

바다 송사리 *Oryzias dancena*의 난발생 및 자치어의 형태 발달

송하연 · 남윤권¹ · 방인철² · 김동수^{1,*}

부경대학교 양식학과, ¹부경대학교 해양수산형질전환생물연구소, ²순천향대학교 해양생명공학과

Embryogenesis and Early Ontogenesis of a Marine Medaka, *Oryzias dancena* by Ha Yeun Song, Yoon Kwon Nam¹, In-Chul Bang² and Dong Soo Kim^{1,*} (Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea; ¹Institute of Marine Living Modified Organisms (iMLMO), Pukyong National University, Busan 608-737, Korea; ²Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea)

ABSTRACT The egg development and morphological changes of larvae, juveniles and adults of *Oryzias dancena* were observed. Fertilized eggs were incubated at $25 \pm 1^\circ\text{C}$; the process of embryonic development was observed by light microscopy and based on diagnostic features of the developing embryos. The average time to hatch was 11 days after fertilization. The hatched larvae averaged 4.40 ± 0.24 mm in total length (TL). The yolk sacs of the larvae were almost absorbed at 3 days after hatching and 4.55 ± 0.23 mm TL. At 21 days after hatching, the larvae were 7.23 ± 0.73 mm TL and had reached the juvenile stage. First ovulation was about 9 weeks after hatching and at 22.58 ± 2.73 mm TL.

Key words : Egg development, marine medaka, morphological, *Oryzias dancena*

서 론

송사리류는 동갈치목 (Beloniformes) 송사리과 (Adrianiichthyidae)에 속하는 경골어류로, 그 중 *Oryzias* 속은 22종이 보고되어 있다 (Robert, 1998; Parenti and Soeroto, 2004; Nelson, 2006). 이들 종들은 인도에서 일본에 이르는 지역, 인도네시아와 필리핀 등 다양한 지역에 서식하고 있으며, 어종에 따라 담수, 기수 그리고 해수에서 서식하는 것으로 보고되어 있다 (Naruse *et al.*, 1993).

송사리류는 실험실 내 사육이 용이하며 형태학적으로 암·수의 구분이 쉽고 세대 주기가 짧아 유용한 실험 모델 동물로 많이 이용되고 있다. 이 중 송사리 (*Oryzias latipes*)는 많은 생물학 및 유전 정보가 축적되어 있어 척추동물의 발생유전학 (developmental genetics), 생태독성학 (ecotoxicology) 및 유전체학 (genomics) 등의 연구에 이용되고 있다 (Naruse *et al.*, 1993; Ishikawa, 2000; Wittbrodt *et al.*, 2002). 하지만, 이 종은 담수어류로써 해수에서는 생존율, 산란력, 수정률 그리고 부화율 등이 현저히 떨어지는 현상들이 보

고되어 있다 (Inoue and Takei, 2003; Kang *et al.*, 2008).

본 연구에 사용된 *O. dancena*는 인도, 버마, 방글라데시 및 미얀마 등지에 넓게 분포하고 있으며 (Robert, 1998), 기수에 주로 서식하고 있어 염분 농도에 대한 내성이 강한 어류이다 (Inoue and Takei, 2003). 본 종에 대해 최근 삼투압 적응 메커니즘 (Inoue and Takei, 2003; Kang *et al.*, 2008), 성결정 기작 (Takehana *et al.*, 2007) 그리고 분류·계통학적 연구 (Takehana *et al.*, 2005) 및 생식소 형성과정 (송 등, 2009) 등에 관한 연구결과가 보고되었지만, 그 외 생물학 및 유전학적 특성에 관한 연구들은 거의 보고된 바 없다.

송사리류의 난발생과 자치어의 형태 발달은 *O. latipes*를 대상으로 이전부터 많은 연구가 이루어졌으나 (Yamamoto, 1975; Hiraki and Iwamatsu, 1979; Iwamatsu, 2004), 바다에 서식하는 송사리에서는 *O. javanicus*의 난발생 (Iwamatsu and Hirata, 1984)이 보고된 것 이외에 다른 종에서 난발생과 자치어의 초기 생활사에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 특히, 바다에 서식하는 송사리인 *O. dancena*의 경우 해양생태계 실험 모델로서의 중요성에도 불구하고 이에 대한 연구가 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 *O. dancena*의 난발생 과정과 발육단계

*교신저자: 김동수 Tel: 82-51-629-5914, Fax: 82-51-629-5908,
E-mail: dongskim@pknu.ac.kr

에 따른 자치어와 성어의 형태 발달에 대하여 조사하였으며, 본 연구 결과가 성전환 실험, 생태독성 실험과 발생유전학 등 해양생태계 위해성 평가를 위한 연구의 기초자료를 제공할 것으로 생각된다.

재료 및 방법

1. 친어관리

본 실험에 사용된 *O. dancena*는 인도네시아로부터 자연산 (wild-type) 개체들을 수산동식물 이식승인에 관한 규칙에 의거 (농림수산식품부령 제1호)하여 수입하였으며, 실험실에서 6개월간 사육하여 친어로 사용하였다. 사육수는 해수와 담수를 5 μ m의 미세필터로 여과하여 1% 기수를 제조하여 사용하였으며 매일 1/2씩 환수하였다. 20L의 투명 유리수조에서 25 \pm 1°C로 유지하면서 광주기 (16L : 8D)를 조절하여 자연 산란을 유도하였다. 수정란을 수집하기 위하여 암컷 12마리 (평균전장: 39.08 \pm 2.97 mm)와 수컷 8마리 (평균전장: 41.99 \pm 1.58 mm)를 교배시켜 산란을 유도하였으며, 초기미립자사료 (이화사료, 500 μ m)와 brine shrimp (*Artemia nauplius*) 유생을 공급하였다.

2. 수정란의 수집과 관찰

산란한 직후 *O. dancena*의 암컷 개체에서 수정란을 떼내어 개체별 수정란을 25 \pm 1°C의 20 L 항온 부화수조 안에 설치한 부화망 (망목: 330 \times 330 μ m, 크기: 12 \times 5 \times 5 cm)으로 옮겼으며, 환수는 친어관리와 마찬가지로 행하였다. 수정란은 광학현미경 (Nikon E400, Japan)과 해부현미경 (Olympus SZH, Japan)으로 관찰하면서 수정된 개체의 90% 이상이 동일한 단계에 도달하였을 때를 기준으로 각 단계별 발생과정과 시간을 기록하였으며 현미경에 부착된 디지털 카메라 (ARTCAM-300MI, Japan)로 촬영하고 관찰하였다.

3. 자치어의 사육 및 관찰

부화한 자어는 친어 사육 조건과 동일한 조건 하에서 초기미립자사료 (이화사료, 150, 350, 500 μ m)를 발달 단계별로 순차적으로 공급하였으며, brine shrimp 유생을 병행 공급하며 사육하였다. 각 발생 단계별 특징을 관찰하기 위하여 발생단계별로 12마리의 자·치어를 무작위로 선별하여 얼음에 마취한 후, 전장 (total length)을 버니어 캘리퍼스 0.01 mm까지 측정하였고, 외부형태는 사진촬영을 하였다. 최초 산란시기를 알아보기 위하여 암컷 20마리와 수컷 12마리를 함께 사육하며 산란 여부를 관찰하였다.

Table 1. Egg development and morphological development of larvae of *Oryzias dancena*

Developmental stage	Time (after fertilization)
Blastodisc formation	1 hr
Two cells stage	1 hr 30 min
Four cells stage	2 hr
Eight cells stage	3 hr
Sixteen cells stage	3 hr 30 min
Thirty-two cells stage	4 hr 30 min
Morula stage	5 hr 30 min
Blastula stage	7 hr 45 min
Early gastrula stage	13 hr 15 min
Mid gastrula stage	16 hr 45 min
Late gastrula stage	21 hr 30 min
Early neurula stage	1 day 6 hr
Late neurula stage	1 day 7 hr
2 somite stage	1 day 8 hr
4 somite stage	1 day 10 hr 30 min
6 somite stage	1 day 13 hr
9 somite stage	1 day 22 hr
Formation of tubular heart stage	2 days 1 hr 30 min
Start of heart beating stage	2 days 4 hr
Onset of blood circulation stage	2 days 13 hr 30 min
Onset of retinal pigmentation stage	4 days
Gill blood vessel formation stage	4 days 20 hr
Formation of visceral blood vessels stage	6 days 12 hr
Heart and spleen development stage	8 days
Just hatched larvae	11 days
Juvenile stage	21 days
First ovulation stage	63 days

결 과

*O. dancena*의 난발생 과정 및 발육단계에 따른 자치어의 형태 발달 시간은 Table 1에 나타내었다.

난의 형태 및 난발생 과정

1) 수정

*O. dancena*의 수정란은 구형으로 침성, 점착성이었다. 난막은 무색투명하고, 난황은 옅은 황색이었다. 산란 직후의 수정란은 융모막 (chorion)과 난막 (embryonic membrane) 사이가 좁아 광학현미경 하에서 구분하기 어려우나, 약 10분 후에는 사이가 벌어져 확연히 구분되었다. 표층립 소포 (cortical alveoli)와 유구 (oil droplets)가 난황 전체에 퍼져 있으며, 유구의 크기와 수는 난의 발생 단계와 암컷 개체에 따라 다양하게 나타났다 (Fig. 1, stage 0).

2) 배반 형성 (Blastodisc)

수정 후 30분이 지나면 표층립 소포가 식물극에서 동물극 쪽으로 응집되었고, 유구들은 이와 반대로 식물극 쪽으로 이동하였다. 수정 후 40분이 지나면 동물극 쪽에 배반이 형성되기 시작하여 (Fig. 1, stage 1a), 수정 후 1시간 후에 완

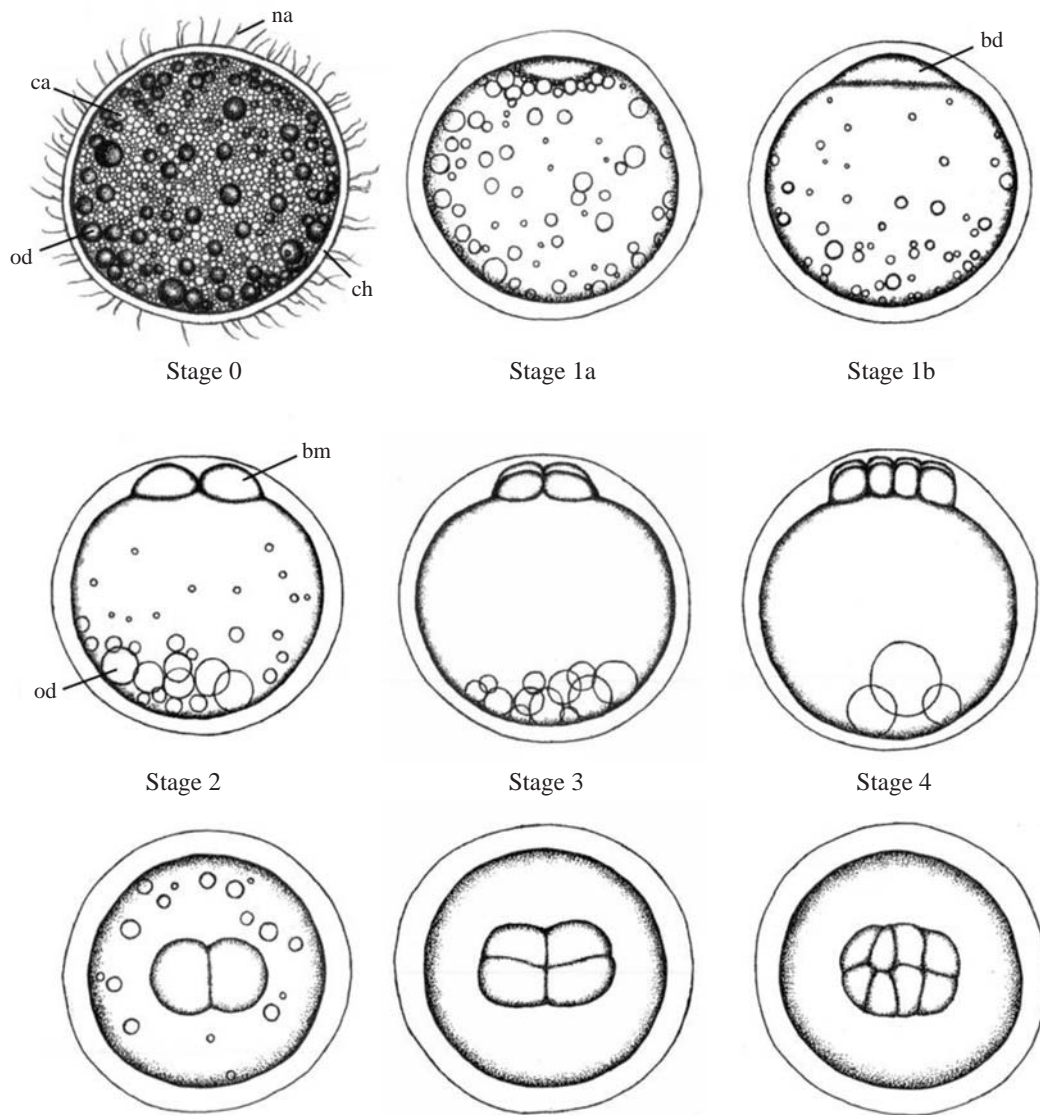


Fig. 1. Egg developmental stages of *Oryzias dancena*. Stage 0: Just fertilized egg. Stage 1: Formation of blastodisc. 1a, 40 min after fertilization (af); 1b, 1 hr af. Stage 2: 2 cell stage. 1 hr 30 min af. Stage 3: 4 cell stage. 2 hr af. Stage 4: 8 cell stage. 3 hr af. bd, blastodisc; bm, blastomeres. ca, cortical alveolus; ch, chorion; od, oil droplet; na, non-attaching filament.

전히 배반이 형성되었다(Fig. 1, stage 1b).

3) 난할과정 (Cleavage)

(1) 2 세포기 (2 cell stage): 수정 후 1시간 30분, 첫 번째 난할 (cleavage)이 이루어져 배반의 중앙 부위가 수직으로 이등분되어 2 세포기가 되었으며 (Fig. 1, stage 2), 두 번째 난할이 시작되기 전 할구 (blastomere)의 높이가 이보다 더 편평해지는 것이 관찰되었다.

(2) 4 세포기 (4 cell stage): 수정 후 2시간, 두 번째 난할이 완전히 이루어져 2 세포기의 할구들이 다시 이등분되어 4 개의 할구로 나뉘었다 (Fig. 1, stage 3).

(3) 8 세포기 (8 cell stage): 수정 후 3시간, 4 세포기의 난할들이 후에 첫 번째 난할 방향과 평행하게 이등분되어 8 개의 할구로 나뉘었다 (Fig. 1, stage 4).

(4) 16 세포기 (16 cell stage): 수정 후 3시간 30분, 8 개의 할구에 난할이 수직과 수평 방향으로 이루어져 16 세포기가 되었고 할구의 크기가 작아졌다 (Fig. 2, stage 5).

(5) 32 세포기 (32 cell stage): 수정 후 4시간 30분, 16 세포기의 가장 자리에 있던 12 개의 할구는 나뉘어 24 개의 할구로 되었고, 가운데의 4 개의 할구는 2 점으로 겹치며 8 개의 할구로 나뉘어 모두 32 개의 할구로 나뉘었다 (Fig. 2, stage 6).

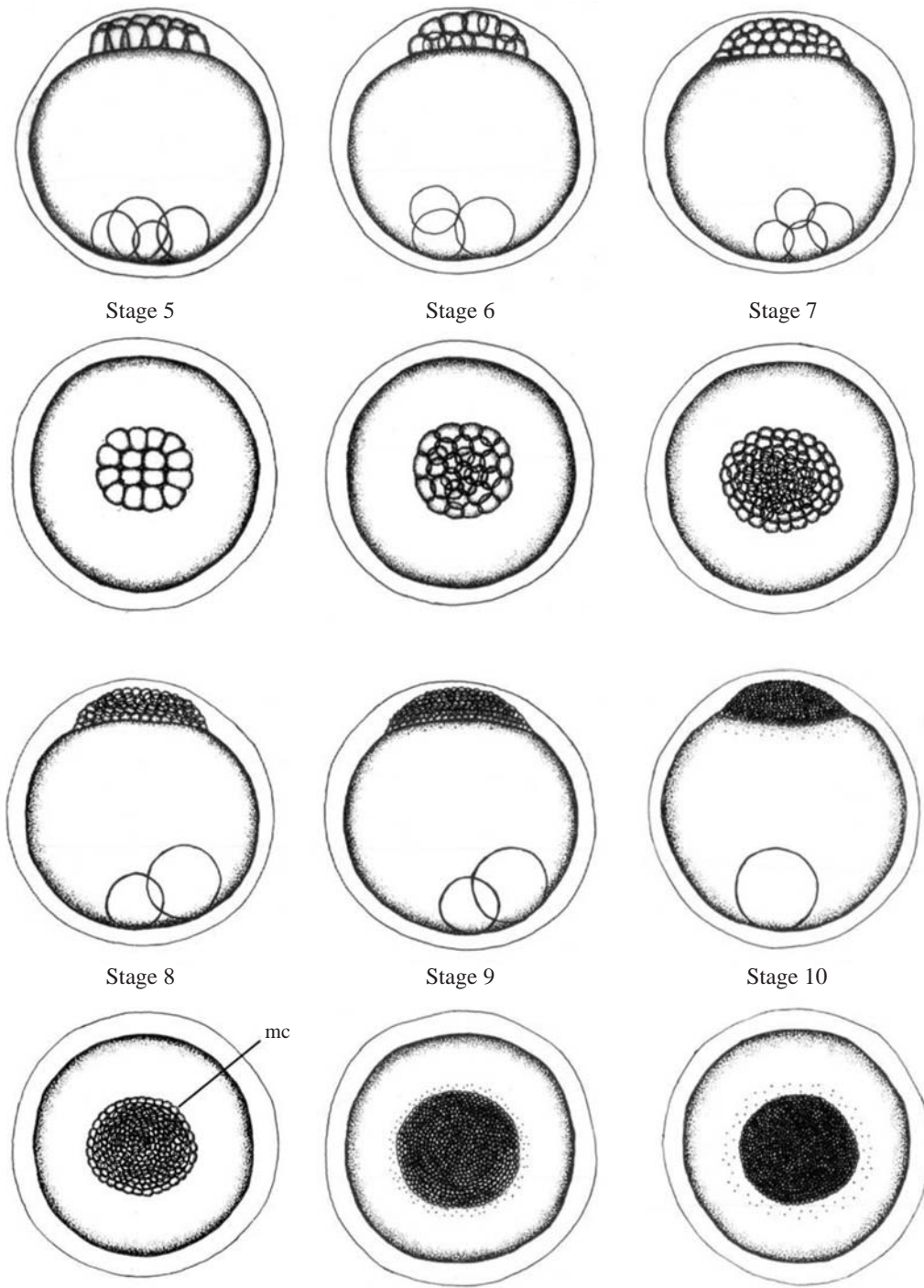


Fig. 2. Egg developmental stages of *Oryzias dancena*. Stage 5: 16 cell stage. 3 hr 30 min after fertilization (af). Stage 6: 32 cell stage. 4 hr 30 min af. Stage 7: Early morula stage. 5 hr 30 min af. Stage 8: Late morula stage. 6 hr 45 min af. Stage 9: Early blastula stage. 7 hr 45 min af. Stage 10: Late blastula stage. 9 hr af. mc, marginal cell.

4) 상실기(Morulation)

(1) 초기 상실기 (early morula stage): 수정 후 5시간 30분, 할구들이 3~4겹으로 둥 형태를 이루며 분열되며, 배반 가장자리의 할구들(21~24)은 평평한 형태를 이뤘다. 할구의

수를 정확하게 세는 것은 힘들지만, 각각의 할구들을 광학 현미경 하에서 관찰하는 것이 가능했다(Fig. 2, stage 7).

(2) 후기 상실기 (late morula stage): 수정 후 6시간 45분, 할구의 크기가 초기 상실기에서 보다 더 작아지고 배반 가

장자리의 할구의 수 (35~40)가 증가되었으며, 할구들이 4~5점으로 겹쳐졌다(Fig. 2, stage 8).

5) 포배기(Blastulation)

(1) 초기 포배기(early blastula stage): 수정 후 7시간 45분, 할구의 크기가 후기 상실기에 비해 작아졌음에도 불구하고, 배반엽(blastoderm)이 높아지고 두꺼워짐이 관찰되었다(Fig. 2, stage 9).

(2) 후기 포배기(late blastula stage): 수정 후 9시간, 배반엽이 계속해서 높고 두껍게 유지되다 낭배기에 이르기 전인 수정 후 11시간에 배반의 가장자리(marginal cell)가 식물극 쪽으로 완만하게 기울어지며 확장되었다(Fig. 2, stage 10).

6) 낭배기(Gastrulation)

(1) 초기 낭배기 이전 단계(pre-early gastrula stage): 수정 후 11시간 30분, 배반엽이 난황 쪽으로 확장되며 두께가 얇아졌다(Fig. 3, stage 11).

(2) 초기 낭배기(early gastrula stage): 수정 후 13시간 15분, 배반엽이 아래쪽으로 계속 확장되어 난황의 약 1/4을 덮어 피포(epiboly) 현상을 유지하였다(Fig. 3, stage 12).

(3) 중기 낭배기 이전 단계(pre-mid gastrula stage): 수정 후 14시간, 피복 현상이 진행되면서 배반엽이 난황의 약 1/3을 덮었다. 원구배순(dorsal lip)이 나타났으며 배순(embryonic shield)의 크기가 증가하였다(Fig. 3, stage 13).

(4) 중기 낭배기(mid gastrula stage): 수정 후 16시간 45분, 배반이 난황의 1/2을 덮었다(Fig. 3, stage 14).

(5) 후기 낭배기(late gastrula stage): 수정 후 21시간 30분, 배반이 난황의 3/4을 덮었고, 배순이 좀더 명확한 선으로 관찰되었으며, 이 단계까지 배반이 계속해서 난황을 감싸 내려와 배체(embryonic body)가 나타났다(Fig. 3, stage 15).

7) 기관형성과정(Organogenesis)

(1) 초기 신경배(early neurula stage): 수정 후 1일 6시간, 얇은 배반엽이 식물극 쪽만 남기고 난황을 거의 다 덮었다. 배체가 명확하게 나타나고 배체의 머리가 형성되었다. Kuffer's vesicle이 배체의 꼬리쪽에서 관찰되었다(Fig. 3, stage 16).

(2) 후기 신경배(late neurula stage): 수정 후 1일 7시간, 배체의 양쪽 두부 부분에 안포의 흔적(rudimentary eye vesicle)이 나타나고, Kuffer's vesicle의 크기가 좀 더 커졌다. 식물극 쪽에는 아직 난황 부분이 원구(blastopore)를 형성하고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 4, stage 17).

(3) 2 체절기(2 somite stage): 수정 후 1일 8시간, 양쪽 시엽(optic lobe)에 패인 홈(groove)이 나타났고, 원구가 완전히 닫혔다(Fig. 4, stage 18).

(4) 4 체절기(4 somite stage): 수정 후 1일 10시간 30분, 안포(optic vesicle)의 원기(placode) 쌍을 머리쪽에서 관찰하였으며, 전뇌, 중뇌, 후뇌(the fore-, the mid- and the hind-brain)가 구별되었다(Fig. 4, stage 19).

(5) 6 체절기(6 somite stage): 수정 후 1일 13시간, 안포가 발달되어 안배(optic cup)가 관찰되었다. 귀소포(otic vesicle)와 렌즈(lens)가 형성되기 시작하였다. 뇌의 세 부분이 잘 구별되었으며, 체강(body cavity)이 난황구(yolk sphere)의 표면에 나타났다(Fig. 4, stage 20).

(6) 9 체절기(9 somite stage): 수정 후 1일 22시간, 체강이 안포 부근까지 확장되었으며, 흑색소포(melanophore)들이 난황구 위에 나타나기 시작하였고, 안포 내에 불완전한 렌즈가 나타났다(Fig. 4, stage 21).

(7) 심장기관 형성 단계(formation of tubular heart stage): 수정 후 2일 1시간 30분, 한 쌍의 반원형의 혈관(blood vessel)이 난황구 위에 형성되었고, 안포 안에는 둥근 구형의 렌즈가 완성되었다. Kuffer's vesicle의 크기가 조금 줄어들었으며, 혈액섬(blood island)을 관찰하였다(Fig. 4, stage 22).

(8) 심장박동 시작 단계(start of heart beating stage): 수정 후 2일 4시간, 꼬리가 신장되어 배체가 난황구의 거의 1/2을 둘러싸고, 심장 앞쪽 부분에서 미약하게 심장박동이 관찰되었다. Kuffer's vesicle이 거의 사라졌다(Fig. 5, stage 23).

(9) 혈액순환 시작 단계(onset of blood circulation stage): 수정 후 2일 13시간 30분, 심장박동에 의해 혈액 순환(Blood circulation)이 시작되었고, 혈액은 심장에서 나와 전주정맥(anterior cardinal vein)과 배대동맥(dorsal aorta)으로 흘렀다. 배체가 난황구의 거의 5/8를 둘러싸고, Kuffer's vesicle이 완전히 사라졌다(Fig. 5, stage 24).

(10) 망막색소 출현 단계(onset of retinal pigmentation stage): 수정 후 4일간, 꼬리 끝이 완전하게 난황에서 완전히 떨어졌고, 배체가 난황구를 거의 3/4까지 감쌌다. 망막색소(retinal pigment)가 생겼으며, 등쪽(dorsal wall)에는 구아노포어(guanophore)가 퍼져 있는 것이 관찰되었다. 가슴지느러미(pectoral fin)와 미부에 막성지느러미(fin-fold)가 형성되고, 간(liver)과 아가미(gill)가 관찰되었으며, 혈구는 얇아지고 납작해졌다(Fig. 5, stage 25).

(11) 아가미 혈액 순환 단계(gill blood vessel formation stage): 수정 후 4일 20시간, 아가미에 혈액이 돌기 시작하였고, 부레(air bladder)가 관찰되었다. 눈은 멜라닌색소포에 의해 전 단계에 비해 더욱 짙어졌으며, 꼬리의 끝부분까지 혈액이 돌아나오기 시작하였다(Fig. 5, stage 26).

(12) 장기혈관 형성기(formation of visceral blood vessels stage): 수정 후 6일 12시간, 꼬리지느러미가 신장되어 난각에 의해 구부러져 안구 가장자리 끝까지 닿았고 난황의 부

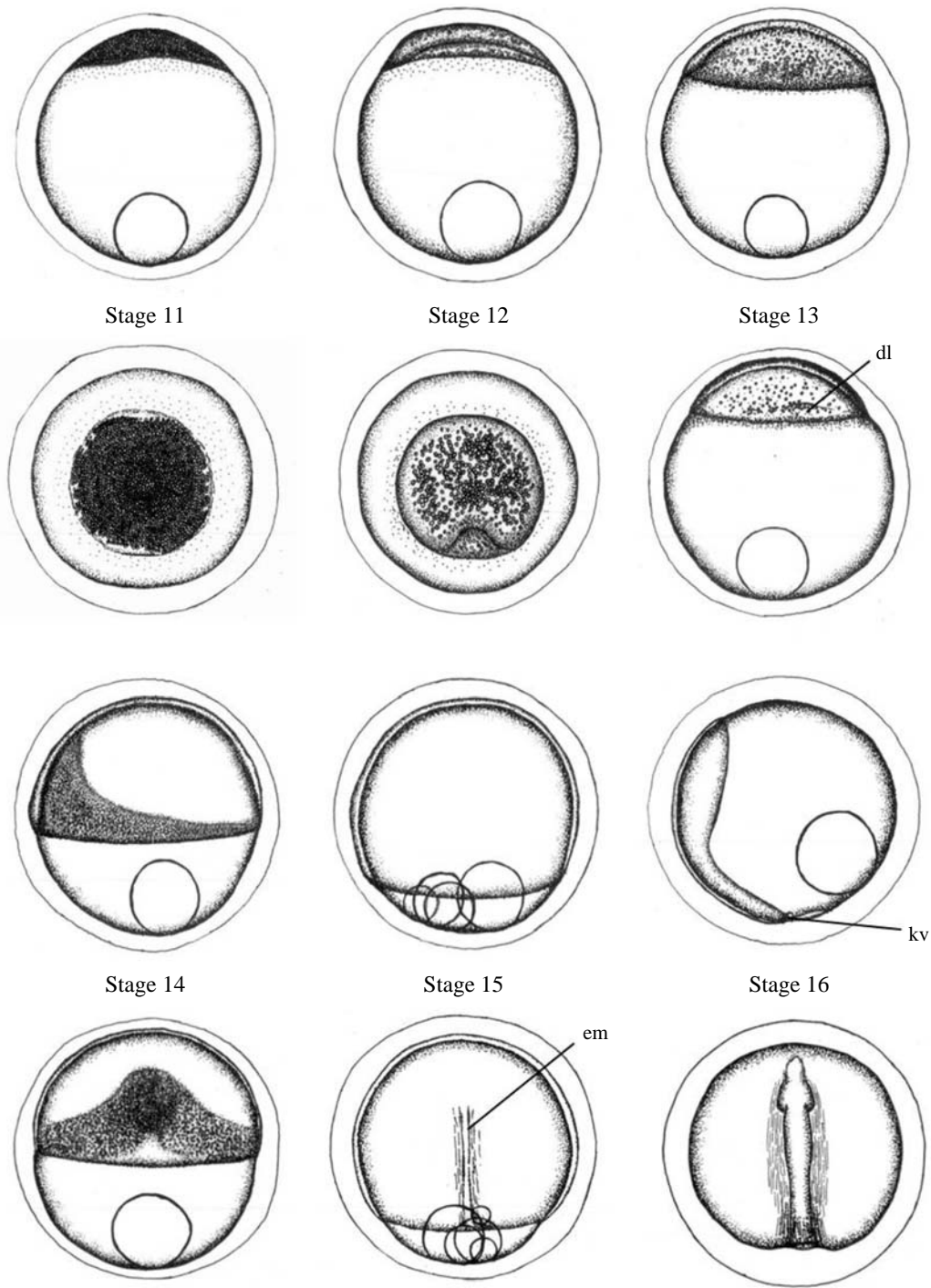


Fig. 3. Egg developmental stages of *Oryzias dancena*. Stage 11: Pre-early gastrula stage. 11 hr 30 min after fertilization (af). Stage 12: Early gastrula stage. 13 hr 15 min af. Stage 13: Pre-mid gastrula stage. 14 hr af. Stage 14: Mid gastrula stage. 16 hr 45 min af. Stage 15: Late gastrula stage. 21 hr 30 min af. Stage 16: Early neurula stage. 1 day (d) 6 hr af. dl, dorsal lip of blastopore; em, embryonic body; kv, Kuffer's vesicle.

피가 2/3 정도로 줄어들었다. 신장이 관찰되었으며, 잘 발달된 황록색의 담낭 (gallbladder)을 확인하였다. 혈액이 두부 내부 조직까지 순환하기 시작하였고, 가슴지느러미에 혈액이 순환되면서 미미하게 움직이는 것이 확인되었다. 구강 (oral cavity)이 입까지 열렸으며, 눈은 완전히 검게 변해 빛

이 통과되지 않았다. 구아노포어가 두부에서 꼬리 끝 부근까지 분포하였다 (Fig. 5, stage 27).

(13) 심장 · 신장 발달기 (heart and spleen development stage): 수정 후 8일간, 꼬리 끝이 안포를 지나서 몸통까지 확장되었다. 장 (gut)이 뚜렷이 보였으며, 꼬리지느러미 기초

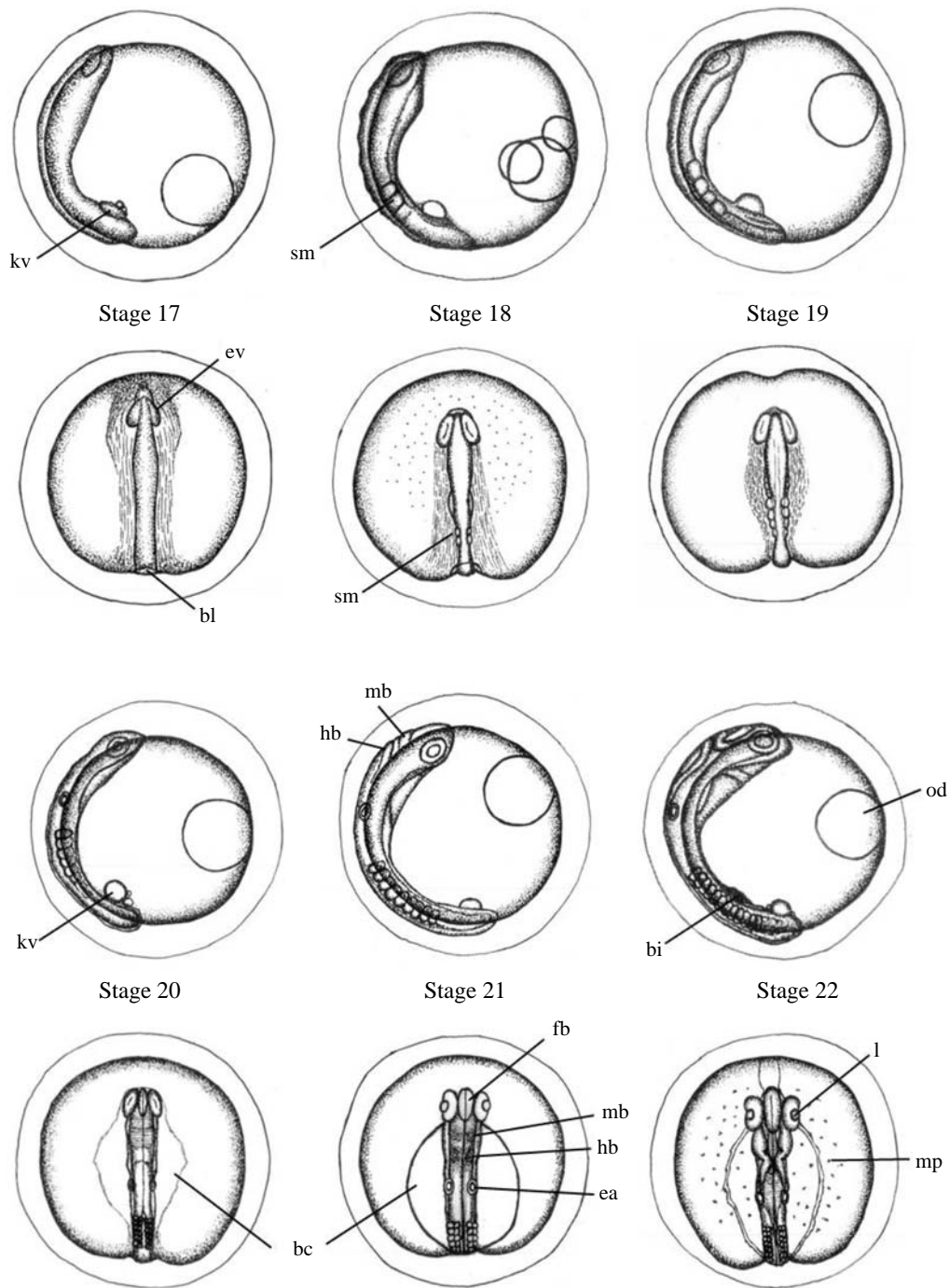


Fig. 4. Egg developmental stages of *Oryzias dancena*. Stage 17: Late neurula stage. 1 day (d) 7 hr after fertilization (af). Stage 18: 2 somite stage. 1 d 8 hr af. Stage 19: 4 somite stage. 1 d 10 hr 30 min af. Stage 20: 6 somite stage. 1 d 13 hr af. Stage 21: 9 somite stage. 1 d 22 hr af. Stage 22: Formation of tubular heart stage. 2 d 1 hr 30 min af. bc, body cavity; bi, blood island; bl, blastopore; ea, ear vesicle; ev, eye vesicle; fb, fore-brain; hb, hind-brain; kv, Kuffer's vesicle; mb, mid-brain; mp, melanophore; od, oil droplet; sm, somite; l, lens.

(rays)와 둥글고 붉은 신장이 관찰되었다. 양 눈은 활발하게 움직였으며, 동시에 꼬리와 가슴지느러미도 활발하게 움직이면서 회전운동이 관찰되었다(Fig. 5, stage 28).

8) 자·치어기(Larvae and juvenile stage)

수정 후 11일째 배체가 난각 안에서 매우 활발하게 회전하며 두부와 미부 부분의 난각을 압박하여 약화시킴으로써, 배체의 꼬리 부분이 먼저 난각을 뚫고 부화되었다. 부화

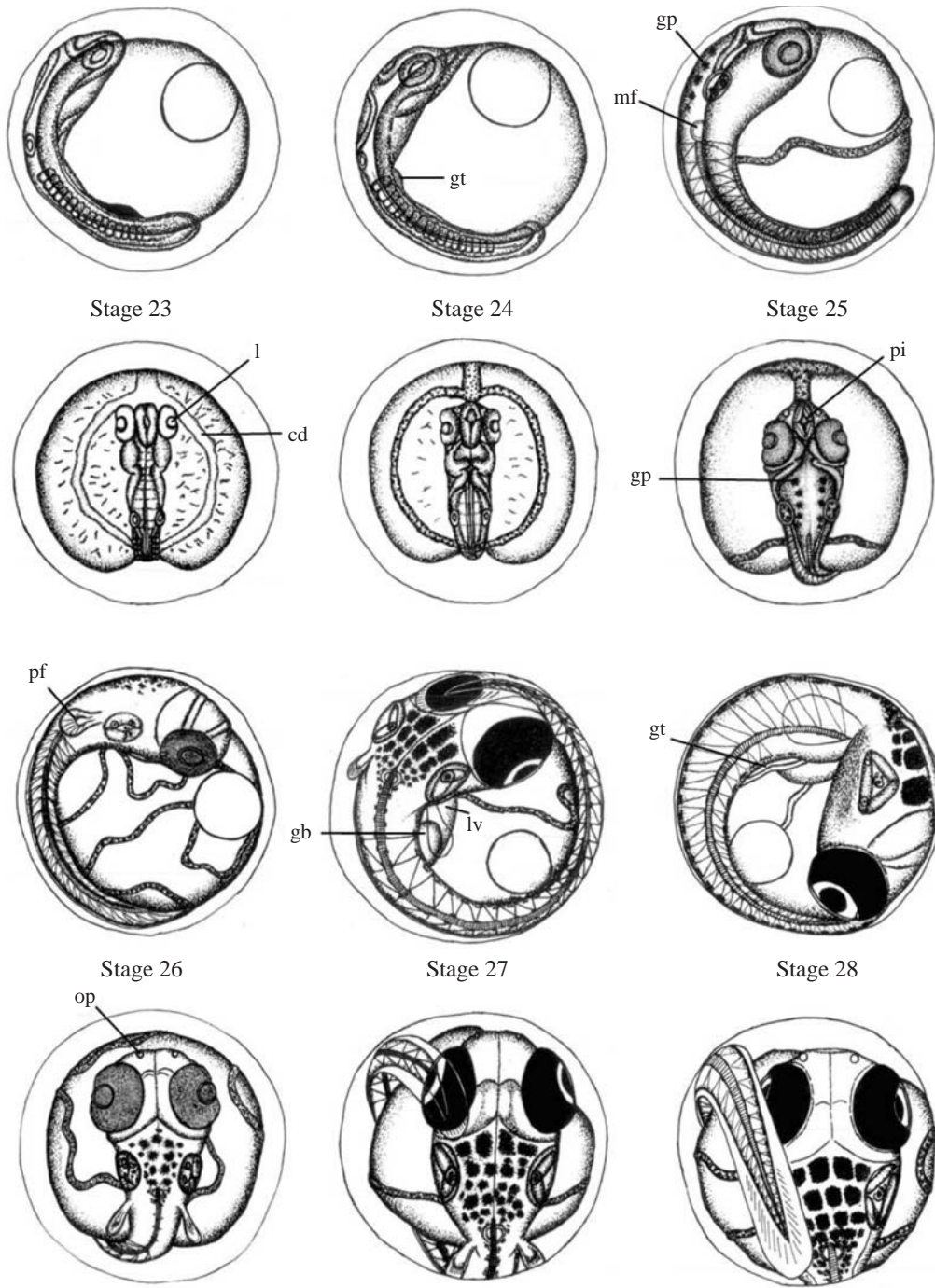


Fig. 5. Egg developmental stages of *Oryzias dancena*. Stage 23: Start of heart beating stage. 2 days (d) 4 hr after fertilization (af). Stage 24: Onset of blood circulation stage. 2 d 13 hr 30 min af. Stage 25: Onset of retinal pigmentation stage. 4 d af. Stage 26: Gill blood vessel formation stage. 4 d 20 hr af. Stage 27: Formation of visceral blood vessels stage. 6 d 12 hr af. Stage 28: Heart and spleen development stage. 8 d af. cd, Cuvierian duct; gb, gallbladder; gp, guanophore; gt, gut tube; l, lens; lv, liver; pf, pectoral fin; pi, pineal gland; op, olfactory pit; mf, membranous fin (fin fold).

자어는 전장이 평균 4.40 ± 0.24 mm (n=12)였고, 두부와 체측 위쪽부터 꼬리 끝까지 구아노포어가 많이 분포해 있고 가슴지느러미와 꼬리지느러미를 사용하여 운동하였다. 가슴지느러미와 꼬리지느러미의 기조가 발달되었고, 꼬리지느러

미에는 7~8개의 기조가 관찰되었다(Fig. 6, stage 29). 부화 후 3일째에 난황을 거의 다 흡수하였으며 이 때 전장은 평균 4.55 ± 0.23 mm (n=12)였다(Fig. 6, stage 30).

부화 후 21일째에는 전장이 평균 8.67 ± 0.87 mm (n=12)

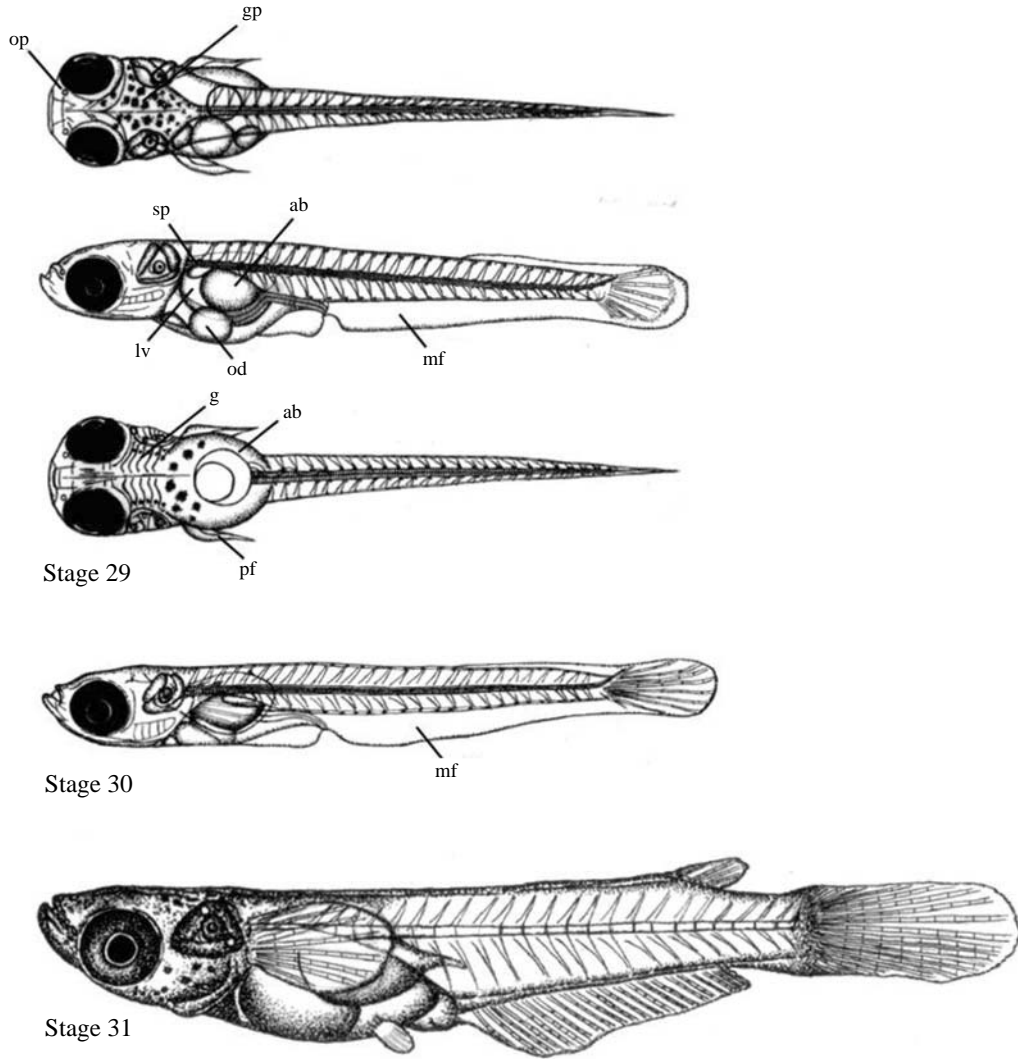


Fig. 6. Morphological development of the larvae of *Oryzias dancena*. Stage 29: Just hatched out larva. 11 days (d) after fertilization (af). Stage 30: 3 d post-hatching (ph). Stage 31: Juvenile stage. 21 d ph. ab, air bladder; g, gill; gp, guanophore; lv, liver; mf, membranous fin (fin fold); od, oil droplet; op, olfactory pit; pf, pectoral fin; sp, spleen.

로 신장하였고, 등쪽과 배쪽의 막지느러미로부터 등지느러미와 배지느러미가 각각 분리되어 막 지느러미가 꼬리 자루 부분을 제외하고는 모두 소실되었다. 또한 이 시기에 꼬리지느러미에 18개, 등지느러미에 6~7개, 가슴지느러미에 9~10개, 뒷지느러미에 23~24개로 성어와 동일하게 지느러미 기조가 발달하였다(Fig. 6, stage 31).

9) 성 어

부화 후 9주째가 되면 평균 전장이 22.58 ± 2.73 mm (n=12)로 자라 최초 산란이 이루어지고, 등지느러미와 뒷지느러미의 형태를 통해 암컷과 수컷을 쉽게 구분할 수 있었다. 평균 전장이 33.14 ± 2.29 mm (n=12)가 되는 부화 후 12주째 개체의 경우 암컷의 배 앞부분이 유선형으로 완만

한 것과 비교하여 수컷의 배 앞부분이 크게 부풀어 올랐으며, 수컷의 등지느러미의 크기가 암컷보다 길게 신장되었다. 뒷지느러미의 경우 암컷의 지느러미 기조 끝이 2가닥으로 갈라져 발달하는 것과 달리 수컷의 경우 기조의 끝이 갈라지지 않고, 7~14번째 기조의 길이가 길게 신장되어 암컷에 비하여 크고 긴 뒷지느러미를 형성하였다(Fig. 7, stage 32).

고 찰

*O. dancena*의 난은 구형으로 난각은 투명한 침성·점착성으로 같은 *Oryzias* 속의 송사리 (*O. latipes*), 대륙송사리

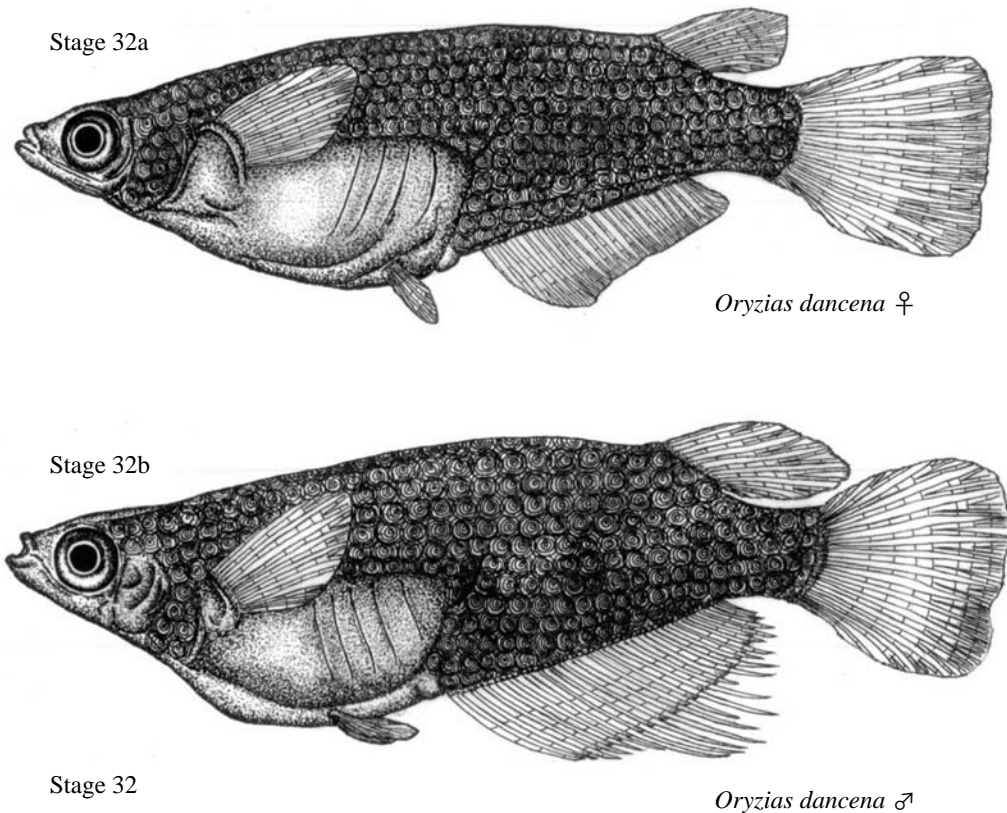


Fig. 7. Morphological development of adult fish of *Oryzias dancena*. Stage 32: First ovulation stage. 12 weeks post-hatching. 32a: Female, 32b: Male.

(*O. sinensis*) 그리고 *O. javanicus*의 난과 형태적 특징이 동일하게 나타났다(Iwamatsu and Hirata, 1984; 박과 최, 1998; Iwamatsu, 2004). 한편, 다른 분류군에서 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)의 성숙 난은 담황색을 띤 분리침성점착란으로 보고되었다(김 등, 1987). 청어목 청어과의 전어(*Konosirus punctatus*), 정어리와 멸치과의 멸치(*Engraulis japonicus*), 싱어(*Coilia mystus*)와 가자미목의 대부분의 어류가 분리부성란을 산란한다(정, 1977). 반면, 점가자미(*Limanda schrencki*) (Yusa, 1960a)와 문치가자미(*Pseudopleuronectes yokohamae*) (Yusa, 1960b) 등은 침성점착란으로 알려져 있어 서로 근연종이라 하더라도 난의 형태적 특징이 다르게 나타났다.

수정란의 유구에 있어 *O. dancena*는 여러 개의 유구가 하나의 큰 유구로 되는 시기가 수온 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 11시간째인 후기 포배기에 관찰되었다. *O. latipes*의 경우 하나의 큰 유구로 되는 시기가 수정 후 38시간째인 9체절기에 관찰되었으며(Iwamatsu, 2004), *O. sinensis* ($26 \pm 1^\circ\text{C}$)에서는 12 체절기(수정 후 31시간 쯤)에 나타났다(박과 최, 1998). *O. javanicus*는 수온 26°C 에서 수정 후 11시간째인 전기 낭배기에 유구가 하나로 모여(Iwamatsu and Hirata,

1984), 4종 모두 유구를 가지고 있으며, 여러 개의 유구들이 모여 하나의 커다란 유구가 되는 시기는 서로 달랐고, *O. dancena*에서 가장 빠른 시기에 나타났다. 유구의 유무는 가자미목 어류에 있어 큰 특징으로 알려져 있어(Mito, 1963) 대부분의 가자미목 어류가 유구를 가지고 있지 않은 반면, 도다리(*Pleuronichthys cornutus*) (Takita and Fujita, 1964)는 1개의 유구를 가진다고 보고되었다. 따라서 *Oryzias* 속에서도 유구를 가지고 있지 않은 종이 있는지 다른 종에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

부화에 있어 *O. dancena* (25°C)는 수정 후 11일째에 부화하였다. *O. latipes* (25°C)는 수정 후 9일만에 부화하였고(Iwamatsu, 2004) *O. sinensis*의 경우 수온 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 하에서 수정 후 7일째에 부화하였다(박과 최, 1998). 따라서 *O. dancena*는 부화 시기가 *O. latipes*보다 2일, *O. sinensis*보다 4일 늦게 나타났다. *O. dancena*와 같이 해수에 서식하는 *O. javanicus*의 부화 시기는 이전의 연구 결과와 동일한 온도인 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 10일 정도에 이루어진다는 보고(Iwamatsu and Hirata, 1984)와 14일째에 이루어진다는 보고로(Kakuno et al., 2001), 연구 결과가 서로 상이하게 나타났다. 이는 수정란을 50%로 희석한 생리식염수(saline)에서

배양한 것 (Iwamatsu and Hirata, 1984)과 해수에서 배양 (Kakuno *et al.*, 2001)한 차이로 보인다. 따라서 *O. dancena*의 경우 수정란을 염분도별로 비교하여, 난발생 시기와 부화시기가 빠른 조건을 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

*O. dancena*의 부화 직후 자어는 전장이 4.40 ± 0.24 mm로, *O. latipes*의 부화자어의 전장이 4.5 mm (Iwamatsu, 2004), *O. javanicus*의 부화자어에서 전장이 약 4.5 mm (Kakuno *et al.*, 2001)인 것과 비교하여 큰 차이가 없었다. 하지만, *O. sinensis*는 부화자어의 전장이 3.73 ± 0.15 mm로 나타나 같은 속에 속하는 위의 4종들 중 가장 작은 것으로 나타났다 (박과 최, 1998).

난황의 흡수에 있어 *O. dancena*는 전장이 4.55 ± 0.23 mm인 부화 3일 후에 난황을 거의 흡수하였다. *O. latipes*는 *O. dancena*와 같이 부화 3일 후에 거의 난황이 흡수되었지만, *O. sinensis*의 경우 4일이 소요되었으며 부화자어의 크기도 작고 난황흡수 시기도 더 느린 것으로 나타났다 (박과 최, 1998).

각 지느러미의 기조는 *O. dancena*의 경우 전장이 8.67 ± 0.87 mm가 되는 부화 후 21일째 개체에서 완전히 형성되었다. *O. latipes*에서 Iwamatsu (2004)는 stage 43단계인 전장 10.5~15.5 mm의 개체에서 각 지느러미의 기조가 형성된다고 보고하였는데, 박과 최 (1998)의 연구에서는 부화 후 28일째 전장 14.3~21.2 mm 범위의 개체에서 각 지느러미 기조가 완전하게 형성된다고 보고하여, 연구 결과가 다르게 나타났다. 하지만, *O. dancena*와 비교해서는 모두 전장의 길이가 더 큰 시기에 치어기에 도달하였다. *O. sinensis*는 *O. dancena*와 같은 시기인 부화 후 21일째에 각 지느러미 기조가 완전하게 형성되어 치어기로 이행된다고 하였으며 (박과 최, 1998), 이 시기에 전장은 13.0~15.8 mm 범위로 전장의 길이가 *O. latipes*보다는 작지만 *O. dancena*보다 더 컸다. 따라서 *O. dancena*는 치어기로 이행되는 시기가 *O. latipes*보다는 7일 더 빠르게 나타났고, *O. sinensis*와는 차이가 없었다. 하지만 전장의 길이에서 *O. dancena*가 앞의 두 종보다 더 작은 시기에 치어기로 이행하는 것을 알 수 있었다.

최초 산란 시기에 있어 *O. dancena*는 부화 후 약 9주가 소요되었다. *O. latipes*와 *O. sinensis*는 부화 후 약 3개월이 지난 후에 최초 산란이 보고되었으며 (박과 최, 1998), *O. javanicus*는 약 100일 후에 산란을 시작하여 (Kakuno *et al.*, 2001), *O. dancena*의 산란 도달 성장 기간이 약 30일 정도 빠른 것으로 나타났다.

본 연구에서는 바다에 서식하는 송사리인 *O. dancena*의 난발생 과정과 자치어 형태 발달에 대해 조사하였다. 기존의 연구에서 같은 속에 속하는 바다 송사리는 *O. javanicus* 이외에는 없어 (Iwamatsu and Hirata, 1984), 다른 종들에 대

한 발생학적 연구가 부재하므로 앞으로 이에 대한 비교 연구가 진행되어야 할 필요성이 있다고 생각된다.

사 사

본 연구는 국토해양부 해양환경복원기술개발사업 (과제번호 20088033-1)의 지원에 의해 수행되었습니다.

요 약

*Oryzias dancena*의 난발생 과정과 자치어의 형태발달에 관하여 관찰하였다. 수온 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 수정란은 수정 후 1시간이 경과하면 배반이 형성되었다가 30분의 간격으로 4세포기까지 난할이 이루어졌다. 이후로 발생의 속도가 느려져 수정 후 7시간 45분이 경과된 후 포배기에 이르렀다. 수정 후 5시간 30분 후에 상실기에 도달하였으며, 포배기는 수정 후 7시간 45분 후에 이루어졌다. 수정 후 11시간 30분이 경과된 후 낭배기에 이르렀고, 수정 후 1일 6시간 후, 신경배를 형성하였다. 심장 박동이 시작되는 시기는 수정 후 2일 4시간째에 이루어졌으며, 수정 후 6일 12시간째 장기에 혈관이 형성되었다. 수정 후 11일째에 부화하였고, 부화 직후 자어는 전장이 4.40 ± 0.24 mm였으며, 부화 3일 후에 난황이 완전히 흡수되어 후기 자어기로 이행하였다. 부화 후 21일째에 각 지느러미 기조가 완전하게 형성되어 치어기로 이행하였으며, 이 때 전장은 8.67 ± 0.87 mm였다. 최초 산란이 이루어지는 시기는 부화 후 9주째로 전장은 22.58 ± 2.73 mm였다.

인 용 문 헌

- 김용억 · 박양성 · 김동수. 1987. 미꾸라지의 난발생과 자치어. 한국수산학회지, 20: 16-23.
- 박신석 · 최두신. 1998. 송사리와 대륙송사리의 산란, 난발생 및 자어의 성장 한국육수학회지, 31: 109-118.
- 송하연 · 남윤권 · 방인철 · 김동수. 2009. 해산 송사리 *Oryzias dancena*의 초기 생식소 형성 및 성분화. 한국어류학회지, 21: 141-148.
- 정문기. 1977. 한국어도감. 일지사, 727pp.
- Hiraki, M. and T. Iwamatsu. 1979. Histological observations on developmental process of the medaka egg. Bull. Aichi Univ. Educ. 28(Nat. Sci.): 73-78. (in Japanese)
- Inoue, K. and Y. Takei. 2003. Asian medaka fishes offer new models for studying mechanisms of seawater adaptation. Comp. Biochem. Physiol., 136: 635-645.
- Ishikawa, Y. 2000. Medaka fish as a model system for vertebrate

- developmental genetics. *BioEssays*, 22: 487-495.
- Iwamatsu, T. 2004. Stages of normal development in the medaka *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, 121: 605-618.
- Iwamatsu, T. and K. Hirata. 1984. Normal course of development of the Java medaka, *Oryzias javanicus*. *Bull. Aichi. Univ. Edu.*, 33: 87-109.
- Kakuno, A., K. Fujii and J. Koyama. 2001. Histological studies on the gonadal development in Java medaka (*Oryzias javanicus*). *Bull. Fish. Res. Agen.*, 1: 35-37. (in Japanese)
- Kang, C.K., S.C. Tsai, T.H. Lee and P.P. Hwang. 2008. Differential expression of branchial Na^+/K^+ -ATPase of two medaka species, *Oryzias latipes* and *Oryzias dancena*, with different salinity tolerances acclimated to fresh water, brackish water and seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, 151: 566-575.
- Mito, S. 1963. Pelagic fish eggs from Japanese waters-IX. Echeiiformes and Pleuronectiformes. *Japanese. J. Ichthyol.*, 11: 81-102. (in Japanese)
- Naruse, K., A. Shima, M. Matsuda, M. Sakaizumi, T. Iwamatsu, B. Soeroto and H. Uwa. 1993. Description and phylogeny of rice fish and their relatives belonging of the suborder Adrianichthyoidei in Sulawesi, Indonesia. *Fish. Biol. J. MEDAKA*, 5: 11-15.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the World*. 4th edition, pp. 276-277.
- Parenti, L.R. and B. Soeroto. 2004. *Adrianichthys roseni* and *Oryzias nebulosus*, two new rice fishes (Atherinomorpha: Belontiiformes: Adrianichthyidae) from Lake Poso, Sulawesi, Indonesia. *Ichthyol. Res.*, 51: 10-19.
- Roberts, T.R. 1998. Systematic observations on tropical Asian medakas or ricefishes of the genus *Oryzias*, with descriptions of four new species. *Ichthyol. Res.*, 45: 213-224.
- Takehana, Y., D. Demiyah, K. Naruse, S. Hamaguchi and M. Sakaizumi. 2007. Evolution of different Y chromosomes in two medaka species, *Oryzias dancena* and *O. latipes*. *Genetics*, 175: 1335-1340.
- Takehana, Y., K. Naruse and M. Sakaizumi. 2005. Molecular phylogeny of the medaka fishes genus *Oryzias* (Belontiiformes: Adrianichthyidae) based on nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 36: 417-428.
- Takita, T. and S. Fujita. 1964. Egg development and prolarval stages of the turbot, *Pleuronichthys cornutus* (Temminck et Schlegel). *Bull. Japanese. Soc. Sci. Fish.*, 30: 613-618. (in Japanese)
- Wittbrodt, J., A. Shima and M. Scharlt. 2002. Medaka-a model organism from the far east. *Nat. rev. Genet.*, 3: 53-64.
- Yamamoto, T. 1975. Stages in development. In: Yamamoto, T. (ed.), *Medaka (Killifish): Biology and Strains*. Keigaku Publ. Co., Tokyo, pp. 30-58.
- Yusa, T. 1960a. Differences of structures of eggs and larvae between *Limanda yokohamae* Günter and *Limanda schrenckii* Schmidt. *Bull. Mar. Biol. Station Ashamushi*, 10: 127-131.
- Yusa, T. 1960b. Eggs and larvae of flatfishes in the costal water hokkaido IV. Embryonic development of Mubdab, *Limanda yokohamae* Günter. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, 17: 15-30.