

경골어류 잉어과 Tiger barb의 난자형성과정

정 한 석, 주 경 복¹, 김 동 희^{2,*}

한서대학교 건강증진대학원 수안재활복지학과, ¹초당대학교 안경광학과,
²연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실

The Oogenesis of Tiger Barb, Cyprinidae, Teleostei

Han-Suk Jung, Kyung-Bok Joo¹, Dong-Heui Kim^{2,*}

Department of Chiropractic Rehabilitation, Graduate School of Health Promotion, Hanseo University,
Seosan, Chungnam 356-706, Korea

¹Department of Ophthalmic Optics, Chodang University, Muan, Jeonnam 534-701, Korea

²Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University,
Wonju, Gangwon 220-701, Korea

(Received August 3, 2011; Revised September 23, 2011; Accepted September 24, 2011)

ABSTRACT

Tiger barb (*Puntius tetrazona* Bleeker, 1855) is a teleost belonging to Cyprinidae. The oogenesis of tiger barb was investigated by light microscope. The ovary was of white and ellipsoidal shape with the major axis 2 cm and the minor axis 1 cm. Cytoplasm of oogonia was basophilic and many nucleoli were located at inside of nuclear membrane. In early stage of primary oocyte, yolk vesicles were distributed only in the marginal area. In secondary oocyte, the egg envelope was formed and yolk vesicles was formed in the cytoplasm. 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. Also, there is not the formation of oil droplets in cytoplasm.

In conclusion, the oogenesis of tiger barb was characterized by the increase in cell size, the formation of yolk, the decrease of basophilic substance in the cytoplasm, and formation of yolk mass.

Keywords : Tiger barb, Oogenesis, Cyprinidae, Teleost

서 론

잉어목(Cypriniformes), 잉어과(Cyprinidae)에 속하는 tiger barb (*Puntius tetrazona* Bleeker, 1855)는 *Barbus tetrazona*, *Capoeta tetrazona*, *Barbodes tetrazona* 및 *Capoeta sumatraus* 라는 이명(synonym)을 가지고 있으며, 국내에서는 상용명이 원산지 지명을 따서 수마트라로 통용되고 있다. 주로 말레이 반도, 수마트라와 보르네오섬 등에 분포하며, 적정수질은 pH 6.0~8.0, 경도 5~19 dGH, 수온 25.0~27.8°C이며 수명은

약 6년이다. 전장 2~3 cm 정도로 성장하면 성적으로 성숙하게 되고 산란수는 약 300개 정도이다. 수정란은 부착성이며 침성란으로 크기는 1.18 ± 0.5 mm인 것으로 알려져 있다 (Wikipedia, 2011).

어류에서 배우체에 관한 연구는 정자형성, 난자형성 및 수정과정으로 나뉘어 일부 어종에서 연구되어 왔고 이 과정들은 종간에서 차이를 보일 뿐만 아니라 동종 간에서도 그들의 수정방식이나 생식습성 혹은 서식환경에 따라 다양한 것으로 알려져 있다(Wolenski & Hart, 1987). 어류의 난소는 한 쌍으로 체강상부의 좌우에 위치하며 난소내의 난원세포

* Correspondence should be addressed to Dr. Dong Heui Kim, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162, Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0332, Fax: (033) 732-4446, E-mail: fish7963@yonsei.ac.kr

(oogonia)는 체세포 분열을 통하여 제1난모세포가 된다. 제1난모세포는 난황이 없고 난황포(yolk vesicle)가 세포질 가장자리에 형성되어 다당류를 축적하는 것으로 알려져 있으며(Lee et al., 1985), 제2감수분열과정 중에 난막 외층의 여포세포에서 합성된 물질이 미세용모를 통하여 세포질 안으로 들어오는 난황형성과정(vitellogenesis)이 이루어지고 후에 성숙란이 형성된 후 세포분열은 멈추고 산란 단계에 이르게 된다.

국내에 서식하는 잉어과에 속하는 어류의 난자형성과정에 대한 연구는 피라미(Jang et al., 1995), 참붕어(Kim et al., 2007), 쉬리(Kim et al., 2010a)에서 연구된 바 있으며, 열대지역에 서식하는 어류의 난자형성과정에 대한 연구는 카라신과(Characidae)에 속하는 glow-light tetra(Lee et al., 2008), 시클리드과(Cichlidae)에 속하는 크리벤시스(Kim et al., 2010b)에서 보고된 바 있다.

이들 어류의 난자형성과정에서 공통점은 서식처가 온대지역이나 열대지역에 상관없이 난원세포의 경우 hematoxylin으로 매우 강하게 염색되고, 초기시기의 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리에 국한적으로 난황포(yolk vesicle)들이 형성되기 시작하나 난막은 형성되지 않고, 제1난모세포가 발달함에 따라서 난황포는 안쪽으로 증식되어 증가하며 이 시기에 난막이 형성되고, 제2난모세포의 세포질은 난황포가 점점 증가하여 제1난모세포에 비하여 완전히 다 채워지면서 염기성 물질들은 점점 감소한다. 또한 발생이 진행됨에 따라서 난황포는 난황괴(yolk mass)를 이루게 된다는 것이다. 그러나 온대지역에 서식하는 어류의 경우는 산란 직후 여름에 퇴행기로 들어가며 난자형성과정은 늦가을부터 시작하여 산란기인 봄에 절정을 이루지만(Singh et al., 2005). 열대지역에 서식하는 어종은 년 중 산란이 가능하다는 차이점이 있다.

Tiger barb는 열대지역에 서식하는 어류이기 때문에 년 중 실험실내에서 번식이 가능하고 수정란을 얻을 수 있어 실험동물로 사용하기에 적합한 어종이나 국내에서 열대어에 대한 난자형성과정에 대한 연구는 많이 이루어지고 있지 않다.

따라서 본 연구는 잉어과에 속하는 tiger barb의 난자형성 과정을 광학현미경으로 관찰하여 그동안 연구된 온대지역에 서식하는 잉어과에 속하는 국내어종의 난자형성과정과의 차이점을 확인하고 이 종만이 가지는 특성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

2010년 5월과 6월 사이에 tiger barb를 물의나라 수족관

(강원도 원주시)에서 구입하여 pH 6.5 ± 0.5 및 $27.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 수조(120×45×60 cm)에서 기초사육을 하였으며, 기초양어수는 Fritz-guard(Fritz Co., USA)로 상수의 염소를 제거시킨 후 사용하였고, 모래를 덮은 저면식 여과기를 이용한 생물학적 여과(biological filtration)법으로 물을 정화하였다. 수조 바닥에 쌓인 배설물과 먹고 남은 사료는 1주일에 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 급이 하였다. 기초사육 중 번식기에 들어간 포란된 암컷을 선별하여 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

성숙한 tiger barb 암컷을 해부하여 난소의 외부형태를 관찰하고 난소를 적출하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 10% formaldehyde로 4°C 에서 24시간 고정된 후 흐르는 물로 12시간 세척하고, ethanol 농도 상승 순으로 탈수한 다음 xylene으로 치환시킨 후 paraffin으로 포매하여 2~3 μm 두께로 세절한 후 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하여 광학현미경으로 발생분화시기에 따른 난자형성과정을 관찰하였다.

결과 및 고찰

열대지역에 서식하는 잉어과(Cyprinidae)에 속하는 tiger barb (*Puntius tetrazona* Bleeker, 1855)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

Tiger barb의 난소는 한 쌍으로 흰색의 장타원형(장축 2 cm, 단축 1 cm)이었으며 부레와 창자 사이에 위치하고 있었다(Fig. 1). 난소 내에는 포란된 상태였기 때문에 대부분 성숙란이 주로 관찰되었고 성숙란과 성숙란 사이에 일부 난원세포, 제1난모세포 및 제2난모세포 등 다양한 분화단계의 생식세포들이 분포하고 있었다(Fig. 2). 초기의 난원세포의 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 파란색으로 염색되어 호염기성을 띠고 있었고, 핵막을 따라서 여러 개의 인들이 분포하고 있었다(Fig. 3). 난원세포의 형태는 열대지역에 서식하는 어류나 국내 어류의 난자형성과정에서 모두 같은 형태를 가지고 있어(Jang et al., 1995; Kim et al., 2007, 2009, 2010a, b; Lee et al., 2008) 경골어류의 난원세포의 형태는 모두 과(Family)나 종(Species)에 상관없이 같은 것으로 생각된다. 이 시기의 일부 난원세포에서는 세포질이 핵 쪽에서 세포막 쪽으로 hematoxylin의 염색도가 낮아지기 시작하는 것을 확인할 수 있었다. 생식세포가 발달함에 따라서 세포

질이 전체적으로 초기 난원세포에 비해 염색도가 낮아지면 서 초기시기의 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리인 세포막 쪽에서 국한적으로 난황포들(yolk vesicles)이 한 층으로 형성되기 시작하였다. 이 시기에 난막은 형성되기 시작하였으나 매우 얇게 관찰되었고 인은 파란색으로 관찰되어 쉽게 구별되었다(Fig. 4). 어류의 난자는 비세포성 난막에 의해 둘러싸여 있어서 배자가 외부환경으로부터 받는 물리적인 충격 및 화학물질에 방어하고 확산에 의한 기체 교환의 기능을 수행한다(Harvey et al., 1983; Cameron & Hunter, 1984). 난막은 주로 당단백질로 구성되어 있으며(Brivio et al., 1991), 미세용모가 형성될 때 1차난막이 만들어지며 미세용모가 여포세포를 완전히 관통한 후 여포세포로부터 만들어진 전자밀도가 높은 물질들이 형성되어 1차난막에 침적됨으로써 2차난막이 형성된다(Wourms & Seldon, 1976). 수정 후 성숙란은 난막과 난황막이 분리되어 위란강이 형성되게 된다.

발생이 진행됨에 따라서 제1난모세포는 난황포가 증식하기 시작하였고, 세포막에서 핵 쪽으로 증가하는 경향을 보였다. 세포질의 hematoxyline 염색도는 많이 낮아졌으나 핵 주위는 아직 염색도가 높게 유지되었고 난막은 두꺼워졌다(Fig. 5). 제2난모세포는 제1난모세포 시기 때보다 더 난황포가 증식되어 세포막에서 핵쪽으로 증식하기 시작하였고(Fig. 6), 세포질 전체를 차지하고 있었다(Fig. 7). 난자가 더 성숙함에 따라서 난황포 사이에 난황포보다 크기가 작은 난황포가 응축된 난황괴(yolk mass)가 분포하고 있었다(Fig. 8). 난황괴의 형태는 대부분 구형 또는 작은 타원형이었고, 시클리드과의 크리벤시스(*Pelvicachromis pulcher*)의 경우는 다각형 또는 타원형의 결정 같은 구조물이 존재하고 있고 난황괴의 형성이 세포막과 핵막 중앙에서 발생된다는 차이를 보여 종특이성을 나타내기도 한다(Kim et al., 2010b). 그러나 본 실험에서 난황포 속에서 결정 같은 구조물은 발견되지 않았다. 또한 모든 난자형성과정중에서 유구(oil droplets)의 발생은 관찰되지 않았다.

대부분 어류의 난자형성과정은 난소에서 이루어지며 난소는 한 쌍으로 체강상부의 좌우에 위치하고 있다. 난자형성과정은 다수의 인(nucleolus)의 형성, lampbrush 염색체의 발달, 핵 내의 inclusion body의 발달, 난황을 포함한 다양한 형태의 소기관의 축적 및 난막형성 등을 포함한 다양한 과정을 통하여 이루어진다(Guraya, 1986). 본 실험결과 tiger barb의 난자형성과정은 황어아과에 속하는 버들치(Kim et al., 2009)와 잉어과에 속하는 쉬리(Kim et al., 2010a)와 매우 유사한 경향을 보였고 특이한 현상은 발견되지 않았다.

지금까지 난막의 미세구조에 대한 연구에 따르면 난자형성과정은 유사하다고 하더라도 수정란 난막의 미세구조는 과나 중에 따라서 다양한 구조를 가지고 있어 종특이성이 있는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1996, 1998, 2005, 2009).

특히 잉어과에 속하는 3어종의 수정란 난막의 미세구조는 난문의 형태, 난막의 표면구조 및 단면구조에서 모두 차이를 보여 종특이성을 가지고 있는 것으로 보고된 바 있다(Kim et al., 1998).

이상과 같이 tiger barb의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 난황포가 세포막에서 핵쪽으로 증가 및 축적, 세포질 내 호산성물질의 증가로 요약될 수 있으며 다른 어종과 비교해 볼 때 이종만이 가지는 종특이성은 관찰되지 않았다. 그러나 종간 특이성을 확인하기 위하여 수정란 난막의 미세구조에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Brivio MF, Bassi R, Cotelli F: Identification and characterization of the major components of the *Oncorhynchus mykiss* egg chorion. *Mol Reprod Dev* 28 : 85-93, 1991.
- Cameron IL, Hunter KE: Regulation of the permeability of the medaka fish embryo chorion by exogenous sodium and calcium ions. *J Exp Zool* 231(3) : 447-454, 1984.
- Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell and molecular biology of fish oogenesis. *Karger* 18 : 111-147, 1986.
- Harvey B, Kelley RN, Ashwood-Smith MJ: Permeability of intact and dechorionated zebra fish embryos to glycerol and dimethyl sulfoxide. *Cryobiol* 20 : 432-439, 1983.
- Jang SJ, Kim DH, Reu DS, Deung YK: A study on the oogenesis of Pale chub (*Zacco platypus*). *Korean 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. *Korean J Electron Microscopy* 39(3) : 237-243, 2009. (Korean)
- Kim DH, Chang BS, Teng YC, Kwon JK, Lee MS, Lee GY, Lee KJ: The Oogenesis of kribensis, *Pelvicachromis pulcher*, Cichlidae, Teleostei. *Korean J Microscopy* 40(2) : 65-71, 2010b. (Korean)
- Kim DH, Deung YK, Lee KJ: Ultrastructure of the fertilized egg envelope from *Hyphessobrycon serpae*, Characidae. *Korean J Electron Microscopy* 35(2) : 89-96, 2005. (Korean)
- Kim DH, Kim WJ, Deung YK, Kim S, Lee KJ: The Oogenesis of *Coreoleuciscus splendidus*, Cyprinidae, Teleostei. *Korean J Microscopy* 40(1) : 9-14, 2010a. (Korean)
- Kim DH, Lee KJ, Kim S, Deung YK: A study on the oogenesis of False dace (*Pseudorasbora parva*). *Korean J Electron Microscopy* 37(2) : 65-72, 2007. (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, 1998. (Korean)

- Kim DH, Reu DS, Kim WJ, Deung YK: A comparative study on the ultrastructures of the egg envelope in fertilized eggs of angel-fish (*Pterophyllum eimekei*) and zebrafish (*Brachydanio rerio*). Korean J Electron Microscopy 23(3) : 115-128, 1993. (Korean)
- Lee KJ, Chang BS, Teng YC, Kim DH: The oogenesis of Glow-light Tetra, Characidae, Teleost. Korean 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)
- Singh AK, Kumar A, Singh IJ, Ram RN: Seasonal ovarian cycle in freshwater teleost, *Labeo rohita* (Ham.) in Tarai region of Uttaranchal. J Environ Biol 26(3) : 557-565, 2005.
- Wourms JP, Sheldon H: Annual fish oogenesis; Formation of the secondary egg envelope in fish. Int Review Cytol 136 : 51-92, 1976.
- http://en.wikipedia.org/wiki/Tiger_barb, 2011.

< 국문 초록 >

열대지역에 서식하는 경골어류 잉어과(Cyprinidae)에 속하는 tiger barb (*Puntius tetrazona* Bleeker, 1855)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

난소는 한 쌍으로 흰색의 장타원형(장축 2 cm, 단축 1 cm)이였으며, 부레와 창자 사이에 위치하고 있었다. 난원세포의 세포질은 호염기성이었고 핵 내에 다수의 인들이 분포하고 있었다. 초기의 난원세포의 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 파란색으로 염색되어 호염기성을 띠고 있었고, 핵막을 따라서 여러 개의 인들이 분포하고 있었다. 초기시기의 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리인 세포막 쪽에서 국한적으로 난황포들이 한 층으로 형성되기 시작하였다. 이 시기에 난막은 형성되기 시작하였으나 매우 얇게 관찰되었고 인은 파란색으로 관찰되어 쉽게 구별되었다. 발생이 진행됨에 따라서 제1난모세포는 난황포가 증식하기 시작하였고, 세포막에서 핵 쪽으로 증가하는 경향을 보였다. 세포질의 hematoxylin 염색도는 많이 낮아졌으나 핵 주위는 아직 염색도가 높게 유지되었고 난막은 두꺼워졌다. 제2난모세포는 제1난모세포 시기 때보다 더 난황포가 증식되어 세포질 전체를 차지하고 있었다. 난자가 더 성숙함에 따라서 난황포는 응축되어 난황괴를 이루고 있었다. 또한 모든 난자형성과정중에 유구(oil droplets)의 발생은 관찰되지 않았다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** The photograph of ovary (O) in tiger barb.
- Fig. 2.** Section of ovary (scale bar=500 µm). M; Matured egg.
- Fig. 3.** A light micrograph of an oogonium in ovary (scale bar=50 µm). N; Nucleus, Arrow; Nucleolus. The cytoplasm was basophilic.
- Fig. 4.** Primary oocyte in early stage (scale bar=50 µm). Yolk vesicle was distributed in marginal area only. N; Nucleus, Arrow; Yolk vesicle.
- Fig. 5.** Primary oocyte (scale bar=100 µm). Arrow; Yolk vesicle.
- Fig. 6.** Secondary oocyte (scale bar=100 µm). Arrow; Yolk vesicle.
- Fig. 7.** A light micrograph of pre-matured egg (scale bar=100 µm). Yv; Yolk vesicle.
- Fig. 8.** A matured egg (scale bar=100 µm). Ym; Yolk mass.



