

경골어류 등목어과 Three-spot gourami, Pearl gourami 및 Marble gourami의 수정란 난막 미세구조 비교

김동희, 등영건*, 김완종¹, 류동석², Kang송젠³
연세대학교 원주의과대학 기초과학교실 · 연세대학교 기초의학연구소
¹순천향대학교 생물학과, ²청주대학교 생물학과
³태산의학원 생리학교실

Comparative Ultrastructures of the Fertilized Egg Envelopes from Three-spot gourami, Pearl gourami and Marble gourami, Belontiidae, Teleost

Dong Heui Kim, Young Kun Deung*, Wan Jong Kim¹,
Dong Suck Reu² and Song Jian Kang³
Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science,
Wonju College of Medicine, Yonsei Univ.
¹Dept. of Biology, Soonchunhyang Univ., ²Dept. of Biology, Chongju Univ.
³Dept. of Physiology, Taishan Medical College
(Received July 10, 1999)

ABSTRACT

The structures of the fertilized egg envelope from three species, three-spot gourami (*Trichogaster trichopterus*), pearl gourami (*Trichogaster leeri*) and marble gourami (*Trichogaster trichopterus trichopterus*) belong to Belontiidae were observed, utilizing light, scanning and transmission electron microscopes.

In all three species, the fertilized eggs were the colorless, transparent, spherical, adhesive and pelagic type. A large oil droplet was located in vitelline membrane of the fertilized egg. The egg envelopes have a single micropyle, which is thought to the pathway of sperm in the area of the animal pole. Specially, the micropyle of three-spot gourami was similar to that of marble gourami which is subspecies of three-spot gourami. An outer surface of the fertilized egg envelope was arranged by grooves in all three species. The fertilized egg envelopes consists of two distinct layers; an adhesive outer layer and an inner layer with high electron density.

In conclusion, the morphological similarity of the fertilized egg, micropyle, outer surface and transverse section of the fertilized egg envelope seems to be an indication of the Belontiidae.

Key words : Fish, Belontiidae, Egg envelope, Fertilized egg, Ultrastructure

* Correspondence should be addressed to Young Kun Deung, Department of Basic Science and Institute of Basic Medical Science, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162 Il San-Dong, Wonju-City, Kangwon-Do, 220-701 Korea. Ph: (0371) 741-0353, FAX: (0371) 732-4446, E-mail: kdhfish@soback.kornet.nm.kr

서 론

수정란의 크기와 난막구조는 어류가 서식하고 있는 수환경의 물리·화학적 특성의 차이에 따라서 다양하게 나타나고(Stehr & Hawkes, 1979; Laale, 1980; Berrada-Rkhami & Gabrion, 1990), 난막의 두께는 침성란보다는 부성란이(Lönning, 1972; Stehr & Hawkes, 1979), 난생어류의 수정란 난막보다는 난태생어류의 수정란 난막이 더 얇은 것으로 알려져 있다(Flegler, 1977; Riehl & Greven, 1993). 또한 서로 다른 과에서는 물론 같은 과, 같은 속에서도 종에 따라 난막의 구조, 두께 또는 단백질 조성이 서로 다르고(Hagström & Lönning, 1968; Lönning, 1972; Cotelli et al., 1986; Schmehl & Graham, 1987; Deung et al., 1997; Kim et al., 1996; 1998a), 어류의 계통분류학적 위치 및 생태학적 군에 따라 차이를 보이기도 한다(Ivanov & Kurdyayeva, 1973). 그러나 대부분의 난막구조에 대한 연구는 주로 미수정란을 난소로부터 적출하여 연구된 것이 대부분이며 난소 내에 미성숙 및 성숙한 난자가 모두 포함되어 있어 성숙한 난자를 외형상 구분하기 어렵고 조직처리 중 외형손상이 유발될 수 있으며 수정직후 위란강 형성에 따른 난막의 형태변화가 일어날 수 있기 때문에 과나 종간의 비교연구에서 기준을 설정하는데 문제가 된다.

수정란에 대한 연구는 실험실내에서 어류의 양어, 산란의 최적환경, 암수구별 및 산란유도가 매우 어렵기 때문에 잘 이루어져 있지 않고, 양어 및 산란이 쉬운 몇몇 어종에 집중적으로 연구가 되어있는 실정이다. 따라서 본 실험은 산란주기가 짧고 산란수가 많기 때문에 실험실내에서 반복실험이 가능한 등목어과에 속하는 어류 3종을 선정하여 이들 어류의 수정란 난막이 형태학적으로 같은 과이기 때문에 종간에 유사성이 있는지 또는 같은 과에 속한다고 하더라도 종에 따라 서로 다른 구조를 하고 있는지를 알아보고 과 또는 종의 기준이 되는 형태학적 특징들을 확인하기 위해서 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 수정란의 형태, 난막의 외부와 내부구조 및 난문의 형태를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용된 3종은 치어를 구입하여 pH 6.5 ± 0.5 및 $26.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 수조 ($120 \times 45 \times 60$ cm)에서 8개월 이상 기초사육하였으며, 기초양어수는 Fritz-guard (Fritz Co., USA)로 상수의 염소를 제거시킨 후 사용하였고 스폰지 여과기(Brilliant sponge filter™, Tetra Co., Germany)를 이용한 생물학적 여과(biological filtration)법으로 물을 정화하였다. 수조 바닥에 쌓인 배설물과 먹고 남은 사료는 하루에 1/4씩 환수시켜 제거하였다. 하루 10시간씩 낮 환경을 유지시켰고 먹이는 자외선으로 살균시킨 냉동장구벌레와 테트라민(Tetra Min™, Tetra Co., Germany)을 오전 8시 30분과 오후 5시에 하루 2번씩 급여 하였다.

2. 실험방법

1) 수정란의 채란

3종 모두, 포란된 암컷 한 마리와 성숙한 수컷 한 마리를 선별하여 유리수조 ($60 \times 30 \times 40$ cm)에 옮겨놓고 산란수는 $28.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 기초양어수를 사용하였으며 산란상은 부초인 water sprite (*Ceratopteris thalictroides*)를 이용하여 거품동지 속에 산란된 수정란을 실험에 사용하였다.

2) 조직처리

(1) 광학현미경 시료

수정란 중 난할과정을 수행하지 않은 수정란을 선택하여 광학현미경으로 수정란의 형태와 난문을 관찰하였다.

(2) 주사전자현미경 시료

광학현미경의 시료와 동일한 방법으로 선택된 수정란을 0.1M 인산완충액(pH 7.4)으로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C 에서 48시간 전고정한 후 동일 완충액으로 세척하여 2% osmium tetroxide (OsO_4)로 90분간 후고정하였다. 동일 완충액으로 30분씩 2회 세척하였으며 ethanol 농도 상승순으로 탈수시켜 isoamyl acetate로 치환하고 critical point dryer로 건조시킨 후 JFC 1100형 ion coater에서 20nm의 두께로 금

도급하여 JSM-6300형 주사전자현미경으로 20kV에서 난문의 형태와 난막의 표면을 관찰하였다.

(3) 투과전자현미경 시료

수정란을 주사전자현미경과 동일한 방법으로 고정 및 탈수하여 propylene oxide로 치환하고 epon혼합액에 포매한 후 50~60nm로 초박절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM-1200EX II형 투과전자현미경으로 80kV에서 난막의 단면을 관찰하였다.

결과 및 고찰

등목어과에 3종의 수정란 난막을 광학현미경, 주사전자현미경 및 투과전자현미경을 이용하여 관찰·비교한 결과는 다음과 같다.

1. 수정란의 형태

3종의 수정란은 모두 직경 0.85 ± 0.02 mm 정도로 구형의 무색투명한 부착성란인 부성란이었다. 난막 표면에 부속사는 없었고 난황낭 중앙에 직경 0.61 ± 0.02 mm 정도인 하나의 유적이 관찰되었다(Figs. 1, 3, 5). 또한 동물극쪽에 정자의 통로로 생각되는 하나의 난문이 위치하고 있었다(Figs. 2, 4, 6). 등목어과의 경우 수온이 높고 용존산소량이 낮은 서식처에 분포하며 보조호흡기를 보유하고 있는 것으로 보아 난황낭 내의 유적은 부력을 증가시켜 수정란이 수면에 뜨게 해줌으로써 산소공급을 용이하게 하여 생존 및 발생에 매우 중요한 기능을 하는 것으로 생각된다. 유적의 형태는 종에 따라 매우 다양한데 angelfish, 연어 및 꼼치의 경우 유적이 난황낭 내에 균질하게 분포하고 있고(Kim et al., 1993; Bell et al., 1969; Kim et al., 1986), 큰가시고기는 난 중앙에 다양한 크기의 유적들이 집중되어 분포하고 있으며(Han & Kim, 1989), 미꾸라지와 zebrafish처럼 유적이 없는 종도 있다(Kim et al., 1987, 1993).

2. 난문의 외부형태

3종 모두, 난문의 외경은 10~14 μ m, 내경은 2.0~2.5 μ m 정도로 경사가 완만한 수많은 홈을 보유하고 있는 깔대기 형태였으며, pearl gourami의 경우 꽃모

양의 구조물이 난문 안쪽에 위치하고 있었고 three-spot gourami와 아종인 marble gourami의 경우 형태는 서로 유사했다(Figs. 7-9). 이들 난문의 형태는 분류학적 위치가 가까운 종일수록 유사한 것으로 생각된다. 본 실험에서 정자통로로 생각되는 하나의 난문이 발견된 것으로 보아 정자의 두부에는 첨체가 없을 것으로 생각되며, 카라신과 어류의 경우에서처럼 난문 주위에 난막의 융기선이 난문을 중심으로 방사형으로 위치하고 있는 종도 있고(Kim et al., 1996), 어떤 종에서는 이 난문 주위에 섬유상의 구조물들이 분포하고 있어 정자가 난막내로 쉽게 들어올 수 있도록 도움을 주는 역할을 하는 것도 있다(Dumont & Brummet, 1980).

첨체와 난문의 유무는 종에 따라 다양하며 판새어류인 *Squalus suckleyi*와 칠성장어의 경우 난막에 난문은 없고 첨체를 보유하고 있으나(Stanley, 1971; Kille, 1960), 흰철갑상어(white sturgeon, *Acipenser transmontanus*)처럼 다수의 난문과 첨체를 모두 가지고 있는 종도 있다(Cherr & Clark, 1984; 1985). Ocean pout (*Macrozoarces americanus*)의 경우는 2개의 난문을 보유하고 있으며 이 경우 정자의 꼬리가 2개이고 정자수가 적어 수정률을 높이기 위한 것으로 생각되고 있다(Yao et al., 1995). 일반적으로 대부분의 경골어류는 첨체가 없으나 *Gambusia affinis*, *Lepadogaster lepadogaster* 및 *Oncorhynchus mikiss*처럼 첨체의 흔적이 남아있는 경우도 알려져 있다(Mattei & Thiaw, 1993). 그러나 난문과 첨체유무의 상관관계는 밝혀져 있지 않다.

3. 난막의 표면형태

3종 모두 난막의 표면에서 부속사는 관찰되지 않았고, 직경 0.24~0.25 μ m 정도인 홈들이 0.15~0.18 μ m 간격으로 난막 전체에 분포하고 있었다(Figs. 10-12). 종간에 형태학적인 차이는 없었고 해산어류인 starry flounder의 수정란과 유사한 형태였다(Stehr & Hawkes, 1979). 본 실험에서 수정란은 부착사나 부속구조물이 없으면서도 부착성을 보유하고 있었는데 부착사나 부속구조물이 없는 부착성란은 난막표면에서 점액성의 뮤신과 유사한 물질 또는 젤라틴 성분을 분비하여 부착성질을 띠는 것으로 알려져 있으며,

중에 따라 *Acerina vulgaris*, *Fundulus heteroclitus* 및 *Carassius auratus*의 경우처럼 수정 후 부착성질이 사라지는 종도 보고된 바 있다 (Laale, 1980). 난막의 표면 형태는 과와 중에 따라 매우 다양한데 과에 따라 유사성이 있으면서 미세구조는 차이를 보이는 경우도 있고 (Deung et al., 1997), 같은 과라고 하더라도 중에 따라 모두 다른 경우도 있다 (Kim et al., 1996; 1998a). 또한 중에 따라 부속사를 가지고 있는 경우도 있는데 부착성 섬유와 비부착성 섬유 모두를 보유하고 있는 종도 있고 (Hart et al., 1984), 어떤 어종의 부속사들은 쉼물에 의해서 수위가 낮아졌을 때 수분 손실을 방지하는 기능을 수행하기도 한다 (Dumont & Brummet, 1980). Zebrafish의 경우 부착구조물은 없지만 섬유상 구조물에 의해서 지지되고 있는 송이버섯 모양의 구조물들이 분포하고 있다 (Kim et al., 1993). 자리돔과에 속하는 tomato clown anemonefish의 경우 동물극쪽에 *Oryzias latipes*보다 매우 가는 머리카락과 유사한 섬유다발 형태인 부착성 부속사를 보유하고 있으며 (Kim et al., 1998b), *Fundulus heteroclitus*의 경우 같은 종이라고 하더라도 지역에 따라 형태학적 차이를 보이기도 한다 (Brummett & Dumont, 1981).

4. 난막의 내부형태

3종 모두, 난막은 2층으로 부착층인 외층 및 전자 밀도가 높은 한 층인 내층으로 구성되어 있었으며 내층의 상부는 높이 0.2 μm 정도인 기둥모양으로 돌출되어 0.15~0.18 μm 간격으로 분포하고 있었고 종간의 차이는 없었다 (Figs. 13-15). 난막의 구조는 중에 따라서 광량, 수압 및 파도 등 외부환경 뿐만 아니라 산란상인 조개껍질 속, 바위, 돌, 모래 및 진흙 등에 따라서도 다양한 구조를 보이며 (Ivankov & Kurdayeva, 1973), *Cyprinus carpio*와 *Clupea harengus*의 경우 산란환경 및 습성이 같은 데도 불구하고 난막의 구조는 서로 다른 것으로 알려져 있다 (Guraya, 1986). 일반적으로 대부분의 경골어류의 난막은 2층 또는 3층으로 구성되어 있으며 과에 따라 유사성이 있고 같은 과에 속하는 종들의 경우 내층 수만 차이를 보이는 경우가 많다 (Lönning, 1972; Kim et al., 1993; 1996; 1998a; Deung et al., 1997). *Oryzias latipes*의 경우 난막은 3층으로 전자밀도가 낮은 외

층, 중층 및 10~12층의 층상구조를 가지고 있는 내층으로 구성되어 있으며 (Hart et al., 1984), *Plecoglossus altivelis*의 난막은 2층의 치밀층이 투명층에 의해 분리되어 3층으로 구성되어 있는 것으로 알려졌다 (Toshimori & Yasuzumi, 1976). 해마의 경우는 3층으로 구성되어 있는데 외층은 비교적 짧은 미세융모와 균질성 물질로, 중층은 불투명한 과립성 물질로, 내층은 망상구조물로 조직화된 균질성 물질로 구성되어 있다 (Anderson, 1974).

이상과 같이 등목어과에 속하는 3종의 수정란, 난막의 표면 형태와 단면구조는 종간에 차이를 발견할 수 없었고 이런 형태학적 유사성은 등목어과의 과를 결정짓는 공통적인 특징들로 생각된다. 그러나 단지 3종만이 실험되었기 때문에 다른 등목어과 어류의 수정란과 난막을 더욱 연구하여 구체적인 체계를 수립해야 할 것으로 생각된다. 또한 등목어과에 속하는 한국의 버들붕어의 수정란 및 난막에 대한 연구도 이루어져 하며 난막의 유무는 정자의 침체유무와도 관련성이 있으므로 앞으로 성숙된 정자의 형태학적 연구도 함께 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.
- Bell GR, Hoskins GE, Bagshaw JW: On the structure and enzymatic degradation of the external membrane of the salmon egg. *Can J Zool* 47: 145-148, 1969.
- Berrada-Rkhami O, Gabrion C: The fine structure of the embryonic envelopes before and after hatching in bothrioccephalids: Physiological and ecological significance. *Parasitol Res* 76: 251-262, 1990.
- Brummett AR, Dumont JN: A comparison of chorions from eggs of northern and southern populations of *Fundulus heteroclitus*. *Copeia* 3: 607-614, 1981.
- Cherr GN, JR Clark WH: An acrosome reaction in sperm from the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J Exp Zool* 232: 129-139, 1984.
- Cherr GN, JR Clark WH: An egg envelope component induces the acrosome reaction in sturgeon sperm. *J Exp Zool* 234: 75-85, 1985.
- Cotelli F, Andronico F, Bassi R, Brivio M, Ceccagno C,

- Denis-Donini S, La Rosa ML, Lamia-Donin CL: Studies on the composition, structure and differentiation of fish egg chorion. *Cell Biol Int Reports* 10(6):471, 1986.
- 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)
- Dumont JN, Brummet AR: The vitelline envelope, chorion, and micropyle of *Fundulus heteroclitus* eggs. *Gamete Res* 3:25-44, 1980.
- Flegler C: Electron microscopic studies on the development of the chorion of the viviparous teleost *Dermogenys pusillus* (Hemirhamphidae). *Cell Tiss Res* 179:255-270, 1977.
- Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell and molecular biology of fish oogenesis. *Karger* 18:111-147, 1986.
- Hagström BE, Lönning S: Electron microscopic studies of unfertilized and fertilized eggs from marine teleosts. *Sarsia* 33:73-80, 1968.
- Han KH, Kim YU: Spawning behavior, embryonic development and morphology of larvae and juveniles of three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus* (Linnaeus) reared in the laboratory. *Bull Nat Fish Univ Pusan* 29:11-36, 1989. (Korean)
- Hart NH, Pietri R, Donovan M: The surface of the chorion and associated surface filaments in oryzias-evidence for the presence of extracellular tubules. *J Exp Zool* 230:273-296, 1984.
- Ivankov VN, Kurdyayeva VP: Systematic differences and the ecological importance of the membranes in fish eggs. *J Ichthyol* 13:864-873, 1973.
- Kille RA: Fertilization of the lamprey egg. *Exp Cell Res* 20:12-27, 1960.
- 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 ultrastructures 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, 1998a. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: Ultrastructure of fertilized egg envelope in the tomato clown anemonefish, *Amphiprion frenatus* (Pomacentridae: marine teleostei). *Korean J Electron Microscopy* 28(3):273-282, 1998b. (Korean)
- Kim YU, Park YS, Kim DS: Development of eggs, larvae and juveniles of loach, *Misgurnus mizolepis* Gunther. *Bull Korean Fish Soc* 20(1):16-23, 1987. (Korean)
- Kim YU, Park YS, Myoung JG: Egg development and larvae of the snailfish, *Liparis tanakai*. *Bull Korean Fish Soc* 19(4):380-386, 1986. (Korean)
- Laale HW: The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes: a review. *Copeia* 2:210-226, 1980.
- Lönning S: Comparative electron microscopic studies of teleostean eggs. *Sarsia* 49:41-48, 1972.
- Mattei X, Thiaw OT: Acrosome-like structures in the spermatozoa of teleost fishes. *Can J Zool* 71:883-888, 1993.
- Riehl R, Greven H: Fine structure of egg envelopes in some viviparous goodeid fishes, with comments on the relation of envelope thinness to viviparity. *Can J Zool* 71:91-97, 1993.
- Schmehl MK, Graham EF: Comparative ultrastructure of the zona radiata from eggs of six species of salmonids. *Cell Tiss Res* 250:513-519, 1987.
- Stanley HP: Fine structure of spermiogenesis in the elasmobranch fish *Squalus suckleyi*. *J Ultrastruc Res* 36:86-102, 1971.
- Stehr CM, Hawkes JW: The comparative ultrastructure of the egg membrane and associated pore structures in the starry flounder, *Platichthys stellatus* (Pallas), and pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). *Cell Tiss Res* 202:347-356, 1979.
- Toshimori K, Yasuzumi F: The morphology and the function of the oocyte chorion in the teleost, *Plecoglossus altivelis*. *J Electron Microscopy* 25:210, 1976.
- Yao Z, Emerson CJ, Crim LW: Ultrastructure of the spermatozoa and eggs of the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.), and internally fertilizing marine fish. *Mol Reprod Dev* 42:58-64, 1995.

< 국문초록 >

등목어과에 속하는 어류의 경우 수정란 난막이 형태학적으로 같은 과이기 때문에 종간에 유사성이 있는지 또는 같은 과에 속한다고 하더라도 종에 따라 서로 다른 구조를 하고 있는지를 알아보고, 과 또는 종의 기준이 되는 형태학적 특징들을 확인하기 위해서 three-spot gourami (*Trichogaster trichopterus*), pearl gourami (*Trichogaster leeri*) 및 marble gourami (*Trichogaster trichopterus trichopterus*)를 실험재료로 하여 수정란과 난막구조를 광학현미경, 투과전자현미경 및 주사전자현미경을 이용하여 관찰·비교하였다.

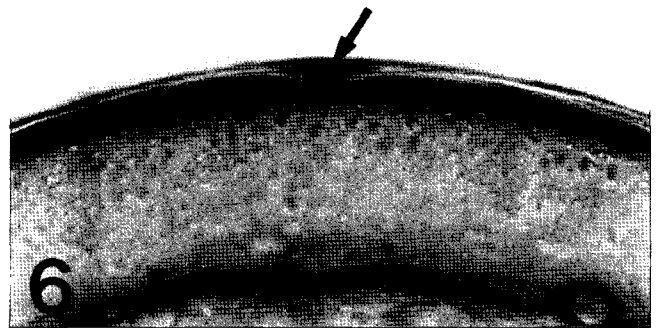
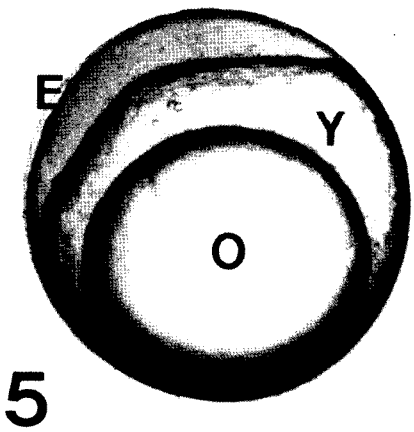
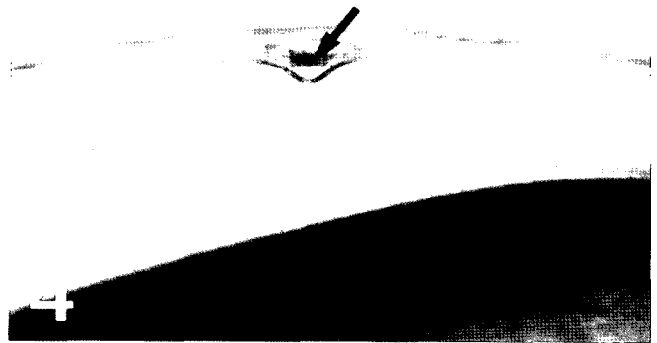
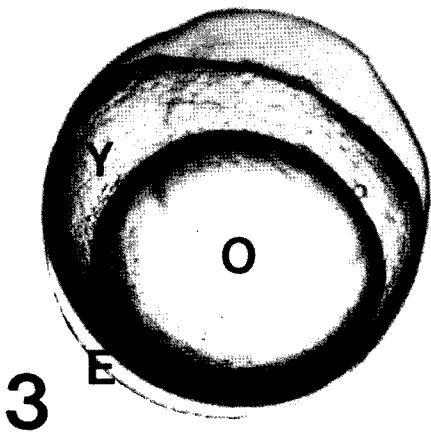
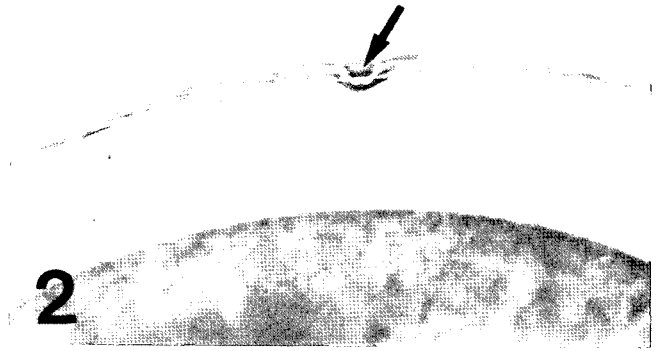
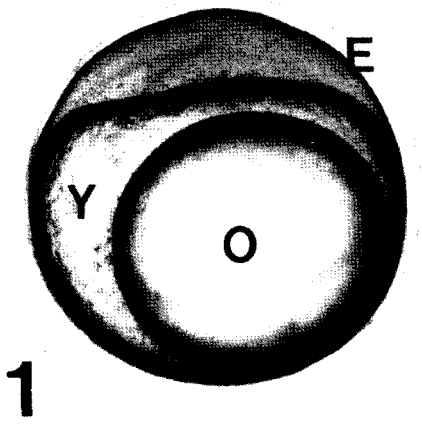
3종의 수정란은 모두 구형의 무색투명한 부착성란으

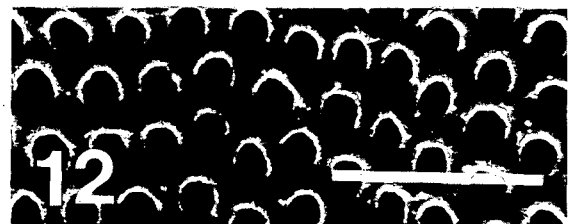
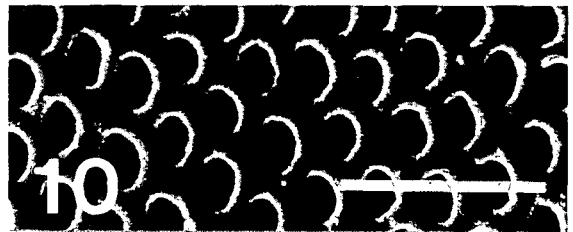
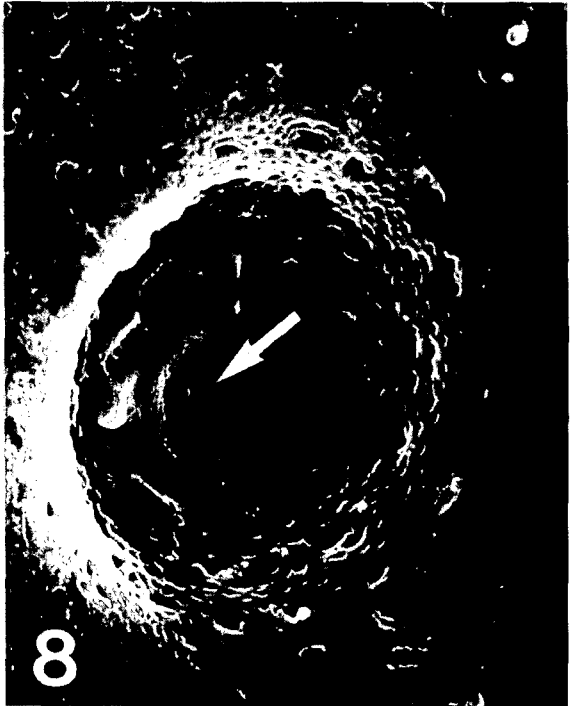
로 부성란이었고 난막 표면에 부속사는 없었으며 난황낭 중앙에 하나의 유적이 있었다. 3종 모두 정자의 통로로 생각되는 난문이 관찰되었는데 경사가 완만한 수많은 홈을 보유하고 있는 깔대기 형태였으나 pearl gourami의 경우 꽃 모양의 구조물이 난문 안쪽에 위치하고 있었고 three-spot gourami와 아종인 marble gourami의 경우 형태는 서로 유사했다. 난막의 표면은 홈들이 난막 전체에 분포하고 있었고, 3종 모두 난막은 2층으로 부착층인 외층 및 전자밀도가 높은 한 층인 내층으로 구성되어 있었다.

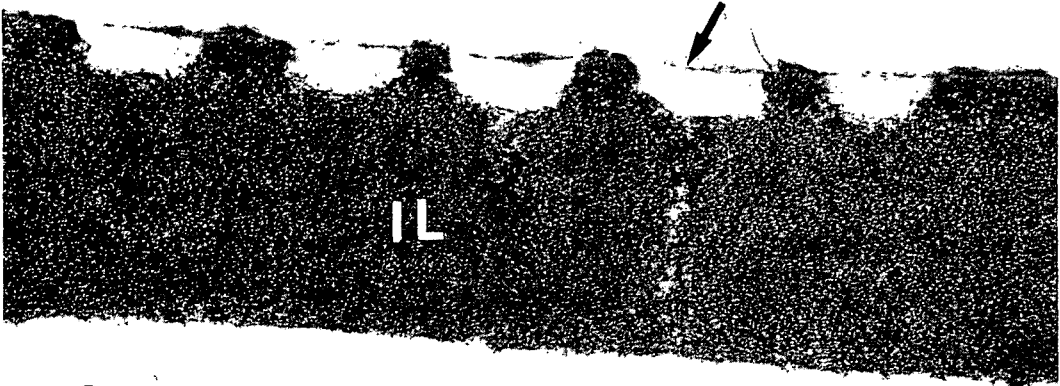
이상과 같이 수정란의 형태, 난문의 구조, 난막표면 및 난막의 단면구조는 3종 모두 매우 유사한 형태로 등목어과 어류의 수정란 및 난막의 공통적인 특징으로 생각된다.

FIGURE LEGENDS

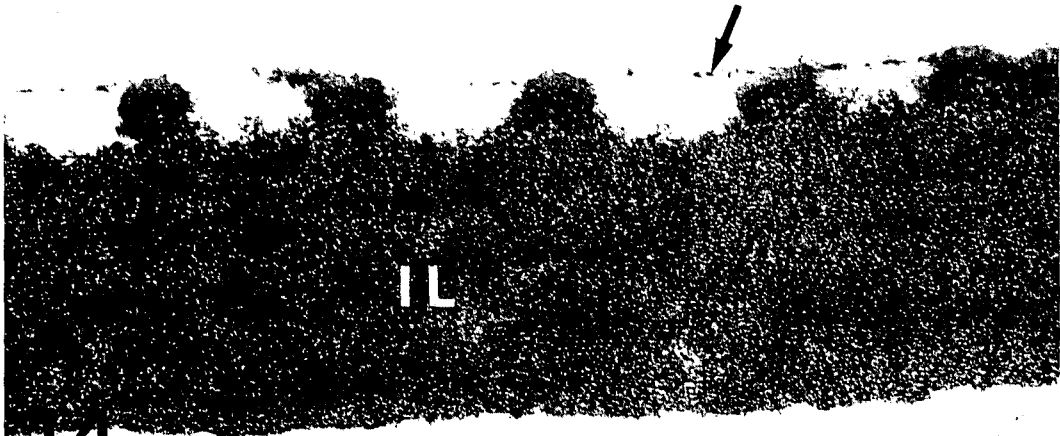
- Fig. 1.** A light micrograph of a fertilized egg of three-spot gourami ($\times 40$). E; egg envelope, O; oil droplet, Y; yolk. This fertilized egg was the transparent, spherical, adhesive and pelagic type.
- Fig. 2.** A light micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of three-spot gourami ($\times 100$).
- Fig. 3.** A light micrograph of a fertilized egg of pearl gourami ($\times 40$). E; egg envelope, O; oil droplet, Y; yolk.
- Fig. 4.** A light micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of pearl gourami ($\times 100$).
- Fig. 5.** A light micrograph of a fertilized egg of marble gourami ($\times 40$). E; egg envelope, O; oil droplet, Y; yolk.
- Fig. 6.** A light micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of marble gourami ($\times 100$).
- Fig. 7.** A scanning electron micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of three-spot gourami (scale bar = $5 \mu\text{m}$).
- Fig. 8.** A scanning electron micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of pearl gourami (scale bar = $5 \mu\text{m}$).
- Fig. 9.** A scanning electron micrograph of the micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope of marble gourami (scale bar = $5 \mu\text{m}$).
- Fig. 10.** A scanning electron micrograph of the outer surface in the fertilized egg envelope of three-spot gourami (scale bar = $1 \mu\text{m}$).
- Fig. 11.** A scanning electron micrograph of the outer surface in the fertilized egg envelope of pearl gourami (scale bar = $1 \mu\text{m}$).
- Fig. 12.** A scanning electron micrograph of the outer surface in the fertilized egg envelope of marble gourami (scale bar = $1 \mu\text{m}$).
- Fig. 13.** A transmission electron micrograph of the fertilized egg envelope of three-spot gourami. The egg envelope consists of two layers. These are an outer adhesive layer (arrow) and an inner layer (IL) (scale bar = 200 nm).
- Fig. 14.** A transmission electron micrograph of the fertilized egg envelope of pearl gourami. Arrow; outer adhesive layer, IL; inner layer (scale bar = 500 nm).
- Fig. 15.** A transmission electron micrograph of the fertilized egg envelope of marble gourami. Arrow; outer adhesive layer, IL; inner layer (scale bar = 200 nm).



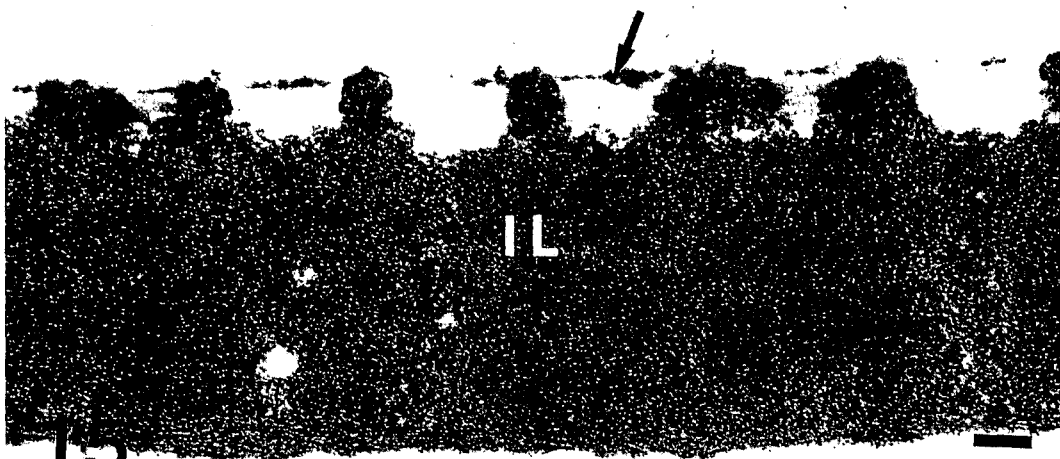




13



14



15