

## 큰가시고기 배우자의 미세구조

등 영 건\*, 김 동 희, 류 동 석<sup>1</sup>

연세대학교 원주의과대학 기초과학교실 · 연세대학교 기초의학연구소,  
<sup>1</sup>청주대학교 생물학과

### Ultrastructure of Gametes in the Three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*

Young Kun Deung\*, Dong Heui Kim and Dong Suck Reu<sup>1</sup>

Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science,  
Wonju College of Medicine, Yonsei Univ., <sup>1</sup>Dept. of Biology, Chongju Univ.

(Received March 6, 1999)

#### ABSTRACT

Ultrastructure of gametes in the three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus* was observed, utilizing light, scanning and transmission electron microscopes.

The egg of three-spine stickleback is spherical and demersal type. The eggs are highly adhesed to each other but not to substrates. There are many oil droplets in vitelline membrane. The outer surface of egg envelope is arranged by mushroom-like structures and pore canals. The egg have a micropyle, sperm entry site, in the area of the animal pole. The egg envelope consists of three layers, an outer layer with high electron density, a middle layer consisting two layers and an inner layer consisting of 16 to 20 layers. In the fertilized egg envelope, the molecular weights of these components ranged from 14 kDa to 205 kDa. The molecular weights of main protein bands are 19.4 kDa, 36.7 kDa, 39.4 kDa, 42.9 kDa, 46.1 kDa and 53.0 kDa. The head of spermatozoa is spherical shape and the acrosome is absent. The mitochondria in midpiece are arranged from one to three layers and separated from the axoneme by the cytoplasmic canal. The tail has two lateral fins and the axoneme is of the 9+2 structure.

**Key words** : Three-spine stickleback, Egg, Sperm, Ultrastructure

#### 서 론

경골어류의 배우자에 관한 연구는 정자형성, 난자

형성 및 수정과정으로 나뉘어 일부 어종에서 연구되어 왔고 이 과정들은 종간에서 차이를 보일 뿐만 아니라 동종간에서도 그들의 수정방식이나 생식습성 또는 서식환경에 따라 다양한 것으로 알려져 있다

본 연구는 1998년도 연세대학교 원주의과대학 학술연구비로 이루어졌음.

\*Correspondence should be addressed to Dr. Young Kun Deung, Department of Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162 Il San-Dong, Wonju, Kangwon-Do 220-701 Korea. Ph: (0371) 741-0351, FAX: (0371) 732-4446, E-mail: kdnhfish@soback.kornet.nm.kr

Copyright © 1999 Korean Society of Electron Microscopy

(Wolenski and Hart, 1987).

일반적으로 경골어류의 정자형성과정은 고등한 포유류와는 달리 세정관에서 이루어지지 않고 정소낭에서 이루어지는데 대부분 부정소가 없다. 또한 다른 척추동물과는 달리 정자의 두부에 첨체가 존재하지 않기 때문에 (Billard, 1984; Gwo and Gwo, 1993) 난막의 동물극쪽에 위치하고 있는 난문(micropyle)을 통해서 수정이 이루어지며 난문의 직경이 난막 안쪽으로 들어갈수록 작아지기 때문에 다수정을 제한하는 기능도 수행한다. 어류의 난자형성과정은 초기성장, 난황포 형성, 난황형성 및 성숙의 4단계로 구분되며, 수온, 광주기, 광도, 수질 등 환경요인에 의해 결정된다. 난자는 비세포성 난막에 의해 둘러싸여 있어서 배가 외부환경으로부터 받는 물리적인 충격 및 화학물질에 방어하고 확산에 의한 기체교환의 기능을 수행한다(Grierson and Niville, 1981; Cameron and Hunter, 1984). 난막은 주로 당단백질로 구성되어 있으며 (Cotelli et al., 1986; Brivio et al., 1991) 난막의 외부에는 종에 따라 여포세포로부터 형성되는 것으로 알려진 (Anderson, 1974) 부속구조물들이 분포하는 경우가 있는데 과(Family) 및 종에 따라서 다양한 형태를 보유하고 있다.

지금까지 일반적인 정자 및 난자형성과정에 대한 연구는 일부 어종에서 이루어져 왔으나 성숙한 정자와 난자에 대한 연구는 실험실내에서 어류의 양어, 암수구별 및 산란이 매우 어렵기 때문에 양어 및 산란이 쉬운 몇몇 어종 또는 산업적 유용성에 따라서 식용어류에서 집중적으로 연구되었으며, 대부분 담수어류에 대한 연구가 많고 국내에 서식하는 어종의 경우는 일부 어종에서 연구된 바 있으나 한국어류의 정자와 난자의 구조는 분류체계에 따른 체계화가 전혀 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구는 한국어류의 정자 및 난자구조를 분류체계에 따른 체계화 작업의 일환으로 비산란기에는 바다 연안에서 서식하다가 산란기에 산란을 위해 강의 하구로 올라오는 습성을 보유하고 있는 큰가시고기를 실험재료로 선정하여 이런 산란습성은 해수에서 담수로 이동한다는 점에서 지금까지 우리가 연구해 왔던 담수어류 및 일부 해수어류와 삼투 적응 기간이 필요하고, 이런 환경에 난자와 정자가

적응되어 있기 때문에 형태학적으로 일반 어류와 서로 다를 것으로 생각되어 이들 배우자의 미세구조, 첨체 및 난문의 유무, 난문의 미세구조, 난막의 외부 및 내부형태와 부속구조물의 형태를 관찰하고, 만일 정자에 첨체가 없고 난문을 보유하고 있다면 인공수정을 통해 정자가 난문을 통해 수정하는지를 확인하고, 전기영동을 통하여 수정란 난막의 단백질 조성을 밝힘으로서 계통분류학적 기초자료를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

1998년 3월부터 4월 사이에 경상남도 김해시 수가리 조만강교 상류의 하천에서 산란을 위해 바다로부터 올라온 성숙된 큰가시고기과(Gasterosteidae)에 속하는 큰가시고기(*Gasterosteus aculeatus aculeatus*)를 채집하여 실험재료로 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 난 자

##### (1) 광학현미경 시료

난자의 외형은 산란직전의 포란된 암컷의 복부를 손가락으로 압력을 가하여 난소로부터 빠져나온 성숙란을 광학현미경으로 관찰하였고, 난자의 내부구조는 통상적인 광학현미경 처리법에 따라 paraffin으로 포매하여 hematoxylin과 eosin으로 이중염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

##### (2) 투과전자현미경 시료

광학현미경 시료와 동일한 방법으로 얻은 난자를 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 2시간 전고정 및 2% osmium tetroxide로 90분간 후고정하여 통상적인 투과전자현미경 시료처리법에 따라 처리한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM-1200EX II형 투과전자현미경으로 난막의 단면구조를 관찰하였다.

#### 2) 정 자

##### 투과전자현미경 시료

성숙된 정자를 관찰하기 위해서 부정소를 적출하

여 난자의 투과전자현미경과 동일한 방법으로 처리한 후 투과전자현미경으로 관찰하였다.

### 3) 인공수정

광학현미경 시료처리법에 따라 얻은 난자를 petri dish에 100개씩 넣고 수컷의 부정소를 적출하여 막자사발에 넣어 분쇄한 후 난자와 혼합하여 수정시킨 후 생리식염수를 채웠다.

### 4) 수정여부 및 정자의 외형 관찰

인공수정을 한 후 5, 10, 15, 20 및 30초 간격으로 각각 전고정액을 부어 고정시키고 통상적인 주사전자현미경 처리법에 따라 시료를 처리한 후 난막에 붙은 정자의 외형, 난문의 유무, 난문을 통해 정자가 들어가 수정되는 과정, 미수정란과 수정란의 난막표면 및 부속구조물의 형태를 JSM-6300형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

### 5) 수정란 난막의 단백질 종류 확인

수정되어 배반이 형성되어 2세포기로 발생이 진행되기 전의 수정란 200개를 면도날로 자른 후 Lessepse와 Gast (1976)의 방법에 따라 난막 이외의 물질을 제거하고 이 시료에 sample buffer를 넣고 100°C에서 20분간 변성시킨 후 실험재료로 사용하였다. SDS-polyacrylamide gel 전기영동은 Laemmli (1970)의 방법을 변형시켜 Mini-Protean II Electrophoresis Cell (Bio-Rad)로 실시하였는데 12.0% separation gel과 4.0% stacking gel이 되도록 slab gel을 만들어 사용하였고 Tris-Glycine buffer (pH 8.3)를 사용하여 15 mA에서 12시간동안 4°C를 유지하면서 전개시킨 후 coomassie blue (R-250)로 염색하여 단백질 수를 확인하였으며 표준단백질은 Bio-Rad사의 broad range를 사용하였다.

## 결 과

### 1. 난 자

#### 1) 광학현미경적 소견

큰가시고기의 성숙한 난자는 직경 1.3~1.5 mm, 수정란의 경우 1.5~1.9 mm 정도인 구형의 침성란으로 미수정란과 수정란 모두 난자끼리는 서로 부착성이

있으나 산란상에는 비부착성이었다. 미수정란과 수정란의 차이는 미수정란의 경우 난막이 난황낭과 붙어 있고 수정란의 경우 위란강이 형성되어 분리되어 있다는 차이 이외에는 차이점을 발견하지 못했다. 난황낭 중심부에는 크기가 다양한 유적들이 분포하고 있었고(Fig. 1), 난황낭 내에서 난황괴는 관찰되지 않았으며 매우 균질한 면으로 관찰되었다(Fig. 2).

### 2) 전자현미경적 소견

난막의 표면은 미수정란과 수정란 모두 형태학적 차이는 없었다. 저배율에서는 구형의 구조물들이 불규칙적으로 난막표면에 분산되어 분포하고 있었으며(Fig. 3), 고배율에서 이 구조물들은 갖이 둥근 버섯모양의 구조물로 확인되었고, 이 갖의 직경은 약 22~24 μm였다(Fig. 4). 난막의 외측표면은 직경 0.5~0.6 μm인 pore canal들이 분포하고 있었으며(Fig. 5), 동물극쪽에는 정자의 통로로 생각되는 깔대기 모양의 난문이 관찰되었다. 난문주위의 구조물들은 표면에서 관찰된 버섯모양의 구조물들보다 신장된 형태였다(Fig. 6). 수정시킨 후 난문을 관찰했을 때 난문 내에서 정자가 관찰되었고 난문이 정자의 통로라는 것이 확인되었다(Fig. 7). 난막은 3층으로 전자밀도가 높은 외층, 내층보다 폭이 넓은 층상구조로 두 층으로 구성된 중층 및 전자밀도가 낮은 층으로 나뉘어진 16~20층의 층상구조인 내층으로 구성되어 있었다(Fig. 8).

### 3) 수정란 난막의 단백질 조성

수정란 난막은 14~205 kDa인 단백질들로 구성되어 있었으며 주요 단백질은 19.4 kDa, 36.7 kDa, 39.4 kDa, 42.9 kDa, 46.1 kDa 및 53.0 kDa이었다. 주요단백질 중 단백질량으로 볼 때 46.1 kDa이 가장 많았고 53.0 kDa, 42.9 kDa, 134.5 kDa, 39.4 kDa, 36.7 kDa 및 19.4 kDa순으로 나타났다(Fig. 9).

## 2. 정 자

일반적인 경골어류와는 달리 큰가시고기의 경우 부정소를 보유하고 있었고, 부정소 내에는 운동성이 활발한 성숙한 정자들이 관찰되었다. 정자의 크기는 20~24 μm 정도로 두부는 구형이었고, 두부 밑에 중편이 붙어있었으며, lateral fins를 보유한 매우 긴 편

모를 가지고 있었다(Fig. 10). 두부 내에는 침체는 없었고, 전자밀도가 높은 핵으로 채워져 있었다. 중심립은 쌍으로 존재하였으며, 중편 내에는 다수의 미토콘드리아가 관찰되었다. 이 중편부분은 편모와 분리되어 있었으며, 세포질이 꼬리의 미부 쪽으로 매우 신장된 형태였고(Fig. 11), 편모의 단면은 전형적인 9+2의 축사구조를 하고 있었으며, 축사의 이중미세소관 내의 A소관에서 디네인완이 관찰되었다(Fig. 12). 중편을 횡단면으로 관찰했을 때 7~8개의 미토콘드리아가 1~3층으로 배열하고 있었다(Fig. 13). 또한 편모에는 정자의 이동거리에 영향을 줄 것으로 생각되는 lateral fins를 보유하고 있었으며(Fig. 14) 정자꼬리의 중단면은 편모의 세포막내에 미세소관(microtubule)이 뚜렷하게 직선상으로 배열되어 있었다(Fig. 15).

## 고 찰

큰가시고기의 난자는 서로 부착성이었으나 산란상에는 비부착성이었다. 이 특성은 산란상의 환경이 물의 흐름이 매우 느리기 때문에 떠내려가지 않고 알을 둥지 속에 산란하기 때문에 알끼리의 부착은 덩어리를 형성하여 둥지로부터 빠져나올 가능성이 없기 때문에 진화상으로 매우 환경과 산란습성에 적응되어 있는 것으로 생각된다. 미수정란과 수정란의 구조는 형태학적으로 미세구조상에서도 차이점은 없었다. 일반적으로 경골어류의 난황은 난황괴를 형성하여 분포하는데(Hwang et al., 1998), 큰가시고기의 경우 난황괴는 관찰되지 않았고, 매우 균질한 면으로 관찰되었다.

난막의 표면은 저배율에서는 구형의 구조물들이 불규칙적으로 분산되어 분포하고 있었고, 고배율에서 이 구조물들은 갯이 둥근 버섯모양의 구조물로 확인되었다. 버섯모양의 구조물은 잉어과인 zebrafish와 leopard danio의 난막표면에서도 분포하는 것으로 알려져 있는데, 모두 비부착성이며, 갯의 모양이 큰가시고기보다 작고 둥글며, zebrafish와 leopard danio의 경우 같은 과라고 하더라도 형태학적으로 차이를 보인다(Kim et al., 1993; Kim et al., 1998). 난막의 외측표면은 pore canal들이 분포하고 있었으며 이런 구조물

은 난막형성 중에 미세용모가 관통되었던 흔적으로 생각된다. 동물극쪽에는 깔대기 형태의 정자의 통로로 생각되는 한 개의 난문이 관찰되었는데 정자의 두부에는 침체가 없고 난문내에서 정자가 관찰되는 것을 볼 때 수정을 위한 정자의 통로인 것으로 생각된다. 그러나 난문주위의 구조물들은 표면에서 관찰되었던 버섯모양의 구조물들보다 신장된 형태로 차이를 보였다.

난막을 횡단했을 때 3층으로, 전자밀도가 높은 외층, 내층보다 폭이 넓은 층상구조로 두 층으로 구성된 중층 및 전자밀도가 높은 층으로 나뉘어진 16~20층의 층상구조인 내층으로 구성되어 있었다. 수정란의 외형은 과에 따라 매우 유사한 형태를 가지고 있으나 외부표면, 난문 및 난막단면의 미세구조는 종에 따라 서로 다른 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1996; 1998; Deung et al., 1997).

수정란 난막은 14~205 kDa인 단백질들로 구성되어 있었고 단백질량으로 볼 때 46.1 kDa이 가장 많았고 53.0 kDa, 42.9 kDa, 134.5 kDa, 39.4 kDa, 36.7 kDa 및 19.4 kDa순으로 나타났다. 수정란 난막의 구성 단백질은 붕어(*Carassius auratus*)의 경우 30~250 kDa 범위의 단백질이 20종 이상 관찰되며 주요단백질은 45~66 kDa이다. 또한 *S. gairdneri*, *Gadus morhua*, *Oncorhynchus mykiss* 및 *Dicentrarchus labrax*의 경우처럼 수정란 난막의 단백질은 종에 따라 서로 다른 것으로 알려져 있다(Cotelli et al., 1986; 1988; Oppen-Berntsen et al., 1990; Brivio et al., 1991; Scapigliati et al., 1994). 이와 같이 수정란 난막의 단백질 조성은 종에 따라 서로 다르므로 종을 분류하는데 분류기준으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

정자의 두부는 *Oryzias latipes*, zebrafish 및 진몰개의 정자와 마찬가지로 구형이었다(Grier, 1976; Deung et al., 1993; Lee and Kim, 1998). 정자의 두부형태는 종에 따라 차이를 보이는데 *Pantodon buchholzi*와 garfish(*Lepisosteus osseus*)의 경우 사람의 정자와 비슷한 신장형이며(van Deurs and Lastein, 1973; Afzelius, 1978) 담수산 뱀장어의 일종인 *Anguilla australis*와 *A. dieffenbachii*의 경우 특이하게 머리부분이 낫모양이다(Todd, 1976). 대부분의 경골어류처럼 침체나 침체의 흔적은 없었고, 중편은 신장된 구형이므로

두부와 중편은 호리병 같은 모양을 하고 있었으며 중편 내에는 다수의 미토콘드리아가 관찰되었다. 절단면에 따라서 미토콘드리아는 한 층으로 둘러싸고 있는 경우도 있었으나 중편의 중간부분은 두 층 또는 세 층으로 둘러싸여 있었다. 일반적으로 미토콘드리아는 중편 속에 있는 것이 보통이나 Anguillidae의 어류는 중편이 없고 정자 두부의 측면에 붙어있으며 *Pantodon buchholzi*의 경우 미토콘드리아가 한 줄로 들어있는 관 9개가 서로 꼬여 축사를 감싸고 있는 경우도 있다(van Deurs and Lastein, 1973). 다른 경골어류와 마찬가지로 중심립은 한 쌍이었으나 *Pantodon buchholzi*의 경우는 1개만 있다(van Deurs and Lastein, 1973). 또한 두 개의 중심립이 서로 이루는 각도는 어종마다 차이를 보이는 것으로 알려져 있다(lee, 1998; Lee and Kim, 1998).

정자의 꼬리는 전체길이에 비해 매우 긴 형태로 꼬리 양쪽으로 lateral fins를 보유하고 있었으며 일반적으로 경골어류에서 lateral fins를 보유하고 있는 경우는 Garfish, *Oryzias latipes* 및 동자개에서 보고된 바 있다(Afzelius, 1978; Grier, 1976; Lee, 1998). Lateral fins의 유무는 체외수정종과 체내수정종 어류의 정자를 구분하는 기준점이라기 보다는 각각 정자의 운동형태와 운동성과 관련이 있는 것으로 생각되며(lee, 1996) 중편 내에 미토콘드리아수가 많은 경우 lateral fins가 없는 경우보다 있는 경우 이동거리에 영향을 줄 것으로 생각된다. 정자의 꼬리를 횡단한 결과 전형적인 9+2 구조를 보였고 어중에 따라서 *Anguilla australis*와 *A. dieffenbachii*처럼 9+0 구조를 보유하고 있는 종도 보고된 바 있다(Todd, 1976). 본 실험의 경우 축사의 이중미세소관 내의 A소관에서 디네인완이 관찰되었으나 종에 따라서 없는 경우도 있다(lee, 1998).

이상과 같이 큰가시고기의 난자와 정자의 미세구조적 특징은 큰가시고기만이 보유하고 있는 특성으로 종을 분류하는데 기준이 되는 형태학적 분류형질로 사용될 수 있고 초기발생과정을 연구하는데 기초자료로 활용될 수 있다. 앞으로 큰가시고기 목에 속하는 다른 어종들의 배우자에 대한 미세구조적 공통점과 종특성을 확인하여 분류체계를 수립하기 위해서 큰가시고기과에 속하는 가시고기(*Pungitius sinensis*)

와 잔가시고기(*Pungitius kaibarae* ssp.)의 배우자에 대한 미세구조적 연구도 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Anderson E: Comparative aspects of the ultrastructure of the female gamete, *Int Rev Cytol Suppl* 4: 1-70, 1974.
- Afzelius BA: Fine structure of the garfish spermatozoon, *J Ultrastruct Res* 64: 309-314, 1978.
- Billard R: Ultrastructural changes in the spermatogonia and spermatocytes of *Poecilia reticulata* during spermatogenesis, *Cell Tissue Res* 237: 219-226, 1984.
- Brivio MF, Bassi R, Cotelli F: Identification and characterization of the major components of the *Oncorhynchus mykiss* egg chorion, *Mol Reprod Dev* 28: 85-93, 1991.
- Cameron IL, Hunter KE: Regulation of the permeability of the medaka fish embryo chorion by exogeneous sodium and calcium ions, *J Exp Zool* 231(3): 447-454, 1984.
- Cotelli F, Andronico F, Bassi R, Brivio M, Ceccagno C, Denis-Donini S, La Rosa ML, Lora Lamia Donin C: Studies on the composition, structure and differentiation of fish egg chorion, *Cell Biol Int Reports* 10(6): 471, 1986.
- Cotelli F, Andronico F, Brivio M, Lamia CL: Structure and composition of the fish chorion, *J Ultrastruct Mol Struct Res* 99: 70-78, 1988.
- Deung YK, Kim WJ, Kim DH, Song SB and Reu DS: An ultrastructural study on the spermatogenesis of the zebra-fish (*Brachydanio rerio*), *J Wonju College of Medicine* 6(1): 186-194, 1993. (Korean)
- Deung YK, Reu DS, Kim DH: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes in golden severum, convict cichlid and discus, *Cichlidae, teleost, Korean J Electron Microscopy* 27(4): 417-432, 1997. (Korean)
- Grier HJ: Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna*, Spermiogenesis with reference to the intercentriolar lamellated body, *J Ultrastruct Res* 45: 82-92, 1973.
- Grier HJ: Sperm development in the teleost *Oryzias latipes*, *Cell Tiss Res* 168: 419-431, 1976.
- Grierson JP, Neville AC: Helicoidal architecture of fish egg-shell, *Tissue Cell* 13(4): 819-830, 1981.
- Gwo JC, Gwo HH: Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopagrus chlegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae),

- Mol Rep Dev 36: 75-83, 1993.
- Hwang WS, Kim WJ, Reu DS: Ultrastructural study on the oocyte maturation of swordtail (*Xiphophorus hellerii*), Korean J Electron Microscopy 28(3): 263-271, 1998. (Korean).
- Kim DH, Reu DS, Kim WJ, Deung YK: A comparative study on the ultrastructures of the egg envelope in fertilized eggs of angelfish (*Pterophyllum eimekei*) and zebrafish (*Brachydanio rerio*), Korean J Electron Microscopy 23(3): 115-128, 1993. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: A comparative study on the ultrastructure of the egg envelope in fertilized eggs of fishes, Characidae, three species, Korean J Electron Microscopy 26(3): 277-291, 1996. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: Comparative ultrastructure of the fertilized egg envelope in three species, Cyprinidae, teleost, Korean J Electron Microscopy 28(2): 237-253, 1998. (Korean)
- Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature 227: 680-685, 1970.
- Lee JS: Ultrastructural study on 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)
- Lee YH, Kim KH: Spermatozoal ultrastructure and phylogenetic relationships of the subfamily Gobioninae (Cyprinidae, Teleostei), Korean J Electron Microscopy 28(1): 63-71, 1998. (Korean)
- Lesseps RJ, Gast EA: Proteolytic dechoriation of annual fish embryos, Anat Rec 187: 125-128, 1976.
- Oppen-Verntsen DO, Helvik JV, Walther BT: The major structural proteins of cod (*Gadus morhua*) eggshells and protein crosslinking during teleost egg hardening, Dev Biol 137: 258-265, 1990.
- Scapigliati G, Carcupino M, Taddei AR, Mazzini M: Characterization of the main egg envelope proteins of the sea bass *Dicentrarchus labrax* L., Mol Reprod Dev 38: 48-53, 1994.
- Todd PR: Ultrastructure of the spermatozoa and spermiogenesis in New Zealand freshwater eels (Anguillidae), Cell Tiss Res 171: 221-232, 1976.
- van Deurs B, Lastein U: Ultrastructure of the spermatozoa of the teleost *Pantodon buchholzi* Peters, with particular reference to the midpiece, J Ultrastruct Res 42: 517-533, 1973.
- Wolenski JS, Hart NH: Scanning electron microscope studies of sperm incorporation into the zebrafish egg, J Exp Zool 243: 259-273, 1987.

### <국문초록>

큰가시고기 (*Gasterosteus aculeatus aculeatus*)는 산란기에 해수에서 담수로 이동하는 습성을 가지고 있기 때문에 일반 어류와 배우자의 구조는 서로 다를 것으로 생각되어 광학현미경, 투과전자현미경 및 주사전자현미경을 이용하여 배우자의 미세구조, 침체 및 난문의 유무, 난문의 미세구조, 난막의 외부 및 내부형태와 부속구조물의 형태를 관찰하고, 만일 정자에 침체가 없고 난문을 보유하고 있다면 인공수정을 통해 정자가 난문을 통해 수정하는지를 확인하고, 전기영동을 통하여 수정란 난막의 단백질 조성을 밝힘으로서 계통분류학적 기초자료를 제시하고자 하였다.

난자는 구형의 침성관으로 난자끼리는 서로 부착성이었으나 산란상에는 비부착성이었고 난황낭 중심부에는 크기가 다양한 유착돌이 분포하고 있었다. 난막의 표면은 갖이 등근 버섯모양의 구조물들과 pore canal들이 분포하고 있었고 동물극쪽에는 정자의 통로인 난문이 위치하고 있었다. 난막은 3층으로, 전자밀도가 높은 외층, 내층보다 폭이 넓은 층상구조로 두 층으로 구성된 중층 및 전자밀도가 낮은 층으로 나뉘어진 16~20층의 층상구조인 내층으로 구성되어 있었다. 수정란 난막은 14~205 kDa인 단백질들로 구성되어 있었는데 주요 단백질의 분자량은 19.4 kDa, 36.7 kDa, 39.4 kDa, 42.9 kDa, 46.1 kDa 및 53.0 kDa이었다. 정자의 두부는 구형이었고 두부 내에는 침체는 없었다. 중편은 편모와 분리되어 있었고 세포질이 꼬리의 미부쪽으로 매우 신장된 형태였으며 중편 내에는 미토콘드리아가 7~8줄로 1~3층으로 배열하고 있었다. 또한 편모에는 lateral fins를 보유하고 있었으며 편모의 단면은 전형적인 9+2의 축사구조를 하고 있었다.

이상과 같은 큰가시고기의 난자와 정자의 미세구조적

특징은 큰가시고기만이 보유하고 있는 특성으로 종을 수 있고, 초기발생과정을 연구하는데 기초자료로 활용될 분류하는데 기준이 되는 형태학적 분류형질로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** A light micrograph of the fertilized egg of three-spine stickleback ( $\times 100$ ). Arrow indicates an oil droplet.
- Fig. 2.** A light micrograph of transverse section of the fertilized egg ( $\times 100$ ). Yolk; Y, Egg envelope; E.
- Fig. 3.** A scanning electron micrograph of outer surface of egg envelope (scale bar= $50\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 4.** A magnified scanning electron micrograph of the outer surface of egg envelope (scale bar= $10\ \mu\text{m}$ ). Note the mushroom-like structure.
- Fig. 5.** A scanning electron micrograph of the outer surface of egg envelope (scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ). The outer surface is arranged by pores irregularly.
- Fig. 6.** A scanning electron micrograph of micropyle (arrow) in the egg envelope (scale bar= $10\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 7.** A scanning electron micrograph of a spermatozoon in the micropyle for fertilization (scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ). Arrow indicates the head part of a sperm.
- Fig. 8.** The transverse section of the egg envelope (scale bar= $2\ \mu\text{m}$ ). The egg envelope consisted of three layers, an outer layer (allow), a middle layer (ML) and an inner layer (IL) of 16–20 horizontal lamellae alternating with interlamellae of lower electron density.
- Fig. 9.** SDS-PAGE analysis of fertilized egg envelope (lane b). Reference molecular weight are shown on the left (lane a).
- Fig. 10.** A scanning electron micrograph of a spermatozoon (scale bar= $5\ \mu\text{m}$ ). Note the lateral fins (arrow).
- Fig. 11.** A transmission electron micrograph of longitudinal section of spermatozoon (scale bar= $500\ \text{nm}$ ). M; mitochondria, B; Basal body, N; Nucleus, Ax; Axoneme.
- Fig. 12.** Cross section of the tail of a spermatozoon (scale bar= $100\ \text{nm}$ ). Note the 9+2 structure.
- Fig. 13.** A transmission electron micrograph of midpiece contain mitochondria (M) (scale bar= $200\ \text{nm}$ ).
- Fig. 14.** Cross section of the tail part of a spermatozoon (scale bar= $200\ \text{nm}$ ). Note the lateral fins (arrow).
- Fig. 15.** A magnified longitudinal section of tail part (scale bar= $200\ \text{nm}$ ).









