도는 더 높아졌다. 특 히 미토콘드리아는 세포질 전체에 분포하고 있었고 정세포가 정 자로 발달하는 정자완성과정시기에 편모가 형성되는 경우가 일 반적이지만 이미 제2정모 세포시기에 평모형성이 관찰되었다. 정자의 중편부위를 횡단한 결과 미토콘드리아는 2~4개 정도로 관찰되었고 편모의 미세소관 배열은 전형적인 두 종 모두 9+2 구조를 이루고 있었고 편모에 lateral fin이 발견되었다. 성숙한 정자의 두부형태는 구형인 정세포와 달리 장원추형이었으며 염 색질 응축이 매우 뚜렷하였고, 두부에서 첨체는 관찰되지 않았으 며 중편부의 미토콘드리아는 두 종 모두 8~10개가 종렬로 위 치하고 있었다. 이상과 같이 두 종의 정자형성과정과 정자의 형 태는 같으며 이런 특징은 난태생 송사리과 어류의 공통적인 특 성으로 생각된다.

## FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Photograph of testis of black molly.

Fig. 2. Photograph of testis of sailfin molly.

Fig. 3. Light micrograph testis section of black molly (×200). Each cyst contains a clone of differentiating germ cells. Various staged cysts consisted of spermatocytes (S), spermatid (Sm) and spermatozoa (Sp) are compared.

**Fig. 4.** Light micrograph testis section of sailfin molly ( $\times 200$ ).

**Fig. 5.** An electron micrograph of primary spermatocytes of black molly with synaptonemal complex (arrow) in meiotic prophase II (scale bar= $1 \mu m$ ). N; Nucleus, M; Mitochondria.

Fig. 6. An electron micrograph of primary spermatocytes of sailfin molly (scale bar=1 µm). N; Nucleus, M; Mitochondria.

Fig. 7. An electron micrograph of secondary spermatocytes in black molly (scale bar=1 µm). N; Nucleus, M; Mitochondria.

Fig. 8. An electron micrograph of secondary spermatocytes in sailfin molly (scale bar=1 µm). N; Nucleus, M; Mitochondria.

Fig. 9. An electron micrograph of early spermatids in black molly (scale bar=1  $\mu$ m). N; Nucleus, M; Mitochondria.

Fig. 10. An electron micrograph of early spermatids in sailfin molly (scale bar=1  $\mu$ m). N; Nucleus.

Fig. 11. An electron micrograph of late spermatids in black molly (scale bar=1  $\mu$ m). N: Nucleus, M: mitochondria.

Fig. 12. An electron micrograph of late spermatids in sailfin molly (scale bar=1 µm). N: Nucleus, M: mitochondria.

Fig. 13. Cross section of the middle piece in black molly. The middle piece have two to four mitochondria in a cross section (scale bar=200 nm). M; Mitochondria.

Fig. 14. Cross section of the middle piece in sailfin molly (scale bar=200 nm).

Fig. 15. Cross section of the tail of sperms in black molly (scale bar=200 nm). Note the 9+2 structure and lateral fins (arrow).

Fig. 16. Cross section of the tail of a sperms in sailfin molly (scale bar=200 nm).

**Fig. 17.** Transmission electron micrograph of sperms of black molly (scale bar=1  $\mu$ m). N; Nucleus, M; mitochondria; F; Flagella (scale bar=1  $\mu$ m).

Fig. 18. Transmission electron micrograph of sperms of sailfin molly (scale bar= $1 \mu m$ ).





