

경골어류 잉어과 참마자의 수정란 난막 미세구조

김동희*, 등영진, 김해영¹, 류동석¹
연세대학교 원주의과대학 기초과학교실 · 연세대학교 기초의학연구소
¹청주대학교 생물학과

Ultrastructure of the Fertilized Egg Envelope from Long nose barbel, Cyprinidae, Teleost

Dong Heui Kim*, Young Kun Deung, Hae Young Kim¹ and Dong Suck Reu¹
Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science, Wonju College of Medicine,
Yonsei Univ. ¹Dept. of Biology, Chongju Univ.
(Received February 14, 2001)

ABSTRACT

The ultrastructures of the fertilized egg envelope from long nose barbel, *Hemibarbus longirostris* belong to Cyprinidae was studied using scanning and transmission electron microscopes.

The fertilized egg was adhesive type, have a single micropyle resembling the pathway of sperm in the area of the animal pole. An outer surface of the fertilized egg envelope was arranged by adhesive structures irregularly. In section of fertilized egg, the egg envelope consists of two layers, an outer adhesive twofold layer with mushroom-like cluster and an inner lamellae layer consisting of four layers.

These ultrastructural characters of fertilized egg envelope from long nose barbel can be utilized in taxonomy of teleost.

Key words : Fertilized egg envelope, Fish, Long nose barbel, Ultrastructure

서 론

어류의 난막구조는 수환경의 물리·화학적 특성에 따라 다양하며 광량, 수압, 파도의 강약 (Stehr & Hawkes, 1979), 바닷물의 염도, 온도 및 밀도와도 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Lönning, 1972). 또한 바위, 돌, 모래 및 진흙 등 산란장소에 따라서도 다양

한 구조를 보이며 (Ivanov & Kurdyayeva, 1973), 계통 분류학적으로 유연관계가 가까운 종에서 유사성이 높은 것으로 알려져 있다 (Lönning, 1972). 같은 과 (Family)에 속하는 어류의 수정란 난막 미세구조에 대한 비교 연구는 카라신과 (Kim et al., 1996), 시클리드과 (Deung et al., 1997), 잉어과 (Kim et al., 1998) 및 등목어과 (Kim et al., 1999)에서 보고 된 바 있으며, 이들 난막의 구조는 같은 과에서 수정란의 외형은 유

* Correspondence should be addressed to Dr. Dong Heui Kim, Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science, Wonju College of Medicine, Yonsei Univ., 162 Ilsan-dong, Wonju City, Kwangwon-do, 220-701 Korea. Ph.: 033-741-0353.
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

사하나 미세구조는 종에 따라 서로 다른 것으로 알려져 있다. 그러나 국내에 서식하는 어종의 수정란 난막에 대한 미세구조 연구는 일부 어종에서 이루어진 바 있으나(Kim et al., 1998; Deung et al., 1999; 2000) 분류체계에 따른 체계화가 전혀 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구는 한국어류의 수정란 난막 미세구조를 분류체계에 따른 체계화 작업의 일환으로 국내에 서식하는 참마자 수정란의 난문, 난막의 외부 및 내부구조를 밝힘으로써 계통분류학적 기초 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

2000년 5월부터 7월 사이에 섬진강 분지인 경상남도 하동군 고전면 하동천에서 성숙한 잉어과에 속하는 참마자(*Hemibarbus longirostris*)를 채집하여 실험 재료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 수정란의 채란

포란된 암컷의 복부를 손가락으로 압력을 가하여 난소로부터 빠져 나온 성숙란을 petri dish에 30개씩 넣고, 수컷의 정액을 성숙란과 혼합하여 인공수정을 시켜 수정란을 얻었다.

2) 시료처리

인공수정 실시 후 위란강이 형성되어 배반형성이 시작될 때 해부현미경으로 수정란을 선별한 후 0.1M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 4시간 전고정 및 2% osmium tetroxide로 90분간 후고정하여, 통상적인 전자현미경 시료 처리법에 따라 처리한 후 난문의 외형과 난막의 표면구조는 JSM-6300형 주사전자현미경으로, 난막과 부속구조물의 단면구조는 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM-1200EX II형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 난문의 외부형태

난문은 외경 37.5 μm , 내경 7.5 μm 정도인 깔대기 형태로 동물극 쪽에 위치하고 있었으며, 난문 주위에는 부착성 구조물들이 관찰되지 않았고(Fig. 1), 난문의 안쪽은 내경이 2.7 μm 정도인 원형이었다(Fig. 2). 난문은 대부분의 경골어류에서 침체가 없는 정자가 난막을 뚫지 못하기 때문에 정자의 통로 및 다수정을 방지하는 기능을 하며(Wolenski & Hart, 1987; Deung et al., 1993), 배반(blastodisc) 상부에 위치하고 있는 여포세포가 함몰된 후 난막의 내막 또는 외막이 변형되어 난문이 형성되는 것으로 알려져 있다(Laale, 1980; Guraya, 1986). 난문의 미세구조는 어종에 따라 매우 다양하며 과(Family)에 따라서 유사성을 보이기도 하지만(Kim et al., 1996; Deung et al., 1997; Kim et al., 1999), 잉어과 어류처럼 종마다 형태학적으로 크게 다른 경우도 있다(Kim et al., 1998). 피라미의 경우 다른 종들에서 볼 수 없는 특이한 구조물들이 난문 주위를 둘러싸고 있는데 이 경우 종을 구분하는 분류형질로 사용될 수 있다(Deung et al., 2000).

침체와 난문의 유무는 종에 따라 다양하여 판새어류인 *Squalus suckleyi*와 칠성장어의 경우 난막에 난문은 없으면서 침체를 보유하고 있으나(Stanley, 1971), 흰철갑상어(*Acipenser transmontanus*)처럼 다수의 난문과 침체를 모두 가지고 있는 종도 있다(Cherr & Clark, 1985). Ocean pout(*Macrozoarces americanus*)의 경우는 2개의 난문을 보유하고 있으며 이 경우 정자의 꼬리가 2개이고, 정자수가 적어 수정율을 높이기 위한 것으로 생각되고 있다(Yao et al., 1995).

2. 난막의 표면형태

난막 표면은 부착성이었으며, 버섯모양의 돌기들이 뭉쳐 하나의 덩어리를 형성하여 표면에 분포하고 있었다(Fig. 3). 버섯모양의 돌기들이 참마자처럼 뭉쳐 있지는 않지만 수정란 난막 표면에 분포하고 있는

경우는 zebrafish (Kim et al., 1993), leopard danio (Kim et al., 1998) 및 큰가시고기 (Deung et al., 1999)에서 보고된 바 있으나 참마자의 수정란과는 달리 zebrafish와 leopard danio의 경우 비부착성란이고, 큰가시고기는 산란상에는 비부착성이지만 알끼리는 부착성이다. 이런 구조적 특징은 산란시 산란상에 알이 떨어질 때 발생하는 충격으로부터 배자(embryo)를 보호하는 역할을 할 것으로 생각되며, 뭉쳐있는 구조는 떨어져 있는 구조보다 더 효과적일 것이다. 특히 zebrafish, leopard danio 및 큰가시고기는 유속이 완만한 곳에서 생활을 하지만 참마자의 경우 흐름이 이들 어류보다 빠른 편이라 외부환경에 적응된 양상을 보이는 것으로 생각된다. 부착성 구조물을 투과전자현미경으로 관찰한 결과 기부는 구조물끼리 서로 떨어져 있지만 상부로 올라가면서 합쳐지는 형태였으며, 전자밀도가 높은 것으로 보아 단백질로 이루어진 것으로 생각된다 (Fig. 4). 이 구조물의 기부는 난막을 관통하지 않고 난막의 바깥면인 외막 표면에 부착되어 있었다. 일반적으로 난막의 표면구조는 난문과 마찬가지로 과에 따라 형태학적 유사성을 보이지만 (Kim et al., 1999) 같은 과라고 하더라도 종에 따라서 또한 같은 종이라고 해도 분포지역에 따라 형태학적차이를 보이는 경우도 있다 (Brummett & Dumont, 1981).

3. 난막의 내부형태

난막단면의 미세구조는 모두 2층으로 구성되어 있었으며 외층은 2층으로, 내층은 4층으로 구성되어 있었다. 외층이 같은 두께의 난막이 2중층으로 되어 있는 것은 다른 종에서는 볼 수 없었던 특징이며, 내층의 두께는 각 층마다 모두 차이를 보였다 (Fig. 5).

난막의 단면 구조는 종에 따라 다양하며 같은 과일수록 서로 유사한 것으로 알려져 있으나 등목어과 어류에서처럼 종마다 모두 같은 형태를 가지고 있는 경우도 있다 (Kim et al., 1999). 같은 잉어과에 속하는 피라미의 경우는 3층으로 부착성인 전자밀도가 낮은 외층, 전자밀도가 높은 중층 및 9층의 층상구조를 이룬 내층으로 구성되어 있으며, 내층의 층상구조가 바깥쪽은 좁고 안쪽은 넓은 층상구조를 가지고 있다 (Deung et al., 2000). 수정란에서 난막의 두께는 일반적으로 침성란보다는 부성란이, 난태생어류보다는 난

생어류가, 친어가 알을 보호하지 않는 경우 또한, 물의 흐름이 더 빠른 곳에 서식하는 종에서 더 두꺼운 것으로 알려져 있는데, 종에 따라서 산란환경 및 습성이 같은데도 불구하고 난막 구조는 서로 다른 경우도 있다 (Guraya, 1986).

이상과 같이 참마자의 수정란 난막에서 관찰된 난문의 구조, 버섯모양의 부착성 부속 구조물 및 난막의 단면구조는 참마자만이 가지는 종을 대표하는 기준이며, 종을 분류하는데 중요한 분류형질로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 어류의 수정란 난막의 미세구조에 대한 연구는 주로 식용어류에 한정되어 왔으며, 주로 양어가 쉽고 번식이 쉬운 몇몇 종에 한정적으로 집중되어 있다. 현재 한국산 어류에 대한 연구는 번식자료가 적으며, 최근 환경오염에 의한 감소로 심각한 경우 멸종위기에 처할 수 있으므로 국내산 어류의 생활사와 번식에 대한 연구도 함께 수행되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 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, Clark WH Jr: An egg envelope component induces the acrosome reaction in sturgeon sperm, J Exp Zool 234: 75-85, 1985.
- Deung YK, Kim WJ, Kim DH, Song SB, Reu DS: An ultrastructural study on the spermatogenesis of the zebrafish (*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, convic cichlid and discus, Cichlidae, teleost, Korean J Electron Microscopy 27(4): 417-432, 1997. (Korean)
- Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of gametes in the Three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*, Korean J. Electron Microscopy 29(2): 177-187, 1999. (Korean)
- Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of the fertilized egg envelope in pale chub Cyprinidae, Teleost, Korean J Electron Microscopy 30(4): 321-326, 2000. (Korean)
- Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell

- and molecular biology of fish oogenesis, Karger 18: 111-147, 1986.
- Ivankov VN, Kürdyayeva VP: Systematic differences and the ecological importance of the membranes in fish eggs, J Ichthyol 13: 864-873, 1973.
- 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)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: Ultrastructure of fertilized egg envelop in the tomato clown anemonefish, *Amphiprion freatus* (Pomacentridae: Marine teleostei), Korean J Electron Microscopy 28(3): 273-282, 1998. (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)
- Laale HW: The perivitelline space and μ gg envelopes of bony fishes: a review, Copeia 2: 210-226, 1980.
- Lönning S: Comparative electron microscopic studies of teleostean eggs with special reference to the chorion, Sarsia 49: 41-48, 1972.
- 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.
- Wolenski JS, Hart NH: Scanning electron microscope studies of sperm incorporation into zebrafish egg, J Exp Zool 243: 259-273, 1987.
- Yao Z, Emerson CJ, Crim LW: Ultrastructure of the spermatozoa and eggs of the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.), an internally fertilizing marine fish, Mol Reprod Dev 42: 58-64, 1995.

< 국문 초록 >

한국어류의 수정란 난막 미세구조를 분류체계에 따른 체계화 작업의 일환으로 난문의 미세구조, 난막의 표면 및 단면구조를 밝힘으로써 계통분류학적 기초자료를 제시하고자 경골어류, 잉어과에 속하는 참마자의 수정란을 실험재료로 하여 주사전자현미경과 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

수정란은 부착성란으로 동물극 쪽에 수정을 위한 정자의 통로로 생각되는 한 개의 난문이 관찰되었고 난막 표면은 버섯모양의 돌기들이 뭉쳐 하나의 덩어리를 형성하여 분포되어 있었다. 부착성 구조물은 기부는 구조물끼리 떨어져 있지만 상부로 올라가면서 합쳐지는 형태였으며, 이 구조물의 기부는 난막을 관통하지 않고 난막의 바깥면인 외막 표면에 부착되어 있었다. 난막단면의 미세구조는 모두 2층으로, 이중층인 외층과 4층으로 구성된 내층으로 구성되어 있었다.

이상과 같이 참마자 수정란 난막의 미세구조적 특징은 참마자의 수정란이 가지는 독특한 형태학적 형질로서 종을 분류하는데 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** A scanning electron micrograph of micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope (scale bar = 50 μ m).
- Fig. 2.** A magnified scanning electron micrograph of micropyle (scale bar = 5 μ m).
- Fig. 3.** A scanning electron micrograph of outer surface in the fertilized egg envelope (scale bar = 50 μ m).
- Fig. 4.** A transmission electron micrograph of the adhesive structures (scale bar = 1 μ m).
- Fig. 5.** The section of the fertilized egg envelope. The egg envelope consists of two layers, an outer adhesive twofold layer (arrow) and an inner lamellae layer (IL) consisting of 4 layers (bar = 2 μ m).



