

## 볼락 (*Sebastes inermis*) 난병 유사구조의 전자현미경적 기재

이정식<sup>+</sup> · 장영진\*

여수대학교 수산생명의학과, \*부경대학교 양식학과

### Electron Microscopical Description on the Egg Stalk-like Structure of the Rockfish, *Sebastes inermis* (Teleostei: Scorpaenidae)

Jung Sick LEE<sup>+</sup> and Young Jin CHANG\*

Department of Aqualife Medicine, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

\*Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

The ovary of the rockfish, *Sebastes inermis* was cystovarian condition and consists of numerous ovarian lobules. Previtellogenic oocytes were embedded in the connective tissue of the ovarian lobules. As the oocytes grows, it protruded into the ovarian cavity and form grapes cluster-like structure with egg stalk-like structure. Yolk granules and zona radiata were not observed in the embedded early oocytes about 20  $\mu\text{m}$  in diameter. In the oocytes about 80  $\mu\text{m}$  in diameter, yolk granules with electron dense were abundant in the ooplasm near the egg stalk-like structure. However, pinocytosis was not observed in the pore canal system of the zona radiata. In this stage, microfilaments, developed endoplasmic reticula, tubular mitochondria, granular materials with low electron density and active multivesicular bodies were observed in the egg stalk-like structure. This results suggest that the egg stalk-like structure of the rockfish are related with the oocyte attachment and exogenous vitellogenesis of the initial vitellogenic oocyte.

**Key words:** Rockfish, *Sebastes inermis*, Egg stalk-like structure, Fine structure

#### 서 론

어류 난소의 해부학적인 구조는 종 특이성, 생식생태 및 계통에 따라 다양한데, 대부분 경골어류의 난소는 낭상형이며, 난소 내부는 다수의 소엽으로 구성되며, 소엽상피에서 난원세포가 유래한다.

난원세포가 난모세포로 성장하는 동안 난황축적은 내재적인 방법 (endogenous vitellogenesis)과 외재적인 방법 (exogenous vitellogenesis)으로 구분된다. 내재적인 방법은 인과 Balbiani body를 비롯한 세포내 소기관에 의해 주로 이루어지며 (Riehl, 1978; Wallace and Selman, 1981), 외재적인 방법은 주로 여포세포층과 원형질막 사이의 방사대에 형성된 pore canal system을 통한 음세포작용 (pinocytosis)에 의존한다 (Selman and Wallace, 1982a, 1982b, 1983, 1986).

난소소엽과 난모세포 사이의 난병 (egg stalk) 구조는 이매패류 가운데 *Anodonta* (Beams and Sekhon, 1966)와 새조개, *Fulvia mutica* (Chang and Lee, 1982) 그리고 전복류, *Haliotis* (Lee, 1974)에서 보고된 구조로 난모세포의 부착 및 외재적 난황축적과 밀접한 관계가 있다. 경골어류에서 난병 유사구조는 쭈굴감펍, *Scorpaena miostoma* (Lee et al., 1997)과 불볼락, *Sebastes thompsoni* (Lee et al., 1998) 그리고 참새대, *Cynoglossus joyneri* (Lee et al., 2000)에서 보고된 적이 있으나, 이들의 미세구조 및 기능에 관해서는 언급되지 못했다.

따라서 본 연구에서는 볼락의 난소에서 관찰된 난병 유사구조를 광학현미경과 전자현미경을 통하여 이들의 미세구조를 기재하였다.

#### 재료 및 방법

본 연구에서는 Lee and Kim (1992)의 보고에 따라 성숙체장에 해당하는 전장 24.5~27.0 cm의 볼락 암컷 7개체가 사용되었다. 해부 후 난소의 일부분을 절취하여 조직표본을 제작하였다.

광학현미경 조직표본은 Bouin's solution에 고정하여 파라핀 절편편으로 두께 4~6  $\mu\text{m}$ 의 연속절편을 제작하여 Mayer's hematoxylin-0.5% eosin의 비교 염색을 실시하였다.

투과전자현미경 (TEM)의 조직표본 제작은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전 고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide ( $\text{OsO}_4$ )로 4°C에서 2시간 동안 후 고정하였으며, 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 단계별로 탈수하여 epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5  $\mu\text{m}$ 의 semithin section 후 70 nm의 ultrathin section을 하여 TEM (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

주사전자현미경 (SEM)의 조직표본 제작과정 가운데 고정과 탈수는 TEM 조직표본 제작과 동일하게 처리되었다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨 후 ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20 nm로 피막을 입힌 후 SEM (DSM 940A, Carl Zeiss)으로 관찰하였다.

#### 결과 및 고찰

볼락 난소는 근섬유성 조직으로 구성된 발달된 난소의막을 가지며, 수란관이 발달된 낭상형 이었다. 난소의 내부는 난소의막에서 시작된 결체성 조직인 다수의 난소소엽으로 구성되어 있었으

<sup>+</sup>Corresponding author: LJS@yosu.ac.kr

며, 난소소엽의 내부에서 난원세포가 유래한다 (Fig. 1, A). 그리고 이들 난소소엽과 난모세포 등 내부조직상은 생식주기에 따라 주기적으로 변화하므로 (Lee and Kim, 1992) 볼락의 난소형태와 전체적인 내부구조는 대부분 경골어류와 유사하다고 할 수 있다.

어류의 난소 형태는 낭상형 난소 (cystovarian condition)와 나상형 난소 (gynovarian condition)로 구분되는데, 낭상형 난소는 근섬유성 조직으로 구성된 난소의막과 수란관이 발달된 형태이나, 나상형 난소는 난소의막과 수란관이 미발달된 형태이다 (Hoar, 1957). 낭상형 난소는 노래미, *Agrammus agrammus* (Chung and Lee, 1985), ocean whitefish, *Caulolatilus princeps* (Elorduy-Garay and Ramirez-Luna, 1994) 및 볼볼락, *Sebastes thompsoni* (Lee et al., 1998)을 비롯한 대부분의 경골어류에서 관찰할 수 있으며, 나상형 난소는 연어과 어류인 무지개송어, *Salmo gairdneri* (Nomura, 1962) 등의 경골어류와 눈가오리, *Raja pulchra* (Yeon et al., 1997) 등의 연골어류에서 관찰할 수 있다.

낭상형 난소를 가지는 대부분 경골어류의 난소내부는 발달된 난소소엽을 가지며, 이곳에서 난원세포가 유래한다. 그리고 난소의 내부조직상은 이들의 생식주기에 따라 난모세포와 난소소엽의 발달정도가 주기적으로 변하게 된다.

본 연구 결과 볼락의 난모세포들은 난소소엽의 결체성 조직에 매몰되어 있는 무리와 난소강내로 돌출되어 있는 무리로 구분할 수 있었다. 난소소엽의 결체성 조직에 매몰되어 관찰되는 난모세포들은 주로 난황축적 이전 단계로서 크기는 직경 50~60  $\mu\text{m}$ 이었다 (Fig. 1, C). 그 후 난모세포들은 성장하여 난병 유사구조의 발달과 함께 난소강으로 돌출되면서 많은 난모세포들이 각각의 난소소엽에 부착하여 마치 포도송이와 같은 구조를 취하게 되는데, 난소강 내에서 관찰되는 난모세포들은 주로 직경 70  $\mu\text{m}$  이상으로서 조직표본 관찰 결과 이들은 난황형성 개시기 단계였다 (Fig. 1, D, E and F).

난소소엽내에 매몰되어 있는 직경 약 20  $\mu\text{m}$  크기의 초기 난모세포는 비교적 커다란 핵과 전자밀도가 높은 인을 함유하고 있었으며, 핵 주변의 세포질에서 미토콘드리아가 분포하는 것을 제외하고는 세포질은 거의 균질한 상태였다 (Fig. 2, A). 그리고 난모세포의 원형질막과 여포세포 사이에서 방사대와 pore canal system은 형성되지 않았다 (Fig. 2, B). 아울러 난모세포의 세포질에서 난황과립은 관찰되지 않으므로 이 시기는 Lee and Kim (1992)이 보고한 바와 마찬가지로 난황축적이전 단계라고 할 수 있다.

그러나 주사전자현미경 관찰 결과 난소소엽으로부터 난소강 쪽으로 돌출된 직경 80  $\mu\text{m}$  전후의 난모세포에서는 난병 유사구조가 확인되었고 (Fig. 1, E and F), 투과전자현미경 관찰 결과가 부위에서 미세섬유들이 확인되었는데 (Fig. 2, D), 이는 난병 유사구조가 난모세포의 부착기구로 기능한다는 것을 보여주는 증거이다.

난병이 확인되고, 난황형성이 시작된 직경 80  $\mu\text{m}$  전후 난모세포에서는 원형질막과 여포세포 사이에서 방사대와 pore canal system의 형성이 확인되었다. 이 시기에 난병 유사구조 근처의 여포세포들은 매우 활성화되어 있었으며, 난병 유사구조 근처의 난모세포 세포질에는 전자밀도가 높은 직경 1.0  $\mu\text{m}$  내외의 난황과립

들이 밀집되어 나타났다 (Fig. 2, C and D). 하지만 난병 유사구조가 존재하는 이외의 부분에서는 여포세포의 세포내 소기관의 발달이 미약하였으며, 방사대의 pore canal system을 통한 물질이동은 관찰되지 않았다 (Fig. 2, E).

초기 난모세포의 난병 유사구조가 형성된 부분의 여포세포에서는 잘 발달된 소포체들과 미토콘드리아들이 관찰되었다. 그리고 난병 유사구조가 형성된 부위에서 난막의 일부는 빈 공간을 가지는데, 이 부위에서는 활성화된 대형의 multivesicular body들이 관찰되었다 (Fig. 2, F and G).

따라서 이러한 결과로부터 난병 유사구조를 제외한 부위의 여포세포들이 활성화되기 전의 초기 난모세포에서 외재적 난황축적은 난병 유사구조에 존재하는 multivesicular body를 통하여 일어남을 추측할 수 있으나 물질이동에 관한 세부적인 사항에 대해서는 지속적인 연구가 필요하다.

경골어류에서 난병구조는 주굴감쟁, *Scorpaena miostoma* (Lee et al., 1997), 볼볼락, *Sebastes thompsoni* (Lee et al., 1998) 그리고 참서대, *Cynoglossus joyneri* (Lee et al., 2000)의 생식주기 가운데 성장기 난소에서 보고된 적이 있으나, 이들의 세부적인 구조 및 기능에 관해서는 언급되지 못했다.

일반적으로 어류 난모세포의 난황축적은 내재적인 방법 (endogenous vitellogenesis)과 외재적인 방법 (exogenous vitellogenesis)으로 구분된다. 내재적인 방법은 인과 Balbiani body를 비롯한 세포내 소기관에 의해 주로 이루어지는데 (Wallace and Selman, 1981), *Neomacheilus barbatulus*에서는 난모세포 내부의 미토콘드리아와 multivesicular body가 관여한다 (Riehl, 1978). 외재적인 방법은 주로 여포세포층과 원형질막 사이의 방사대에 형성된 pore canal system의 미세융모 (microvilli)를 통한 음세포작용 (pinocytosis)에 의존한다 (Selman and Wallace, 1982a, 1982b, 1983, 1986).

난소소엽과 난모세포 사이의 난병 구조는 이매패류 가운데 *Anodonta*와 전복류, *Haliotis* 그리고 새조개, *Fulvia mutica*에서 보고되었는데, 이 구조는 난모세포의 외재적 난황축적과 밀접한 관계가 있다 (Beams and Sekhon, 1966; Lee, 1974; Chang and Lee, 1982).

패류 난모세포의 난황축적도 어류와 마찬가지로 내재적인 방법과 외재적인 방법으로 구분된다. 이 가운데 외재적인 방법은 여포세포층과 원형질막 사이의 pore canal system을 통한 음세포작용 (pinocytosis)과 난병을 통한 방법이 보고되었는데, 난병에 의한 방법은 *Anodonta* (Beams and Sekhon, 1966)에서 난병의 미세구조를 설명하면서 이들의 기능과 외재적인 난황축적방법에 관해서 자세히 보고하고 있다. 난병 부위에서는 직경 250~300 Å의 미세소관들이 난모세포질까지 발달되어 난모세포의 부착 및 지지기능을 담당한다고 설명하고 있다. 아울러 이 부위에서 난황 전구물질들이 관찰됨으로써 외부에서 합성된 난황전구물질이 난세포질내로 이동되는 통로임을 보고하였다.

본 연구의 Fig. 1. B와 Lee and Kim (1992)은 볼락 난모세포의 발달에 관한 광학현미경적 연구에서 난황축적 활성화 단계로 진행되면서 난모세포 세포질내에서는 난황물질이 고르게 분포하는

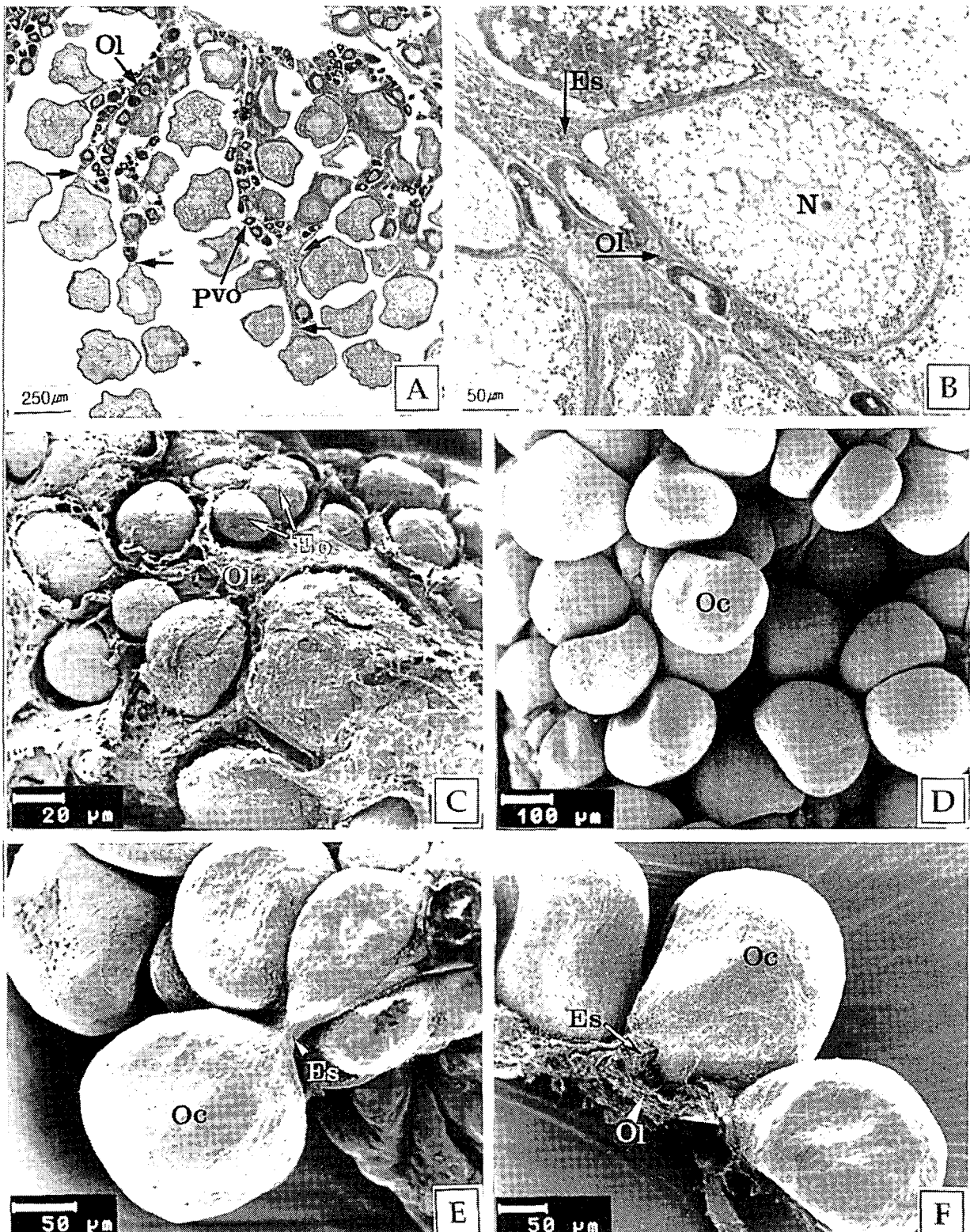


Fig. 1. Ovarian internal structure of the rockfish, *Sebastes inermis*. A: Photo micrograph of ovarian growing stage. Note the embedded previtellogenic oocytes in the ovarian lamella and suspended vitellogenic oocytes by egg stalk-like structure ( $\uparrow$ ). B: Section of ovarian ripe stage. C: Scanning electron micrograph of embedded early oocytes in the ovarian lamella. D, E and F: Scanning electron micrographs of suspended vitellogenic oocytes by egg stalk-like structure. Eo: early oocytes, Es: egg stalk-like structure, N: nucleus, Oc: oocyte, Ol: ovarian lamella, Pvo: previtellogenic oocyte.

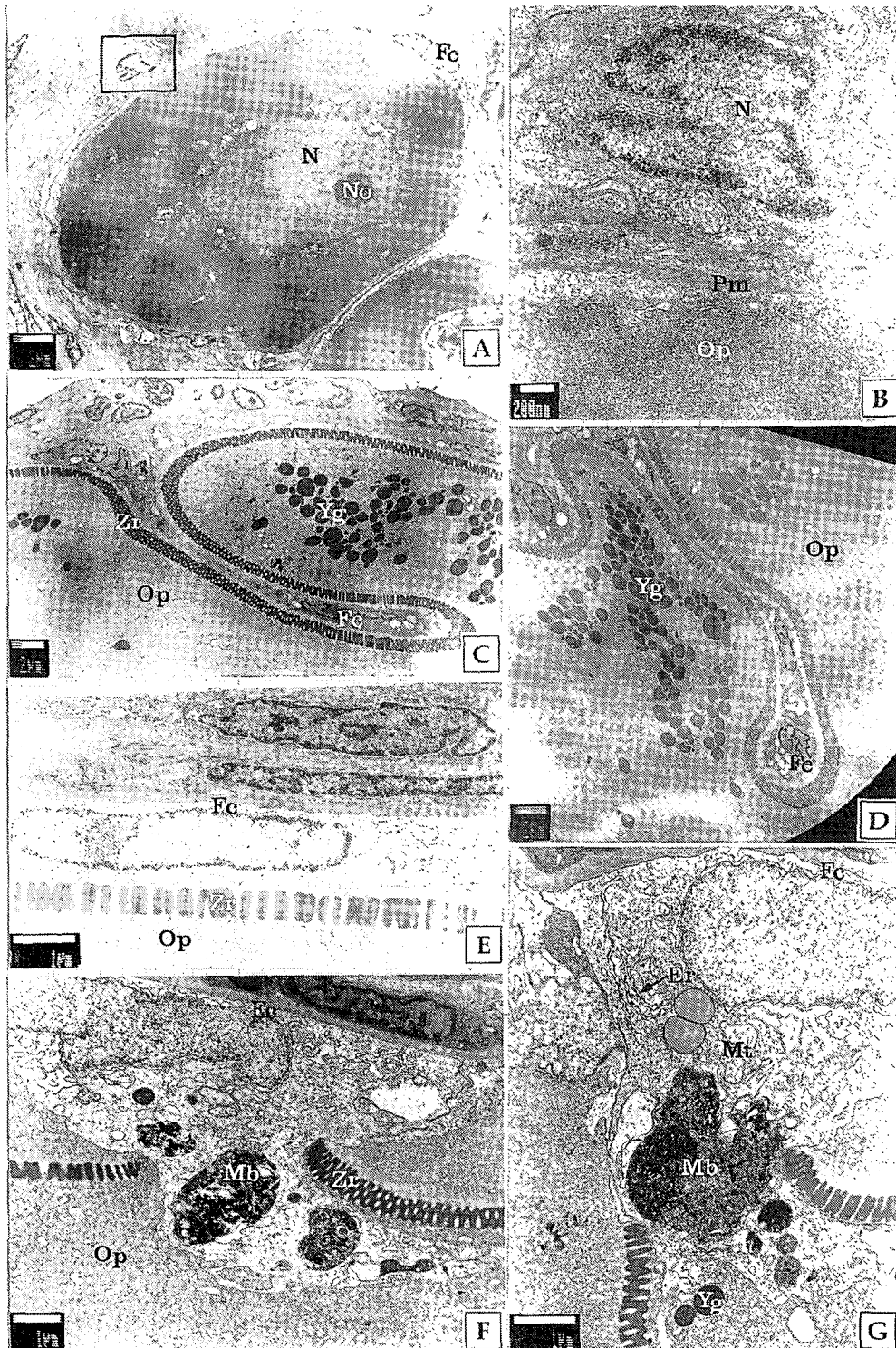


Fig. 2. Electron micrographs of the ovarian growing stage in the rockfish, *Sebastes inermis*. A: Previtellogenic oocyte. B: High power view of figure 2-A showing the inactive follicle cell. C and D: Section of the egg stalk-like structure in the initial vitellogenic oocyte. Note the activated follicle cells, developed zona radiata and numerous yolk granules. E: Follicle cell and zona radiata of central region in the initial vitellogenic oocyte. Follicle cells are inactive and pinocytosis is not observed in the pore canal system of zona radiata. F and G: Section of the egg stalk-like structure showing the activated follicle cell and multivesicular body. Er: endoplasmic reticulum, Fc: follicle cell, Mb: multivesicular body, Mt: mitochondria, N: nucleus, No: nucleolus, Op: ooplasm, Pm: plasma membrane, Yg: yolk granules, Zr: zona radiata.

양상을 관찰하였다. 이러한 결과는 난황이 난모세포의 원형질막과 여포세포 사이의 pore canal system을 통한 외재적 난황축적 방법에 의하여 수행된 것임을 추측할 수 있는 간접적인 증거라고 할 수 있다. 하지만 이를 명확하게 밝히기 위해서는 추후 난황형성 활성화 이후의 단계에서 외재적 난황축적에 대한 난병 유사구조와 방사대의 기능에 관한 미세구조적인 연구가 필요하다.

## 요 약

볼락의 난소는 낭상형이며, 다수의 난소소엽으로 구성되어 있었다. 난황축적 이전의 난모세포들은 난소소엽의 결체성 조직에 매몰되어 관찰되었다. 난모세포는 성장하면서 난소강으로 돌출되어 난병 유사구조를 가지고 포도송이와 같은 구조를 나타냈다. 난소소엽내에 매몰되어있는 직경 약 20  $\mu\text{m}$  크기의 초기 난모세포에서 난황과립과 방사대는 관찰되지 않았다. 직경 약 80  $\mu\text{m}$ 의 초기 난모세포의 난병 유사구조 세포질에서는 전자밀도가 높은 난황과립들이 다수 관찰되었으나, 방사대의 pore canal system에서 음세포 작용은 관찰되지 않았다. 이 시기에 난병 유사구조에서는 미세섬유, 발달된 소포체와 미토콘드리아, 전자밀도가 낮은 과립상 물질 그리고 활성화된 multivesicular body들이 관찰되었다. 이러한 결과들은 볼락의 난병 유사구조는 난모세포의 부착과 초기 난모세포의 외재적 난황축적에 관여함을 시사하는 것이라고 할 수 있다.

## 참 고 문 헌

- Beams, H.W. and S.S. Sekhon. 1966. Electron microscope studies on the oocyte of the fresh-water mussel (*Anodonta*), with special reference to the stalk and mechanism of yolk deposition. *J. Morphol.*, 119, 477~502.
- Chang, Y.J. and T.Y. Lee. 1982. Gametogenesis and reproductive cycle of the cockle, *Fulvia mutica* (Reeve). *Bull. Korean Fish. Soc.*, 15, 241~253.
- Chung, E.Y. and T.Y. Lee. 1985. Studies on the reproductive cycle of greenling, *Agrammus agrammus*. *Bull. Nat'l Fish. Univ. Pusan*, 25, 26~42 (in Korean).
- Elorduy-Garay, J.F. and S. Pamirez-Luna. 1994. Gonadal development and spawning of female ocean whitefish, *Caulolatilus princeps* (Pisces: Branchiostegidae) in the Bay of La Paz, B.C.S., Mexico. *J. Fish Biol.*, 44, 553~566.
- Hoar, W.S. 1957. The gonads and reproduction. In *The Physiology of Fishes* Vol. I, M.E. Brown, ed. Academic Press, New York, pp. 287~321.
- Lee, J.S., C.M. An and S.H. Huh. 1998. Reproductive cycle of goldeye rockfish, *Sebastes thompsoni* (Teleostei: Scorpaenidae). *J. Korean Fish. Soc.*, 31, 8~16 (in Korean).
- Lee, J.S., J.C. Kang and S.H. Huh. 1997. Gonad structure and reproductive cycle of the smallmouth scorpionfish, *Scorpaena miostoma* (Teleostei: Scorpaenidae). *J. Korean Fish. Soc.*, 30, 627~633 (in Korean).
- Lee, J.S., S.Y. Kim, K.H. Ma and S.H. Huh. 2000. Ovarian development and reproductive cycle of the female red tongue sole, *Cynoglossus joyneri* (Teleostei: Cynoglossidae). *J. Korean Fish. Soc.*, 33, 554~558 (in Korean).
- Lee, T.Y. 1974. Gametogenesis and reproductive cycle of abalones. *Publ. Mar. Lab. Busan Fish. Coll.*, 7, 21~50 (in Korean).
- Lee, T.Y. and S.Y. Kim. 1992. Reproduction and embryonic development within the maternal body of ovoviparous teleost, *Sebastes inermis*. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 25, 413~431 (in Korean).
- Nomura, M. 1962. Studies on reproduction of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, with special reference to egg taking-I. Morphological changes of gonad in the process of maturation and the ovulation of eggs. *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 28, 409~415.
- Riehl, R. 1978. Light and electron microscopical investigations on the oocytes of the freshwater teleost fishes *Noemacheilus barbatus* L. and *Gobio gobio* L. (Pisces, Teleostei). *Zool. Anz. Jena*, 201, 199~219.
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1982a. The inter-and intracellular passage of proteins through the ovarian follicle in teleosts. In *Proceeding of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, C.J.J. Richter and H.J.T. Goos, eds. Pudoc, Wageninngen, pp. 151~154.
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1982b. Oocyte growth in the sheep-head minnow: Uptake of exogenous proteins by vitellogenic oocytes. *Tissue and Cell*, 14, 555~571.
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1983. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus* III. Vitellogenesis. *J. Exp. Zool.*, 226, 441~457.
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *Amer. Zool.*, 26, 173~192.
- Wallace, R.A. and K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer. Zool.*, 21, 325~343.
- Yeon, I.J., S.H. Hong, Y.C. Park, J.S. Lee, S.T. Kim and H.K. Cha. 1997. The reproduction of *Raja pulchra* Liu in the Yellow Sea. *Bull. Nat'l Fish. Res. Dev. Institute*, 53, 23~36.

2001년 9월 27일 접수

2002년 3월 11일 수리