

경골어류 잉어과 쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)의 난자형성과정

김동희, 김완중¹, 등영건, 김 석², 이규재*

연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실, 기초의학연구소, ²중앙연구소

¹순천향대학교 자연과학대학 생명과학과

The Oogenesis of *Coreoleuciscus splendidus*, Cyprinidae, Teleostei

Dong-Heui Kim, Wan-Jong Kim¹, Yung-Chien Teng,
Seok Kim² and Kyu-Jae Lee*

Department of Environmental Medical Biology, Institute of Basic Medical Science, and
²Central Research Lab, Wonju College of Medicine, Yonsei University,
Wonju, Gangwon 220-701, Korea

¹Department of Life Science, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

(Received January 6, 2010; Revised March 18, 2010; Accepted March 20, 2010)

ABSTRACT

Coreoleuciscus splendidus is a teleost belonging to Gobioninae, Cyprinidae. The oogenesis was investigated by light microscope.

The ovary was located between intestine and air bladder, a grayish and ellipsoidal shape with the major axis 20 mm and the minor axis 5 mm. Cytoplasm of oogonia was basophilic and many nucleoli were located at inside of nuclear membrane. In primary oocytes, yolk vesicles were distributed only in the marginal area and egg envelope was not formed on the outside of an egg. In secondary oocytes, the egg envelope was formed and yolk vesicles in the cytoplasm were increased than the earlier stage. The basophilic substance of cytoplasm was changed to acidic. In case of matured egg, thickness of egg envelope and size of egg were increased. The yolk vesicles were changed to yolk mass in accordance with development.

In conclusion, the oogenesis of *C. splendidus* was characterized by the increase in cell size, the formation and accumulation of yolk, and the decrease of basophilic substance in the cytoplasm. The oogenesis of *C. splendidus* is similar with other Cyprinidae fishes. But further study on ultrastructural study of fertilized egg envelope will be necessary to get the species specificity.

Keywords : *Coreoleuciscus splendidus*, Oogenesis, Egg

서 론

쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)는 잉어과(Cyprinidae), 모

래무지아과(Gobioninae)에 속하는 담수산 경골어류로 한강
남부, 금강, 만경강, 동진강, 울진 왕피천, 삼척 오십천, 섬진강
및 낙동강 수계 등 국내에만 서식하는 한국 고유종으로 보

* Correspondence should be addressed to Dr. Kyu Jae Lee, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162, Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0331, Fax: (033) 731-6953, E-mail: medbio@yonsei.ac.kr

존 가치가 높은 종이다. 본 종은 서식처의 수질이 1급 수질에서만 서식하고 있어 환경오염에 따른 개체 수가 급격히 감소하고 있는 실정이므로 현재 보호대상어종으로 지정되어져 있다. 산란기는 4~5월로 자갈이나 큰 돌의 아래쪽에 산란한다(Kim & Park, 2002).

어류의 난자형성과정은 수온, 광주기, 광도, 수질 등 환경 요인에 의해 결정되며 온도상승과 광량의 증가가 가장 중요한 역할을 한다(Hatakeyama & Akiyama, 2007). 지금까지 보고된 어류의 난자형성과정은 잉어과에 속하는 참붕어, 피라미, 버들치 및 카라신과(Characidae)에 속하는 glow-light tetra에서 알려져 있으며(Jang et al., 1995; Kim et al., 2007; Lee et al., 2008; Kim et al., 2009), 같은 속(Genus)에 속하는 9종의 난자형성과정에 대한 연구에 따르면 수환경 조건은 동일하지만 중간 난자형성과정은 서로 다른 것으로 보고된 바 있다(Motta et al., 2005).

일반적으로 난소는 한 쌍으로 체강상부의 좌우에 위치하며 난자형성과정은 인(nucleolus)의 형성, 핵 내의 inclusion body의 발달, 난황을 포함한 다양한 형태의 소기관의 축적 및 난막의 형성 등을 포함한 다양한 과정을 통하여 이루어진다(Guraya, 1986). 난원세포(oogonia)는 체세포 분열을 통하여 제1난모세포가 되며 제1난모세포 시기에는 난황은 없고 난황포(yolk vesicle)가 세포질 가장자리에서 형성되어 다당류를 축적하는 것으로 알려져 있으며(Lee et al., 1985), 제2감수분열과정 중에 난막 외측의 여포세포에서 합성된 물질이 미세융모를 통하여 세포질 안으로 들어오는 난황형성과정(vitellogenesis)이 이루어지고 후에 성숙란이 형성된 후 세포분열은 멈추고 산란 단계에 이르게 된다. 어류의 난자형성과정은 연구자에 따라서 산란전시기, 초기산란시기 및 산란후시기 3단계(Hatakeyama & Akiyama, 2007) 또는 휴지기, 준비시기, 산란전시기, 산란시기 및 산란 후 퇴행시기로 5단계(Singh et al., 2005)로 나누기도 한다.

국내에 서식하는 경골어류의 난자형성과정은 채집, 사육 및 암수구별이 매우 어렵기 때문에 많이 연구된 바는 없다. 따라서 본 연구는 한국 고유종이면서 보호종인 쉬리의 난자형성과정을 광학현미경을 이용하여 관찰함으로써 다른 종과의 차이점을 확인하고 이 종만이 가지고 있는 난자형성과정을 확인함으로써 초기발생과정을 연구하는데 필요한 기초자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

2008년 3월부터 2009년 5월 사이에 강원도 원주시 섬강에서 쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)를 채집하여 실험실내

에서 기초사육을 하였으며 사육중 성숙한 암컷을 선별하여 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 사육방법

pH 6.5 ± 0.5 및 $22.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 조정된 물이 담긴 수조($60 \times 45 \times 45$ cm)에서 사육하였으며, 기초양어수는 Fritz-guard(Fritz Co., Ltd., USA)로 상수의 염소를 제거시킨 후 사용하고 스펀지 필터(Brilliant sponge filter™, Tetra Co., Ltd., Germany)를 이용하여 물을 정화하였다. 수조 바닥에 쌓인 배설물과 먹고 남은 사료는 2일 간격으로 1/3씩 환수시켜 제거하였다. 하루 10시간씩 낮 환경을 유지시켰고, 먹이는 자외선으로 살균시킨 냉동장구벌레를 오전 8시 30분과 오후 5시에 하루 2번씩 공급하였다.

2) 암수분리

채집한 쉬리를 사육하는 동안 뒷지느러미의 기초, 가슴지느러미와 배지느러미에 추성이 나타나고 채색이 선명해진 개체를 수컷으로 판정하여 분리하였으며, 포란되어 복부가 팽창된 개체를 암컷으로 선별하여 실험에 사용하였다.

3) 조직처리

성숙한 쉬리의 암컷을 해부하여 난소의 외부형태를 관찰하고 난소를 적출하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 10% formaldehyde로 4°C 에서 24시간 고정한 후 흐르는 물로 12시간 세척하고 ethanol 농도 상승 순으로 탈수한 다음 xylene으로 치환시킨 후 paraffin으로 포매하여 3~4 μm 두께로 자른 후 hematoxylin과 eosin으로 이중 염색하여 광학현미경으로 발생분화시기에 따른 난자형성과정을 관찰하였다.

결과 및 고찰

경골어류, 잉어과, 모래무지아과에 속하는 쉬리(*C. splendidus*)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

쉬리의 난소는 한 쌍으로 부레와 창자사이에 위치하고 있었으며 일반적으로 다른 종의 경우 황색이나 특이하게 회색을 띠었다. 난소의 형태는 장타원형(장축 20 mm, 단축 5 mm)이었다(Fig. 1). 난소 내에는 난원세포, 제1난모세포, 제2난모세포 및 난세포 등 다양한 분화단계의 생식세포들이 분포하고 있었다. 난원세포는 매우 작은 다각형이었으며 삼각형이 가장 많이 관찰되었다. 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 파란색으로 염색되었으며 핵 안에 여러 개의 인들이 분포하고 있었다(Fig. 2). 발달함에 따라서 난원세포는 커졌

으며 인이 핵막 안쪽에만 배열하는 특징을 보였다. 초기 난원세포에 비하여 세포질의 색상은 좀 흐려져 보라색에 가깝게 관찰되었고 난막은 관찰되지 않았다(Fig. 3).

초기시기의 제1난모세포(primary oocyte)는 난원세포에 비하여 크기가 커졌으며 난황포(yolk vesicle)들은 핵 주변부에는 관찰되지 않았고 세포질의 가장자리에만 국한적으로 형성되기 시작하였다. 이시기에 난막은 형성되기 시작하였으나 매우 얇게 관찰되었고, 세포질은 더 흐려졌다(Fig. 4). 제1난모세포가 발달함에 따라서 난황포는 바깥 가장자리에서 안쪽으로 증식되어 핵 쪽으로 이동되었으며 핵과 난막은 eosin에 의해 염색되어 분홍색을 띠었고 난막 바깥쪽은 짙은 푸른색의 여포상피(follicular epithelium)로 싸여 있었다. 그러나 핵의 주변부는 아직 푸른색을 띠고 있었다(Fig. 5). 제2난모세포는 세포질이 전체적으로 호산성이었으며 난황포가 세포질 전체에 분포하였다. 난막은 이전 시기의 생식세포에 비하여 매우 두꺼워졌다(Fig. 6). 성숙한 난자는 난자의 크기가 상당히 커졌으며 난막이 뚜렷하고 핵은 호산성을 띠었다. 또한 난황포는 더욱 발달하여 적색으로 염색된 구형의 난황괴(yolk mass)를 이루고 있었고 성숙난 난막 쪽의 난황막(vitelline membrane)은 짙은 파란색으로 관찰되었다(Fig. 7). 성숙난의 난막을 확대한 결과 균질한 띠구조를 하고 있었으며 여포상피 내층에 미세용모와 유사한 배열이 확인되었다(Fig. 8). 쉬리의 난막은 다른 종보다 매우 두꺼운 경향을 보였고, 미세용모와 같은 구조물은 버들치의 경우 부착성 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2009). 그러나 이런 구조물이 난막 형성시기에 나타나는 일시적인 것인지 배란 후에도 관찰되는 부착성 구조물인지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구에서 광학현미경으로 관찰된 쉬리의 난자형성과정은 같은 과(Family)에 속하는 참붕어, 피라미와 버들치의 난자형성과정과 매우 유사하였으며(Jang et al., 1995; Kim et al., 2007, 2009) 난소의 색이 회색이고 난막이 상당히 두껍다는 차이점이외에는 이 종만이 가지는 특이한 점들은 발견하지 못했다. 따라서 본 난자형성과정은 잉어과의 담수산 경골어류의 공통적인 특징으로 생각된다. 성숙란과 수정란의 경우 같은 과의 어류의 경우 광학현미경상 형태는 매우 유사해서 종을 구별하기 불가능하나 난막의 표면 및 단면의 미세구조는 종에 따라 서로 다른 종 특이성을 가지고 있다(Kim et al., 1993, 1997, 1998, 2005; Deung et al., 1997). 따라서 쉬리의 수정란이나 성숙난의 표면 및 단면의 미세구조에 대한 연구가 이루어져야 종특이성을 찾을 수 있을 것으로 사료된다.

이상과 같이 쉬리의 난자형성과정은 난세포의 크기증가, 난황낭의 축적, 세포질 내 염기성 물질이 산성으로 전환 및 난막의 발달로 요약될 수 있으며 일반적인 다른 과의 담수산 경골어류와 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다. 본 어종의

종특이성을 찾기 위해서 난막의 미세구조적 연구가 추가적으로 필요하며 국내에 서식하는 어종에 대한 연구는 1년 동안 조사를 해야 하기 때문에 채집과 실험에 많은 어려움이 있다. 따라서 국내어류에 대한 난자형성과정을 분류체계에 따른 연구조사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Deung YK, Reu DS, Kim DH: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes in golden severum, convic cichlid and discus, Cichlidae, Teleost. Kor J Electron Microscopy 27(4) : 417-432, 1997. (Korean)
- Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger 18 : 111-147, 1986.
- Hatakeyama R, Akiyama N: Annual reproductive cycle of a bitterling, *Tanakia tanago*, reared in an outdoor tank. Zoolog Sci 24(6) : 614-622, 2007.
- Jang SJ, Kim DH, Reu DS, Deung YK: A study on the oogenesis of *Pale chub (Zacco platypus)*. Kor J Electron Microscopy 25(3) : 63-74, 1995. (Korean)
- Kim DH, Chang BS, Jung HS, Teng YC, Kim S, Lee KJ: The Oogenesis of Chinese minnow, Leuciscinae, Teleostei. Kor J Electron Microscopy 39(3) : 237-243, 2009. (Korean)
- Kim DH, Lee KJ, Kim S, Deung YK: A study on the oogenesis of False dace (*Pseudorasbora parva*). Kor J Electron Microscopy 37(2) : 65-72, 2007. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: Comparative ultrastructure of the fertilized egg envelope in three species, Cyprinidae, teleost. Kor J Electron Microscopy 28(2) : 237-253, 1998. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: Ultrastructure of the fertilized egg envelope from *Hyphessobrycon serpae*, Characidae, Teleost. Kor J Electron Microscopy 35(2) : 89-96, 2005. (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*). Kor J Electron Microscopy 23(3) : 115-128, 1993. (Korean)
- Kim IS, Park JY: Freshwater fishes of Korea, Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., p. 166, 2002. (Korean)
- Lee KJ, Chang BS, Teng YC, Kim DH: The oogenesis of Glow-light Tetra, Characidae, Teleost. Kor J Microscopy 38(4) : 315-319, 2008. (Korean)
- Lee TY, Kang YJ, Lee BD: Reproduction and population dynamics of marbled sole *Linmanda yokohamae*, 1. Reproduction. Bull Korean Fish Soc 18(3) : 253-261, 1985. (Korean)
- Motta CM, Capriglione T, Frezza V, Simoniello P, Tammaro S, Filosa S: Oogenesis at subzero temperatures: A comparative study of the oocyte morphology in nine species of Notothenioids. Tissue Cell 37(3) : 233-240, 2005.
- Singh AK, Kumar A, Singh IJ, Ram RN: Seasonal ovarian cycle in freshwater teleost, *Labeo rohita* (Ham.) in Tarai region of Utta-

ranchal. J Environ Biol 26(3) : 557-565, 2005.

< 국문 초록 >

경골어류, 잉어과, 모래무지아과에 속하는 쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

쉬리의 난소는 한 쌍으로 부레와 창자사이에 위치하고 있었으며 회색을 띠었다. 난소의 형태는 장타원형(장축 20 mm, 단축 5 mm)이었다. 난원세포는 다각형으로 세포질은 호염기성이었고 핵 안에 여러 개의 인들이 분포하고 있었다. 초기시기의 제1난모세포(primary oocyte)는 난원세포에 비하여 크기가 커졌으며 난황포(yolk vesicle)들은 핵 주변부에는 관찰되지 않았고 세포질

의 가장자리에만 국한적으로 형성되기 시작하였다. 제1난모세포가 발달함에 따라서 난황포는 바깥 가장자리에서 안쪽으로 증식되어 핵 쪽으로 이동되었으며 난막 바깥쪽은 짙은 푸른색의 여포상피(follicular epithelium)로 싸여 있었다. 그러나 핵의 주변부는 아직 푸른색을 띠고 있었다. 제2난모세포는 세포질이 전체적으로 호산성이었으며 난황포가 세포질 전체에 분포하였다. 성숙한 난자는 난자의 크기가 상당히 커졌으며 난막이 두꺼워졌다. 또한 난황포는 난황괴(yolk mass)로 전환되었다.

이상과 같이 쉬리의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 난황양의 축적, 세포질 내 염기성 물질이 산성으로 전환 및 난막의 발달로 요약될 수 있으며 일반적인 다른 과의 담수경골어류와 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다. 본 어종의 종특이성을 찾기 위해서 난막의 미세구조적 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. The photograph of grayish ovary in *Coreoleuciscus splendidus*.

Fig. 2. A light micrograph of an oogonium in ovary ($\times 400$). C: Cytoplasm, Arrow: Nucleolus. The cytoplasm was basophilic.

Fig. 3. A light micrograph of an oogonium in ovary ($\times 400$). The color of cytoplasm is changing from blue to light blue. N: Nucleus.

Fig. 4. Primary oocyte in early stage ($\times 400$). N: Nucleus, Yv: Yolk vesicle. Yolk vesicle was distributed in marginal area only.

Fig. 5. Primary oocyte ($\times 200$). N: Nucleus, Yv: Yolk vesicle.

Fig. 6. Secondary oocyte ($\times 200$). The yolk vesicle was increased than that of early stage, and egg envelope was more thicker. Arrow: Follicular epithelium.

Fig. 7. A light micrograph of matured egg ($\times 200$). Ym: Yolk mass.

Fig. 8. A matured egg ($\times 400$). E: Egg envelope, Arrow: Microvilli-like structure on the outside of egg envelope.



