

꺼지 (*Coreoperca herzi*)의 정자형성

계 명 찬

(한양대학교 자연과학대학 생명과학과)

Spermatogenesis of *Coreoperca herzi* (Perciformes; Percichthyidae). Gye, Myung Chan (Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea)

In an effort to uncover the reproduction of Korean brook perch *Coreoperca herzi* testis anatomy and sperm morphology were studied. Fish samples were collected in the Sooypcheon river from May to October 2001. White-colored testes have wedge-shaped external morphology, and developed symmetrically in the dorsal cavity of the trunk. Isogenetic germ cells developed in the cyst located in seminiferous lobule. Each lobule showed significant asynchrony in the spermatogenic stage of the cyst. Sperm was 43 μm in length. The round head was 2.2 μm long. The middle piece developed beneath the head was 0.5 μm long. Tail was 40 μm in length. Coomassie brilliant blue (CBB) gave rise the intense staining in the apex of sperm head and middle piece, suggesting the possible development of acrosome.

Key words : testis, spermatozoa, *Coreoperca herzi*

서 론

꺼지 (*Coreoperca herzi*)는 한반도 고유종으로 (전, 1986) 주연성 담수어류인 농어목, 농어과의 민물고기이다 (Fig. 1). 이 종은 서남해로 유입되는 하천 (정, 1977) 과 동해로 유입되는 하천의 경우는 왕피천, 양양남대천, 그리고 송천천에서 그 출현이 보고되었다 (전, 1986). 꺼지는 하천의 중상류역의 본류나 지류의 2급수 이상의 수질에 암석이 발달된 하상구조인 여울이나 소에 서식한다. 육식어류로 반경 수 m 정도의 구역 (territory)을 가지며 수중 바위 밑에 숨어 각종 수서 곤충, 작은 어류 및 새우 등을 공격하여 포식하는 민첩성을 지닌다 (계 등, 1977). 북한강 유역의 지류에 서식하는 꺼지는 6월 하순에 주로 산란하며 부화 1년 후 번식에 참가할 수 있으나 생식소의 발달은 체장 100 mm 이상의 개체에서 확연하다 (계 등, 1997). 최근 북한강 및 지천 주변에서

진행되는 개발과 이에 따른 생활하수의 유입 등 수질오염으로 인한 서식지의 파괴가 급속히 진행되고 있어 이 지역 수계에서 이 종의 보존 필요성이 증가하고 있다. 본 연구에서는 수서 생태계 내에서 꺼지를 보존하고 증식을 위한 연구의 일환으로 꺼지의 번식에 관한 기본 자료를 얻고자 북한강 수계의 지류에 서식하는 꺼지를 대상으로 정소의 해부, 조직학적 구조 및 정자의 형태적

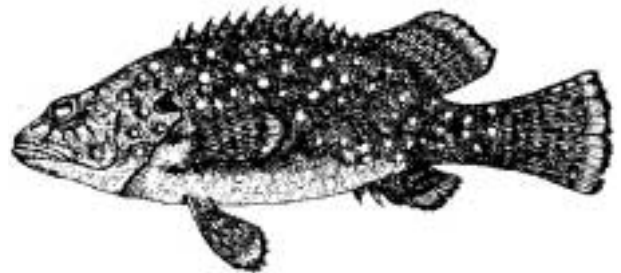


Fig. 1. *Coreoperca herzi*. 150 mm SL.

* Corresponding author: Tel: 02) 2290-0958, Fax: 02) 2298-9646, E-mail: mcgye@hanyang.ac.kr

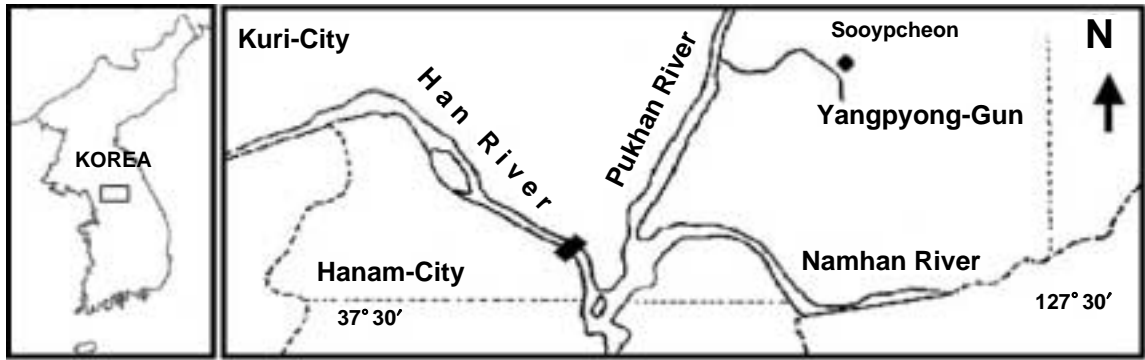


Fig. 2. Map of sampling sites. Solid circles indicate sampling sites.

특징을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 채집 및 동정

표본은 2001년 5월 부터 10월까지 경기도 양평군 면수입천 중류지역에서 채집하였다(Fig. 2). 계 등(1997)의 방법에 따라 스피닝릴을 부착한 루어낚시를 사용하여 원줄 1.5호에 물벌레를 모방한 금속제 스피너(spinner)를 연결하여 캐스팅과 릴링을 반복하여 수심 1 m 미만의 물속 암반이 있는 곳, 제방 또는 축대 근처, 보 밑 등에서 연구에 사용한 시료를 전량 채집하였다. 꺝지의 경우 생식소의 발달은 전장 100 mm 이상의 개체에서 뚜렷하다(계 등, 1997). 따라서 채집된 개체중 해부 및 조직학적 관찰에는 전장 150 mm 이상의 수컷 개체를 사용하였다.

2. 해부 및 생식소의 조직학적 검사

시료는 채집 후 5시간 이내에 냉장상태로 실험실로 운반하였다. 복부를 절개한 후 생식소를 적출하여 0.1 M 인산염완충액(phosphate buffer, pH 7.4)에 희석한 5% formalin 용액에 고정하였다. 고정된 조직은 ethanol series를 거쳐 탈수한 후 파라핀에 포매하여 5 µm 두께의 절편을 제작하였다. 탈 파라핀 처리 후 hematoxylin-eosin 염색을 시행하고 영구표본으로 제작하였다. 제작된 표본은 해부현미경(MPS30, Leica) 및 광학현미경(BX50, Olympus) 하에서 관찰하고 사진기록 하였다.

3. 정자표본 제작

산란기에 임박한 수컷으로부터 정소를 분리하였다. 정

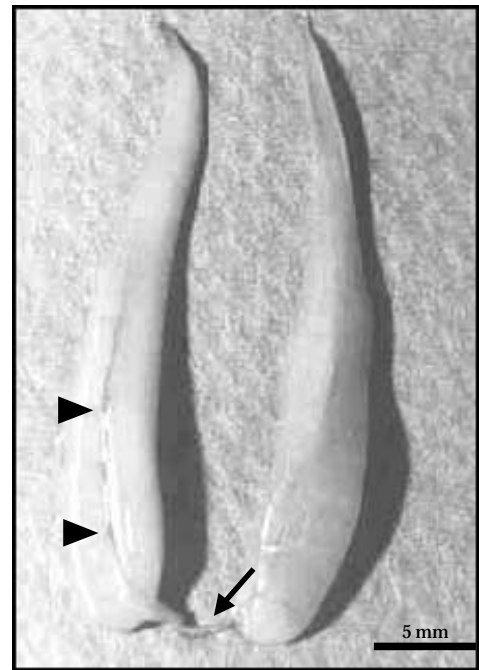


Fig. 3. External morphology of the testes of *Coreoperca herzi*. White-colored testes showed wedge-shaped external morphology. Testicular artery (arrow-heads) innervates along the longitudinal fold of testis. Vas deference (arrow).

소를 압착하여 정액을 채취한 후 20부피의 고정액을 첨가하여 30분간 정치하였다. 인산염완충액으로 1회 원심 분리 세척한 후 슬라이드에 도말하여 건조표본을 제작하였다. 염색 후 Coomassie brilliant blue (CBB) 용액(Bio-rad, CA, USA)을 PBS에 1/10로 희석하여 10분간 염색하였다. 인산염완충액으로 2회 세척한 후 건조하여 영구표본으로 제작하였다. 제작된 표본은 광학현미경(BX50, Olympus) 하에서 관찰하고 사진기록 하였다.

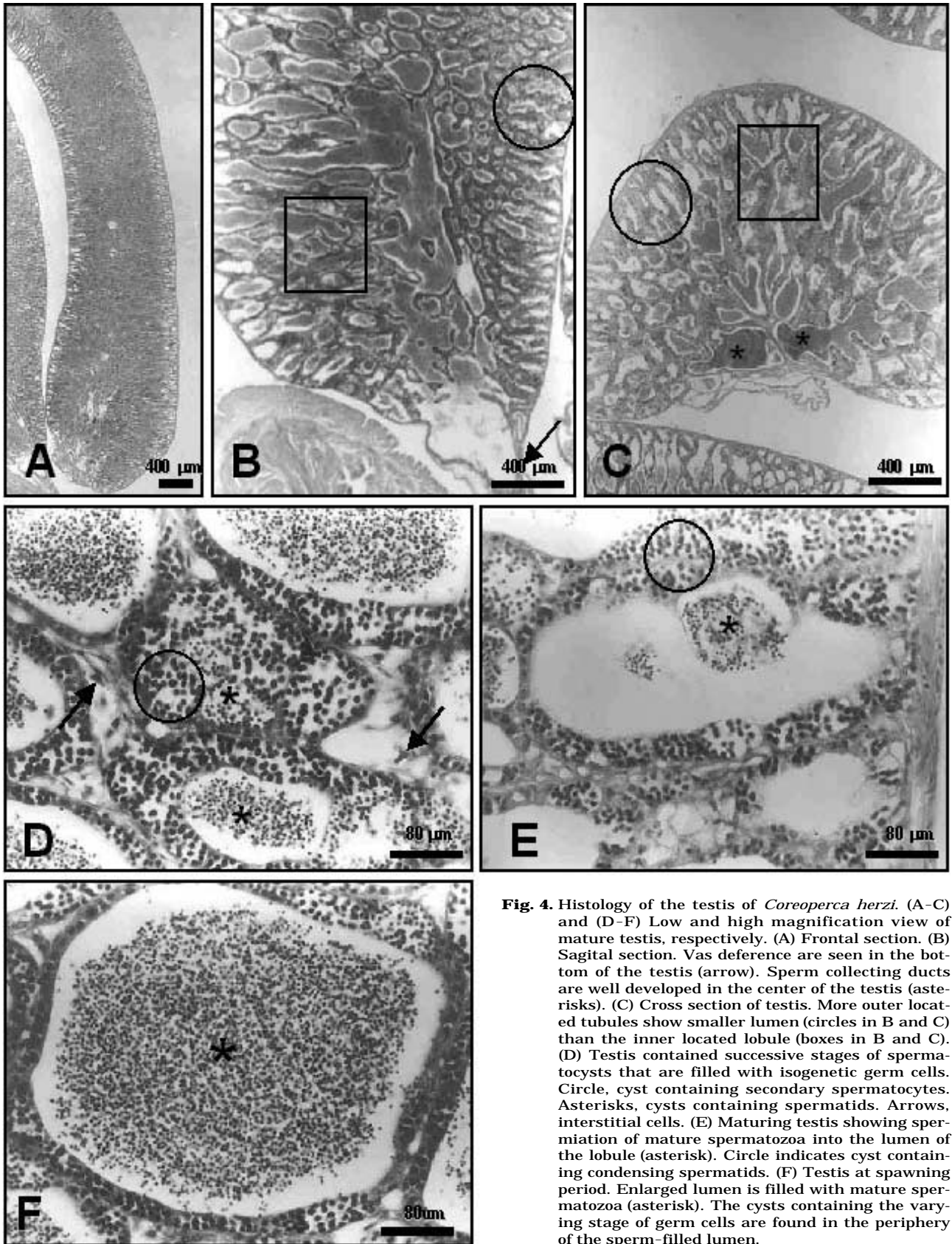


Fig. 4. Histology of the testis of *Coreoperca herzi*. (A-C) and (D-F) Low and high magnification view of mature testis, respectively. (A) Frontal section. (B) Sagittal section. Vas deference are seen in the bottom of the testis (arrow). Sperm collecting ducts are well developed in the center of the testis (asterisks). (C) Cross section of testis. More outer located tubules show smaller lumen (circles in B and C) than the inner located lobule (boxes in B and C). (D) Testis contained successive stages of spermatocysts that are filled with isogenetic germ cells. Circle, cyst containing secondary spermatocytes. Asterisks, cysts containing spermatids. Arrows, interstitial cells. (E) Maturing testis showing spermiation of mature spermatozoa into the lumen of the lobule (asterisk). Circle indicates cyst containing condensing spermatids. (F) Testis at spawning period. Enlarged lumen is filled with mature spermatozoa (asterisk). The cysts containing the varying stage of germ cells are found in the periphery of the sperm-filled lumen.

결 과

1. 정소의 조직학

신장된 정소의 선단은 뾰족하며 후단은 둥근 형태를 나타내며 전체적으로는 썩기모양의 외형을 갖는다. 배측은 곡면이며 복측은 편평한 형태를 갖는다 (Figs. 3, 4A). 정소의 등쪽면 정소낭 하부로 정소동맥 (testicular artery)이 긴 세로주름 (longitudinal fold)를 따라 분포한다 (Fig. 3). 정소는 좌우 측이 대칭이며 복강의 등쪽에 위치하며 장간막에 의해 정소의 선단은 흉막에 연결되며, 길이를 따라 부레에 부착하며 미부에서 주생식관 (vas deference)과 연결된다. 좌우측 정소에서 기원된 한 쌍의 주생식관은 생식관으로 연결된다 (Fig. 3).

성숙기인 5월에 채집된 개체의 정소의 소엽에는 2차 정모세포 (secondary spermatocyte), 구형정세포 (round spermatid), 응축정세포 (condensing spermatid) 등 감수분열 중 또는 분열 후 분화 단계를 거치는 생식세포들로 구성된 소낭세포 (cyst cell)로 충만하다 (Fig. 4D-E). 각 소엽 및 소낭의 크기는 정자형성 단계에 따라 차이를 보이며 정소 전체적으로는 피질 부위에 소형의 소엽의 발달이 뚜렷한 반면 (Fig. 4B and C) 정소 조직 내부에는 관강의 크기가 확장된 소엽이 발달한다 (Fig. 4B and C). 각 소엽마다 소낭을 구성하는 생식세포의 정자형성 단계에는 차이가 있으나 6월의 산란기에 임박하여서는 대부분 소엽의 내강에 성숙된 정자들이 충만하다 (Fig. 4F). 그러나 여전히 관강의 외부에는 1차 정모세포, 2차 정모세포, 정세포 등을 가두고 있는 소낭들이 관찰된다 (Fig. 4F). 정소조직의 복측 중앙부에는 소엽들과 연결된 수출관 (efferent duct)이 발달한다 (Fig. 4C). 번식시기에 임박한 정소의 수출관에는 고밀도의 정자들로 충만하다 (Fig. 4F).

2. 정자의 구조

6월 초순에 채집한 개체의 정소를 가위로 잘라 생리식염수에 혼탁시키면 상층액에 운동성이 있는 정자가 다수 관찰되었다 (Fig. 5A). 정자의 길이는 43 μm로 측정되었다. 원형의 정자의 두부 선단은 CBB에 염색되었다 (Fig. 5A and B). 두부의 길이는 2.2 μm, 두부 바로 밑에 위치한 중편의 길이는 0.5 μm이며 CBB에 의해 진하게 염색되었다 (Fig. 5B). 꼬리의 길이는 40 μm로 CBB에 의해 약하게 염색되었다 (Fig. 5C).

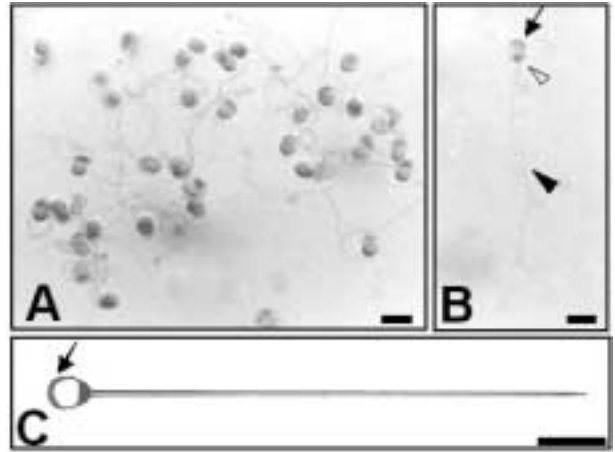


Fig. 5. Spermatozoa of *Coreoperca herzi*. (A) Dry smear of sperm mass stained with Coomassie brilliant blue (CBB). (B) Spermatozoon. (C) Schematic drawing of spermatozoon. Arrow indicates CBB positive structure in the head. Open arrowhead, midpiece. Solid arrowhead, tail. Bar = 5 μm.

고 찰

경골어류의 정소는 소엽형 (lobule type)과 관상형 (tubule type)으로 구분된다 (Loir et al., 1995). 본 실험 결과 꺼지는 전형적인 소엽형 정소를 갖는 것을 확인하였다. 미성숙한 생식세포들을 갖는 소낭세포들은 주로 정소의 피질부위에 존재하는 반면 성숙한 정자를 함유하는 소낭세포들은 정소 조직의 복부측에 위치하고 이어서 수출관과 연결되므로 정소조직 전체로는 소엽의 구성이 정자형성 단계에 따라 구심성으로 배열하고 있는 것을 알 수 있다. 소엽형 정소의 각 소엽은 다양한 정자형성 단계의 생식세포를 둘러싸고 있는 소낭세포 (cyst cell) 들로 구성된다. 소낭은 대부분의 경골어류에서 Sertoli cell로 구성되며 각각의 소낭 속에 존재하는 양성 생식세포들은 동일한 감수분열 또는 감수분열 후 정자로의 분화 단계를 갖는 유전적 동기화 (isogenetic)된 특징을 갖는다 (Loir et al., 1995). 꺼지의 경우도 전형적인 소낭 구조와 함께 소낭 내부의 양성 생식세포의 발달이 동기화 된 특징을 갖는 것으로 사료된다. 생식소 성숙 초기 (5월)의 정소 조직 내의 소낭들은 정자형성 단계가 상이한 반면 번식기 (6월)에 근접하여서는 정소 조직의 관강 내에는 소낭으로부터 빠져 나온 정자들이 충만하므로 암컷의 대규모적인 산란과 수정을 뒷받침할 수 있을 것으로 사료된다. 꺼지 수컷의 생식소지수 (gonadosomatic index)는 5월 중순으로부터 서서히 증가

하여 6월말까지 높은 값을 보이며 이후로 서서히 감소하여 8월 이후부터는 5월의 1/2 이하로 감소하므로 6월 하순의 대규모 산란과 수정 이후에도 하계에 걸쳐 지속적인 번식이 진행됨을 알 수 있다(계 등, 1997). 본 연구 결과 6월 번식기의 정소의 관강의 외부에는 1차 정모세포, 2차 정모세포, 정세포 등을 가두고 있는 소낭들이 관찰되므로 6월의 주변식기에 이어 하계에 걸쳐 계속되는 산발적 번식에 요구되는 성숙 정자 생산을 보장하기 위한 정자형성 기작을 반영하는 것으로 된다.

꺼지의 정자는 43 μm 길이로 두부는 둥글고 잘 발달된 중편과 꼬리를 가지는 전형적인 경골어류 정자의 형태를 보였다. 본 실험에 사용한 CBB는 단백질과 결합하여 청색을 나타내는 염료로 생쥐 등 포유류 정자의 침체를 강하게 염색하는 특성을 갖는다(Moller *et al.*, 1990). 대부분의 경골어류에서 정자 두부에 침체(acrosome)가 발달하지 않으며 대부분 난문(micropyle)을 통해 난자의 용모막을 통과하여 난자내로 진입하는 방식으로 수정이 일어난다(Nagahama, 1983; Nakashima and Iwamatsu, 1994). 반면에 myxiniformes인 hagfish (*Eptatretus burgeri*), elasmobranch (*Schroederichthys chilensis*) 및 paddlefish (*Polyodon spathula*)의 정자의 두부 선단에는 침체와 작은 소포들이 발달하며 침체효소 활성이 검출된다(Morisawa, 1999; Ciereszko *et al.*, 2000; Rojas and Esponda, 2001). 이처럼 정자 두부에 침체가 발달하는 경우는 원시적인 어류에서 관찰된다. 농어목 경골어류인 꺼지의 정자의 두부의 선단에 CBB에 의해 염색되는 구조물이 발견되므로 침체 또는 흔적적인 침체의 발달이 있는 것으로 사료된다. 이 구조물이 침체 인지의 여부는 미세구조 연구를 통해 규명될 수 있을 것이다.

적 요

한국산 꺼지 번식에 대한 연구의 일환으로 정소 및 정자의 형태적 특징을 조사하였다. 2001년 5월부터 10월에 걸쳐 북한강 지류인 수입천 지역에 서식하는 꺼지 (*Coreoperca herzi*)를 채집하여 분석하였다. 정소는 흰색을 띠며 췌기모양을 하고 복강의 등쪽에 좌우 균등하게 발달하였다. 동일한 정자형성 단계에 있는 생식세포들이 소낭세포에 싸여 발달하며 여러 개가 모여 소엽구조를 형성한다. 각 소엽은 여러 개의 소낭들로 구성되며 소낭들은 각각 속에 들어 있는 생식세포의 정자형성 단계가 상이하였다. 정자는 길이는 43 μm 로 둥근 형태의 두부

는 2.2 μm 길이이며 0.5 μm 길이의 중편이 두부 밑에 발달한다. 미부의 길이는 40 μm 이다. Coomassie brilliant blue 염색 결과 정자의 두부 선단에 강한 염색을 확인하였는데 침체를 발달시키는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2002년 한양대학교 교내연구비의 지원에 의해 수행되었음.

인 용 문 헌

- 계명찬, 정규희, 유명선. 1997. 북한강 지류산 꺼지 (*Coreoperca herzi*)의 생식소 성숙에 관한 연구. 환경생물학회지 **15**: 201-205.
- 전상린. 1986. 한국산 농어과 주연성담수어의 검색과 분포. 생명여대논문집 **18**: 143-163.
- 정문기. 1977. 한국어도보. 일지사, 서울.
- Ciereszko, A., K. Dabrowski, S.D. Mims and J. Glogowski. 2000. Characteristics of sperm acrosin-like activity of paddlefish (*Polyodon spathula* Walbaum). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **125**: 197-203.
- Loir, M., P. Sourdain, S.M. Mendis-Handagama and B. Jegou. 1995. Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranchs. *Microsc. Res. Tech.* **32**: 533-52.
- Moller, C.C., J.D. Bleil, R.A. Kinloch and P.M. Wassarman. 1990. Structural and functional relationships between mouse and hamster zona pellucida glycoproteins. *Dev. Biol.* **137**: 276-284.
- Morisawa, S. 1999. Acrosome reaction in spermatozoa of the hagfish *Eptatretus burgeri* (Agnatha). *Dev. Growth Differ.* **41**: 09-12.
- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. p. 223-275. In: *Fish Physiology* (Hoar, W.S., D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds.). Vol. IX. Academic Press, New York.
- Nakashima, S. and T. Iwamatsu. 1994. Ultrastructural changes in micropylar and granulosa cells during in vitro oocyte maturation in the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool.* **270**: 547-556.
- Rojas, M.V. and P. Esponda. 2001. Plasma membrane glycoproteins during spermatogenesis and in spermatozoa of some fishes. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* **33**: 33-40.

(Received 5 June 2002, Manuscript accepted 15 Aug. 2002)