

꼬치동자개 (*Pseudobagrus brevicorpus*) 정자의 미세구조와 계통적 고찰 (경골어류, 메기목, 동자개과)

김구환* · 이준일
대구보건대학 방사선과

Ultrastructure of Spermatozoa of the Slender Catfish, *Pseudobagrus brevicorpus* (Teleostei, Bagridae) with Phylogenetic Considerations

Kgu Hwan KIM* and Joon Il LEE

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

Morphology of the spermatozoa from the testes of the catfish (*Pseudobagrus brevicorpus*) was studied by transmission and scanning electron microscopy. The spermatozoa of *P. brevicorpus* are approximately $82.25 \pm 0.06 \mu\text{m}$ in length and relatively simple cells composed of a spherical head, a short midpiece and a tail as in most teleost fish. The nucleus measuring about $2.00 \pm 0.02 \mu\text{m}$ in length is depressed with a deep nuclear fossa of about $1.05 \pm 0.03 \mu\text{m}$ in length three fifths of the nuclear length. The nuclear fossa contains the proximal and distal centrioles. The two centrioles are oriented approximately 150° to each other. The mitochondria are arranged in two layers and their number is 12 or more. They are separated from the axoneme by the cytoplasmic canal. The axoneme is the 9+2 microtubular pattern and has inner but no outer dynein arms as in other bagrids. The axonemal fins were the closed to axonemal doublet 3 and 8. The axonemal fins and lost outer dynein arm are shared in Bagridae and the deep nuclear fossa is shared in Siluriformes. The axonemal fins observed in Bagridae and Amblycipitidae of Siluriformes might be the apomorphic character in Ostariophysii.

Key words: Sperm, Ultrastructure, Teleostei, Bagridae

서 론

경골어류 정자의 미세구조에 관한 연구는 다양한 종에서 밝혀져 왔으며 (Billard, 1970; Mattei, 1991) 그 자료를 토대로 비교 분석하여 정자미세구조를 계통학적 분석에 이용하고 있다 (Jamieson, 1991). 그러나 메기류 정자의 미세구조 연구는 *Ictalurus punctatus* (Poirier and Nicholson, 1982), *Clarias senegalensis* (Mattei, 1970), *Silurus glanis*, *Liocassius ussuriensis* (Emel'yanova and Makeyeva, 1991) 등의 일부 종에서만 보고 되어 있었으나, 최근 본 연구진을 중심으로 *Silurus asotus* (Kwon et al., 1998), *Silurus microdorsalis* (Lee and Kim, 2001), *Liobagrus mediadiposalis* (Lee and Kim, 1999), *Leiocassius ussuriensis* (Kim and Lee, 2000) 등에서 그 특징을 계통연구의 기초자료로 보고하고 있다. 메기류 정자는 하등 경골어류 정자의 전형적인 형태 즉, 침체가 없고 중편이 짧으며 긴 꼬리를 가지고 있으나, 각 부위별 미세구조에서는 구별되는 구조적 특징이 나타나고 있다.

본 연구는 멸종위기종으로 지정되어 있는 꼬치동자개 (*Pseudobagrus brevicorpus*) (MERK, 2002) 정자의 미세구조를 밝히고 그 결과를 토대로 인접분류군에서 선행연구된 종과 비교 검토하여 종 간의 유연관계를 고찰하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료는 2000년과 2001년의 4월부터 7월까지 번식시기에 금호강의 경상북도 영천시 자오천 일대에서 성숙한 수컷 꼬치동자개 (*P. brevicorpus*)를 죽대와 통발을 이용하여 포획한 개체들이다. 채집된 재료는 휴대용 기포발생기를 이용하여 활어 상태로 실험실로 운반하였고 해부 후 정소를 추출하였다. 연구방법은 위상차현미경, 투과전자현미경 및 주사전자현미경적 방법으로 접근하였고 그 세부내용은 다음과 같다.

위상차현미경적 방법

정자 전체의 길이를 측정하기 위하여 0.85% NaCl 용액에서 정소를 적출하여 위상차현미경 (Carl Zeiss Jenamed 2)로 검경하였다.

투과전자현미경적 방법

정소조직을 구분하여 1-2.5% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde (4°C phosphate buffer, pH 7.2) 용액에서 2시간 전고정하고 고정된 정소조직을 완충용액(4°C phosphate buffer, pH 7.2)으로 10분간 3회 수세한 후 1% osmium tetroxide에서 후고정 하였으며, 고정된 재료는 동일 완충용액으로 수 회 세척한 후, ethanol 농도상승순 (50% → 100%)으로 탈수하고, pro-

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

pylene oxide로 치환하여 Epon 812 혼합액에 포매한 다음 35°C, 45°C 및 60°C 순으로 vacuum dry oven에서 중합반응시켰다. 포매된 재료는 ultramicrotome (MTXL)으로 초박절편을 만들어 copper grid에 부착시킨후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (H-7500)으로 검경하였다.

주사전자현미경적 방법

투과전자현미경적 방법과 동일한 전고정 과정을 거쳤고 완충용액과 ethanol로 수세한 다음 iso-amylacetate로 치환하여 임계점건조법으로 건조한 후 IB-5로 ion coating하여 주사전자현미경 (S-4100)으로 검경하였다.

결 과

꼬치동자개 (*P. brevicorpus*) 정자는 그 길이가 $81.25 \pm 0.06 \mu\text{m}$ 인 신장된 세포로 구형의 두부, 짧은 중편 및 긴 미부로 구성되어 있었다 (Fig. 1A).

두부 (Head)

두부는 첨체가 없는 단순한 구조로 되어 있으며 폭 $2.1 \pm 0.01 \mu\text{m}$, 길이는 $2.0 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 이었다. 핵은 구형이고 고도로 농축된 염색질을 포함하고 있으며 핵의 기저부에는 핵막이 $1.05 \pm 0.03 \mu\text{m}$ 함입되어 형성된 1개의 핵와 (nuclear fossa)가 있었다 (Figs. 1B, 1C). 핵와는 기부 중심립과 말단부 중심립 및 축사의 전반부를 포함하고 있었다 (Figs. 1B, 1D, 2A).

중심립 (Centrioles)

두 중심립은 핵와 안에 위치해 있으며 말단부중심립은 세포의 장축방향으로 놓여져 있으나 기부중심립은 말단부중심립에 대하여 약 150° 정도 기울어져 있었다 (Fig. 1B). 두 중심립 사이에는 전자밀도가 높은 판구조물이 위치해 있었다 (Fig. 1B). 중심립과 핵사이는 방사상으로 펼쳐진 구조물에 의해서로 연결되어 있었다 (Fig. 1D).

중편 (Midpiece)

중편은 두부와 미부사이에 있으며 최대 폭이 $1.7 \pm 0.03 \mu\text{m}$ 로 중편 세포질과 미토콘드리아를 포함하고 있었다 (Fig. 1B). 중편에는 핵 방향으로 세포질이 함입된 세포질관 (cytoplasmic canal)이 형성되어 있는데 (Fig. 1B) 이 세포질관은 핵의 기저부 안쪽으로 깊이 파고들어 있었다 (Figs 1E, 2A, 2B). 세포질관의 최대직경과 길이는 $0.6 \pm 0.007 \mu\text{m}$, $0.80 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 이었다 (Fig. 1B).

미토콘드리아는 중편세포질에서부터 핵와 안에 이르기까지 전체 12개가 2층으로 6개씩 배열되어 축사를 둘러싸고 있으나 세포질관 (cytoplasmic canal)에 의하여 축사와는 분리되어 있었다 (Figs. 1E, 2A-2C).

미부 (Tail)

미부는 그 길이가 $79.20 \pm 0.6 \mu\text{m}$ 이고 축사는 9+2 이중미세소관으로 구성되어 있으며 축사에 부속되어 돌출된 axonemal

fins는 핵와와 중편세포질에서는 뚜렷하지 않으나 (Figs. 1C-1E, 2A, 2B) 미부에서는 뚜렷하게 돌출되어 있었다 (Fig. 2C). Axonemal fins의 돌출 방향은 축사의 이중미세소관의 3번과 8번의 바깥쪽으로 원형질막이 신장되어있고, 한쪽 fin의 최대 길이가 $0.55 \pm 0.05 \mu\text{m}$ 이며 이중미세소관의 디네인 외완 (outer dynein arm)은 관찰되지 않았다 (Fig. 2C).

고 찰

꼬치동자개 (*P. brevicorpus*) 정자의 미세구조는 대부분의 메기류 정자 구조와 유사하였다. 즉, 깊이 함입된 핵와를 갖고 있는 구형의 핵, 짧은 중편과 길게 신장된 미부로 구성되어 있었다. 그러나 그 미세구조를 살펴보면 중심립의 각도와 미토콘드리아의 수와 배열, 미부의 axonemal fins에서 차이가 있었다. Fig. 3 에서 전체적인 구조를 중단, 횡단하여 재구성하였다.

꼬치동자개 정자의 깊이 함입된 핵와는 현재까지 밝혀진 메기류 정자에서 관찰되고 있으나 (Mattei, 1970; Emel'yanova and Makeyeva, 1991; Lee and Kim, 1999, 2001) 인접 하위분류군인 잉어목 (Cypriniformes) (Baccetti et al., 1984; Lee and Kim, 1998)과 Characiformes (Mattei et al., 1995) 에서는 핵와의 함입이 깊지 않고 얇게 나타나고 있었다. 따라서 메기목에서 나타나는 깊이 함입된 핵와는 메기목에서만 나타나는 신파생형질 (synapomorphy)로 사료된다.

어류 정자의 중심립의 각도는 종에 따라 다양하게 나타나고 있다 (Jamieson, 1991). 메기류에서 정자의 중심립 각도는 3가지 유형으로 구분할 수가 있는데 직각을 나타내고 있는 *Silurus glanis* (Emel'yanova and Makeyeva, 1991)와 둔각으로 배열하는 *Pseudobagrus fulvidraco* (Lee, 1998), *Silurus asotus* (Kwon et al., 1998), *Leiocassis ussuriensis* (Kim and Lee, 2000), *S. microdoralis* (Lee and Kim, 2001)와 마지막으로 두 중심립이 평행하게 배열된 *Amiurus nebulosus* (Emel'yanova and Makeyeva, 1991), *Liobagrus mediadiposalis* (Lee and Kim, 1999)로 구분할 수가 있다. Jamieson (1991)에 따르면 어류정자에서 기부중심립이 말단부중심립에 대하여 직각인 것이 원시형질 (plesiomorphic feature)로 보고 하였다.

꼬치동자개 정자의 미토콘드리아 배열 층 수는 2층 구조를 하고 있어 다른 동자개과 어류에서 (Lee, 1998; Kim and Lee, 2000) 나타나는 2-3층 구조와 유사하다. 중편에 분포하는 미토콘드리아의 수는 각 층에 6개씩 분포하여 전체 12개로 나타나고 있었다. 그러나 미토콘드리아의 수는 같은 Bagridae과 내에서도 *Pseudobagrus fulvidraco* 20개 (Lee, 1998), *Leiocassis ussuriensis* 10개 (Kim and Lee, 2000)로 나타나고 있어 차이가 있다. 메기류내에서 미토콘드리아의 수를 살펴보면 메기과 8-10개 (Kwon, et al., 1998; Lee and Kim, 2001), 동자개과 10-29개 (Lee, 1998; Kim and Lee, 2000), 자가사리과 40-50개 이상 (Lee and Kim, 1999)으로 나타나고 있었다. 경골어류정자에서 미토콘드리아의 수와 분포는 다양하게 보고 되어

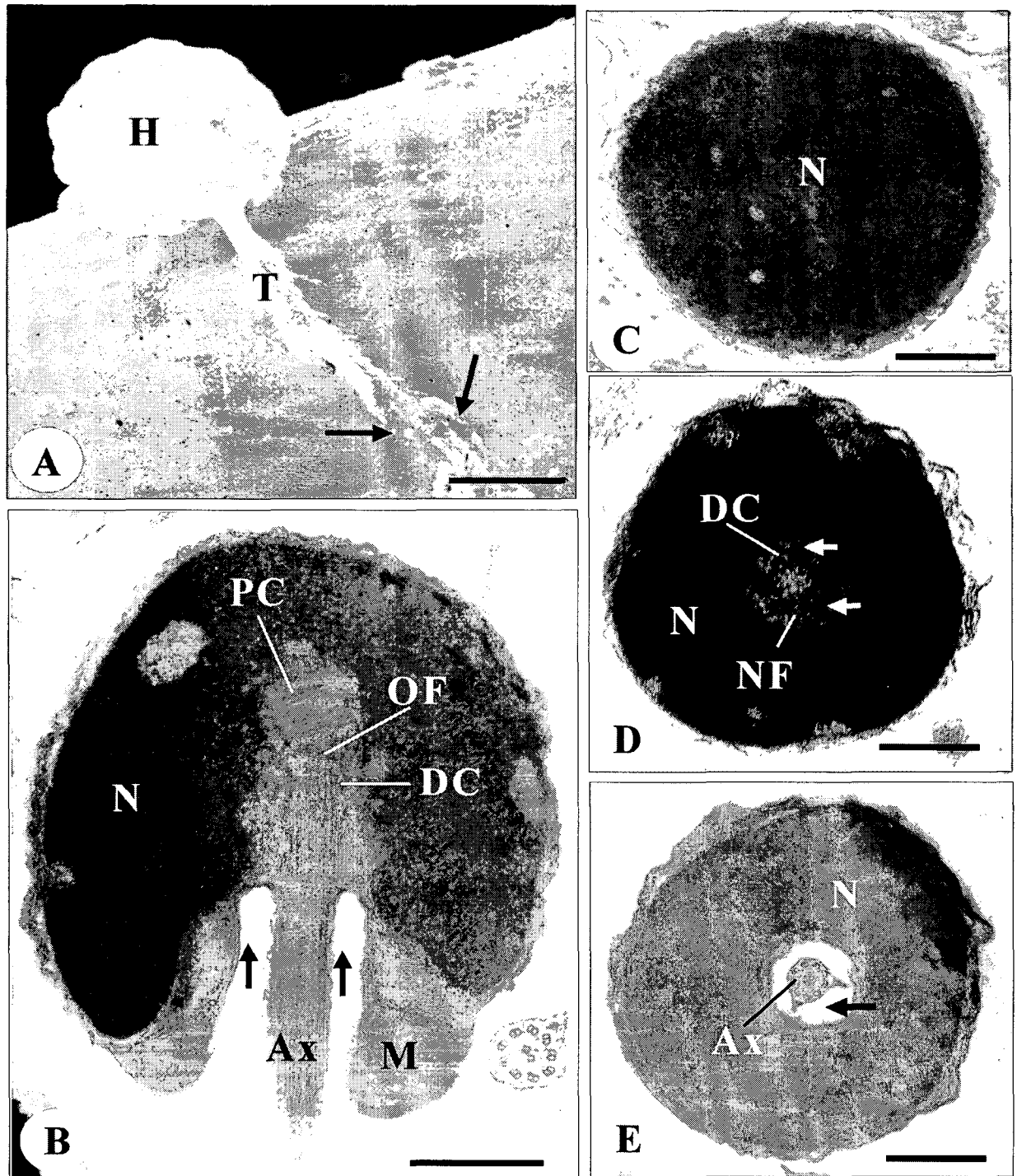


Fig. 1. A: Scanning electron micrograph of spermatozoa of *Pseudobagrus brevicorpus* showing the head (H), the tail (T) and the axonemal fins (arrows). Bar = 1 μm . B: Longitudinal section through a spermatozoon showing the spherical nucleus (N) containing the proximal centriole (PC) and the distal centriole (DC) in a nuclear fossa, osmiophilic filament (OF) the mitochondria (M), and the axoneme (Ax). Note two centrioles forming an angle of approximately 150° and the cytoplasmic canal (arrows) between the midpiece and the axoneme (Ax). Bar = 0.5 μm . C: Transverse section of the anterior region of nucleus (N). Bar = 0.5 μm . D: Transverse section through the nucleus showing the distal centriole and a nuclear fossa (NF). Note satellite rays (arrows) radiating from the outer surface of centriole. Bar = 0.5 μm . E: Transverse section through the nucleus showing the axoneme (Ax) and cytoplasmic canal (arrow). Bar = 0.5 μm .

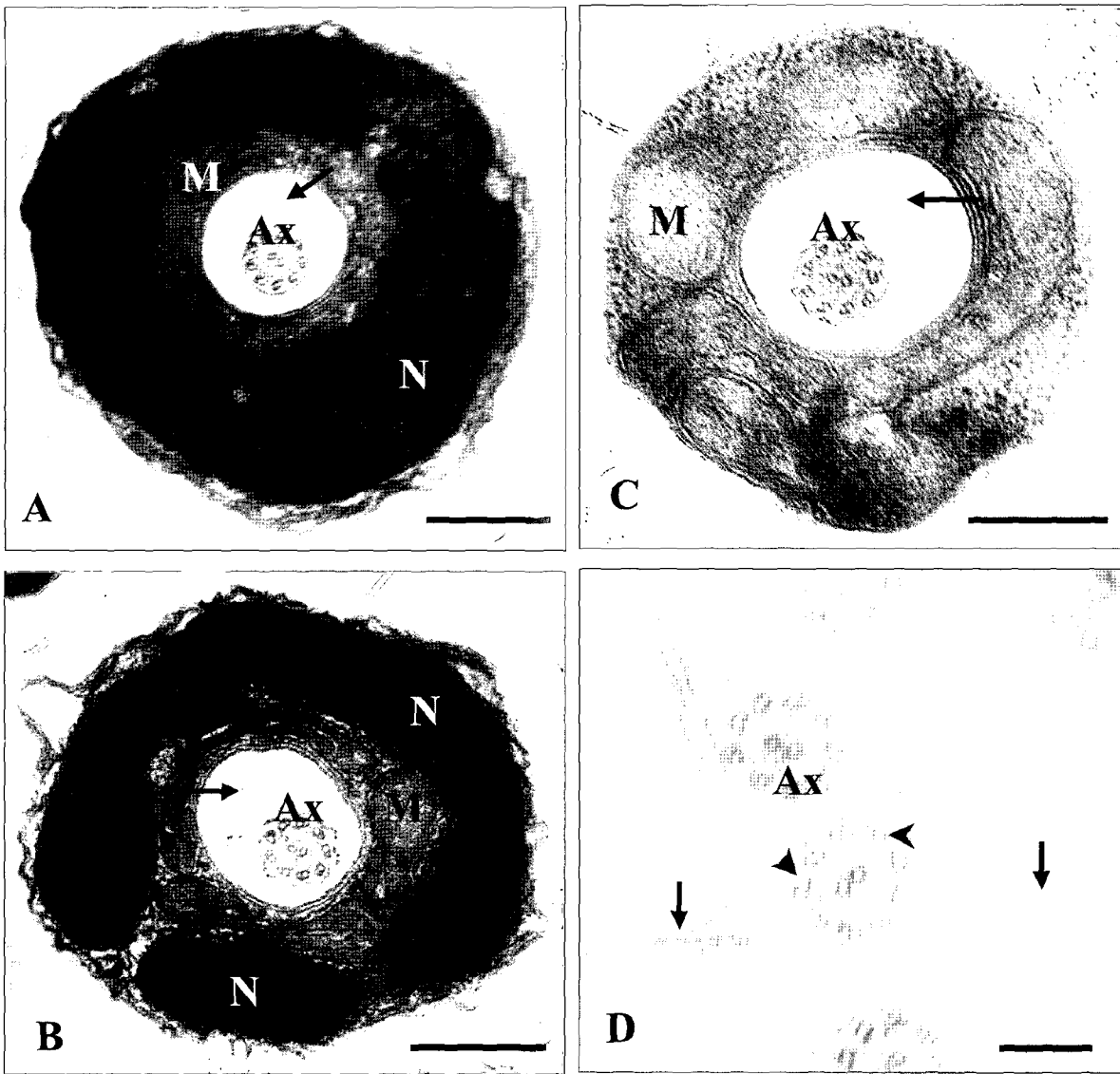


Fig. 2. A: Transverse section through the nucleus of *Pseudobagrus brevicorpus*. Note the mitochondria are surrounding tail are separated from the axoneme by the cytoplasmic canal (arrow). Bar = 0.5 μm . B: Transverse section through the basal part of the nucleus (N) and the beginning midpiece showing the mitochondria (M) and cytoplasmic canal (arrow). Bar = 0.5 μm . C: Transverse section of the midpiece containing the mitochondria (M). They are separated from the axoneme by the cytoplasmic canal (arrow). Bar = 0.5 μm . D: Transverse section of the tail showing a pair of axonemal fins (arrows). Note the absence of outer dynein arm (arrowheads). Bar = 0.25 μm .

있다 (Baccetti et al., 1984; Jamieson, 1991; Mattei, 1991). 메기류의 미토콘드리아는 인접분류군인 잉어류에 비하여 그 분포양상에서 구분되고 있었다. 중편에서 미토콘드리아의 배열은 잉어류 (Baccetti et al., 1984; Lee and Kim, 1998; Kim et al., 1998)가 축사를 중심으로 비대칭적인 구성을 하고 있는 반면, 메기류 (Emel'yanova and Makeyeva, 1991; Kim and Lee, 2000; Lee and Kim, 2001)는 대칭적 배열을 하고 있다. 잉어류에서는 미토콘드리아의 수가 계통학적 관점에서 좋은 형질로 알려져 있다 (Baccetti et al., 1984).

Axonemal fins는 어류 정자의 미부에서 종에 따라 관찰되

는 구조물이다 (Billard, 1970; Nicander, 1970; Afzelius, 1978; Gwo et al., 1996). 메기류에서는 axonemal fin의 출현양상에 차이가 있다. 즉, axonemal fins가 관찰되는 종류는 동자개과 (Bagridae) (Lee, 1998), 자가사리과 (Amblycipitidae) (Lee and Kim, 1999)이고, 메기과 (Siluridae) (Kwon et al, 1998; Lee and Kim, 2001), Ictaluridae (Poirier and Nicholson, 1982; Emel'yanova and Makeyeva, 1991)에서는 axonemal fins가 나타나지 않았다. 따라서 axonemal fins 구조물로 볼 때 동자개과와 자가사리과가 유연관계가 가깝고, 메기과와 붕메기과가 서로 밀접한 것으로 볼 수 있다. 한편 인접 하위 분류군인

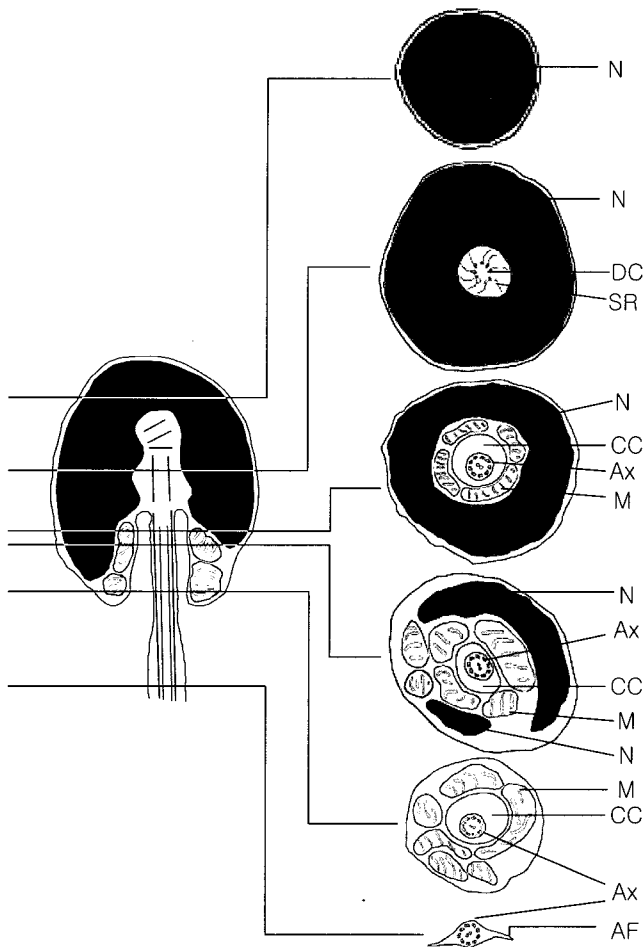


Fig. 3. Graphic illustration of longitudinal and transverse sections of through the mature spermatozoon of *Pseudobagrus brevicorpus*. AF: axonemal fins; Ax: axoneme CC: cytoplasmic canal; DC: distal centriole M: mitochondria; N: nucleus; NF: nuclear fossa SR: satellite rays.

Cypriniformes와 Characiformes에서는 axonemal fins가 관찰되지 않고 있어 메기류내에서 axonemal fins가 없는 것은 apomorphic character로 사료된다.

참고 문헌

- Afzelius, B.A. 1978. Fine structure of the garfish spermatozoon. *J. Ultrastruct. Res.*, 64, 309-314.
- 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.*, 1, 373-396.
- Billard, R., 1970. Ultrastructure comparée de spermatozoïdes de quelques poissons Téléostéens. In: *Comparative Spermatology*. Baccetti, B. ed. Cambridge Univ. Press, London, pp. 71-79.
- Emel'yanova, N.G. and A.P. Makeyeva. 1991. Ultrastructure of spermazoids of some representative catfishes. *Vopr. Ichthyol.*, 31, 1014-1019.
- Gwo, J.C., X.W. Lin, 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.
- Jamieson, B.G.M. 1991. *Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa*. Cambridge Univ. Press, Sydney, pp. 135-148.
- Kim, K.H., A.S. Kwon and Y.H. Lee. 1998. Spermatozoal ultrastructure and phylogenetic relationships of the subfamily gobioninae (Cyprinidae) 2. Ultrastructure of spermatozoa in the Korean gudgean, *Squalidus chankaensis tsuchigae*. *Kor. J. Limnol.*, 31, 159-164.
- Kim, K.H. and Y.H. Lee. 2000. The ultrastructure of spermatozoa of the Ussurian bullhead, *Leiocassis ussuriensis* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae) with phylogenetic considerations. *Kor. J. Limnol.*, 33, 405-412.
- 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). *Kor. J. Electron Microscopy*, 28, 39-48.
- Lee, Y.H. and K.H. Kim. 1998. 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. *Kor. 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. 1970. Spermio-genèse comparée des poissons. In: *Comparative Spermatology*. Baccetti, B. ed. Cambridge University Press, London, pp. 57-69.
- Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Can. J. Zool.*, 69, 3038-3055.
- Mattei, X., B. Marchand and O.T. Thiaw. 1995. Unusual midpiece in the spermatozoon of a teleost fish, *Citharinus* sp.. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27, 189-

191.
MERK (Ministry of Environment Republic of Korea).
2002. Environmental Protection in Korea, pp. 267.
(in Korean)
- Nicander, L. 1970. Comparative studies on the fine structure of vertebrate spermatozoa. In: Comparative spermatology. Baccetti, B. ed. Cambridge Univ. Press, London, pp. 47-55.
- Poirer G.R. and N. Nicholson. 1982. Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Ultrastruc. Res.*, 80, 104-110.
-
- 2003년 8월 28일 접수
2003년 10월 22일 수리