수수미꾸리 Kichulchoia multifasciata의 난자형성과정과 난막의 구조

김 치 홍, 김 재 구¹, 박 종 영^{1,*}

국립수산과학원 중앙내수면연구소 ¹전북대학교 자연과학대학 생물학과, 전북대학교 생물다양성연구소

Structure of Egg Envelope and Oogenesis of *Kichulchoia multifasciata* (Pisces, Cobitidae)

Chi Hong Kim, Jae Goo Kim¹, Jong Young Park^{1,*}

Central Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Gapyeong, Gyeonggi 477-815, Korea

¹Faculty of Biological Science and Institute for Biodiversity Research,

College of Natural Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Received August 10, 2011; Revised September 23, 2011; Accepted September 25, 2011)

ABSTRACT

Histological study on egg envelope and oogenesis of *Kichulchoia multifasciata* (Pisces, Cobitidae) was carried out by light microscopes and scanning electron microscopes. Various developmental cells appeared in ovary of the specimen catched during November 2010. The cytoplasm of oogonia was acidic and many nucleoli were located at the inner side of nucleus membrane. The size of the oogonia was $103.9 \pm 24.7 \,\mu m$ with nucleus size $42.9 \pm 6.9 \, (31.1 \sim 50.3) \,\mu m$. Primary oocyte having $277.5 \pm 60.5 \, (216.7 \sim 354.9) \,\mu m$ in diameter began to accumulate yolk vesicles. As the developmental stages proceed, secondary oocyte grows larger to $617.6 \pm 85.1 \, (503.4 \sim 723.6) \,\mu m$, and eosinophilic yolk granules yolk granules appeared between the yolk vesicles occupying most cytoplasm, and there are some yolk mass formed already. There are some yolk mass formed already. Envelope of fertilized egg investigated by a scanning electron microscope had plenty of microvilli ($2 \sim 3 \,\mu m$ in length) over the entire egg surface and a micropyle. Especially, the microvilli surrounding the micropyle were longer than those of egg surface with $5.26 \pm 1.224 \,\mu m$.

Keywords: Kichulchoia multifasciata, Oogenesis, Micropyle, Egg envelope, Microvilli

서 론

경골어류 난소는 종에 따라 모양과 위치가 다르며 같은 종 이라도 발달단계에 따라 모양과 위치가 변하게 된다. 성어의

난소는 나출형(gymnovarian type)과 낭상형(cystovarian type) 으로 구분되는데 나출형은 난소 실질부의 일부가 직접 체강 에 노출되어 있는 형태이고, 낭상형은 주머니 모양의 난소 일부가 체벽에 밀착되어 있으며 난소 피막에는 평활근이 발 달되어 있지 않다. 이와 같은 특징은 분류군이 비슷한 어류

본 연구는 국립수산과학원 연구지원 (RP-2011-AQ-056)으로 수행되었습니다.

^{*} Correspondence should be addressed to Dr. Jong Young Park, Department of Biological Science and Institute for Biodiversity Research, College of Natural Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea. Ph.: (063) 270-3344, Fax: (063) 270-3362, E-mail: park7877@jbnu.ac.kr

에서 거의 일치하는 경향이 있다(Park, 1996; Parenti & Grier, 2004; Koya & Munoz, 2007).

대부분의 어류의 경우 난자형성과정(oogenesis)은 난소 내에서 분열, 증식하는 난원세포(oogonia)로부터 염색인기(chromatin-nucleolus stage)와 주변인기(peri-nucleolus stage)를 나타내는 제1난모세포(primary oocyte)로 이행된다. 제1 난모세포는 난모세포 내에 난황포(yolk vesicle)가 세포질 가장자리에 형성되며, 제2난모세포는 간에서부터 합성 분비된 난황전구물질이 난막 외측의 여포세포(follicle cell)를 통해 난황물질이 되는 난황형성과정(vitellogenesis)을 거쳐 세포질 내에 축적하기 시작하는 초기의 제2난모세포로 발달한다. 이후 핵막 가까이 호산성의 난황구가 가득 차고 방사대(zona radiata)가 비후 되면서 중앙에 위치하고 있던 핵이동물극쪽으로 이동하는 특징을 보이는 성숙한 제2난모세포 들로 이어진다(Lee et al., 1985).

따라서 어류의 난자형성과정은 초기성장, 난황포형성, 난황형성 및 성숙의 4단계로 구분되고 이러한 일련의 과정은 수온, 광주기, 광도 및 수질 등의 환경요인에 의해 진행된다. 난자는 비세포성 난막에 둘러싸여 있어서 배가 외부환경으로부터 받는 물리적인 충격 및 화학물질에 방어하고 확산에 의한 기체교환의 기능을 수행한다고 알려져 있다(Grierson & Neville, 1981; Cameron & Hunter, 1984). 또한 체외수정을 선택한 대부분의 담수어류는 수컷 정자의 머리에 첨체를 보유하지 않기 때문에 난자의 동물극쪽에 위치한 난문을 통해수정이 이루어지는데 이들의 난문은 종 특이성을 가지고 있어 모양과 크기가 좋마다 다르다. 난문(micropyle)은 다른 종의 정자가 침입하는 것을 방해하고 다수정을 방지하는 역할을 수행하는 형태적 특이성을 가지고 있어 종을 분류하는 데 중요한 특징으로 이용되고 있다(Park, 1996; Yoon, 1999; Chen et al., 1999; Morisawa, 1999; Debus et al., 2002).

한국에 출현하는 담수어류의 난자형성과정에 관한 연구는 참붕어(Kim et al., 2007), 버들치(Kim et al., 2009) 및 쉬리(Kim et al., 2010), 한국산 미꾸리과 어류의 생식소에 관한 형태학적 연구도 보고된 바 있다(Park, 1996).

수수미꾸리 Kicuhlchoia multifasciata는 분류학적으로 미꾸리과에 속하는 담수어류로서 최근 Kim (2009)에 의해 Kichulchoia속으로 재정리되었으며, 우리나라의 낙동강 수계에만 서식하는 한국 고유종이다. 이들은 하천 상류의 물이 맑고 유속이 아주 빠른 큰 자갈이 많은 곳의 바닥에서 주로 부착조류를 먹고 살며, 산란기는 11월부터 그 다음 해인 1월까지이며 12월말에서 1월중순경이 산란성기로 알려져 있다(Kim & Park, 2002).

수수미꾸리에 관한 연구는 초기발생에 관한 연구(Kim & Lee, 1995)와 Niwaella속 2종의 난막 구조에 관한 연구(Park & Kim, 2001) 등은 있었으나 난자형성과정과 난문의 미세 구조에 관한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구는 수수미꾸리의 난자형성과정과 수정 이후 난막의 구조 및 난문의 미세 형태를 관찰하여 생식세포의 형태에 따른 분류학적 기초자료를 제시하고자 하였으며, 한국고유종 인 수수미꾸리를 보존하기 위한 생물학적 기초 자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

수수미꾸리는 2010년 11월과 2011년 3월에 경상북도 고 령군 운수면 봉평리 회천에서 족대(망목 4×4 mm)를 이용 하여 40개체를 채집하였다(Fig. 1).

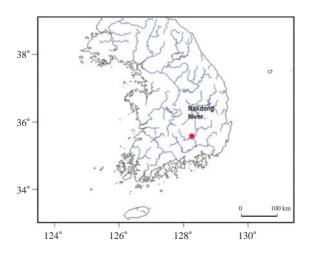




Fig. 1. Sampling site (red circle) and its habitat of *Kichulchoia multifasciata* in Nakdong river, Unsu-myeon, Goryeong-gun, Gyeongsangbukdo, Korea.



Fig. 2. Kichulchoia multifasciata (135.0 mm Standard length).

2. 실험방법

수수미꾸리의 난소를 적출하여 외부형태를 조사하였고, 난소 내 생식세포들의 특징을 파악하기 위해 광학현미경에 의한 조직학적 관찰을 수행하였다. 또한 주사전자현미경을 이용하여 수정난의 표면과 난문을 조사하였다.

1) 광학현미경 관찰

채집된 12개체의 난소를 적출하여 4° C의 10% formalin에 12시간 고정한 후 12시간 수세하였다. 일반적인 ethanol 탈수법으로 탈수한 다음 xylene으로 치환하여 paraffin으로 포매하였고 block을 제작하였다. Block은 microtome (Leica-820, Germany)으로 5μ m 간격으로 절단하여 hematoxylin과 eosin으로 이중 염색하여 표본을 제작하였으며 광학현미경 (Carl zeiss, AX10, Germany)을 이용하여 난소를 관찰하였다.

2) 주사전자현미경 관찰

2011년 3월에 채집한 성체로부터 직접압박법을 통해 인공수정시킨 수정난을 재료로 $0.1\,\mathrm{M}$ phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde에 $4^\circ\mathrm{C}$ 에서 4시간 전고정 후 1% osmium tetroxide (O_sO_4)로 90분간 후고정하여 ethanol 상승 순으로 탈수시켰다. Tert-butyl alcohol (TBA)을 이용하여 동결 건조시킨 뒤 O_sO_4 를 증착시켜 주사전자현미경 (JEOL JSM-6400, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

1. 난소의 외부형태

수수미꾸리의 난소는 체강의 등쪽에 좌우 한 쌍의 낭상형으로 항문 부근에서는 좌우가 융합되어 하나로 나타나며, 전체적으로 체강의 길이와 비슷하게 길게 신장된 형태를 보였다. 2010년 11월에 채집된 개체의 난소는 난황물질에 의해 노란색을 띄고 있었지만 복부가 팽창하지 않은 상태였으며 2011년 3월에서는 성숙란으로 인해 암컷 복부가 노란색을 띄고 있었다.

2. 광학현미경적 관찰

난소 내에는 난원세포, 제1난모세포 및 제2난모세포 등 분

화단계가 다양한 생식세포들로 구성되어 있었다(Fig. 3A). 난원세포는 평균 103.9±24.7 (69.8~130.1) μm로 핵 내에는 크기가 다양한 인들이 산재하였으며 전체적으로 hematoxylin 에 강하게 염색되었다. 난원세포의 가장자리에는 단층편평 세포의 여포세포가 존재하지만 세포질과 같이 hematoxylin 에 염색되어 구분이 쉽지 않은 상태이다(Fig. 3B).

이후 난모세포의 핵 내에 존재하던 인들의 크기가 작아 졌으며 핵막인근으로 이동하였다(Fig. 3C). 다량의 세포질 축적에 따라 제2차 난모세포기의 특징을 나타내는 난모세포은 평균 277.5±60.5(216.7~354.9) µm의 크기였으며 세포질의 외측에서부터 난황포가 형성되기 시작하였으며 난막에 방사대가 관찰되었다(Fig. 3D). 성숙기의 특징을 보이는 제2난모세포는 평균 617.6±85.1(503.4~723.6) µm의 난경을 나타내었다. 호산성을 보이는 난황과립들이 핵막 주변의 내질층으로부터 피질층으로 확산되어 가고 있었다(Fig. 3E). 제2난모세포의 가장자리에는 편평한 모양의 여포세포가 층을 이루고 있었으며 약 4µm 두께의 방사대가 관찰되었다(Fig. 3F).

3. 전자현미경적 관찰

2011년 3월에 인공 수정시킨 수정난을 주사전자현미경으로 관찰한 결과 난막의 표면에 2~3μm 길이의 미세융모가일정하게 분포하고 있었다(Fig. 4A). 외경이 크고 내경이 작아지는 깔대기 모양을 한 1개의 난문(micropyle)이 관찰되었다. 난문 주변의 미세융모는 평균 길이가 5.26±1.22(6.79~3.39)μm로서 난막 표면에 분포하고 있는 미세융모보다길게 나타났다(Fig. 4B). 또한 수정된 이후 난문의 미세융모가 난문 안쪽에서 융합되고 있으며, 난문 가까이의 pore canal들이 다른 표면 보다 증가하는 양상을 보였다(Fig. 4C).

고 칠

경골어류 성어의 난소는 나출형과 낭상형으로 구분되며 분류군이 비슷한 어류에서 거의 일치하는 경향이 있다(Park, 1996; Parenti & Grier, 2004; Koya & Munoz, 2007). 수수미 꾸리의 난소는 체강의 앞쪽에서는 좌우 한 쌍으로 나타나 며 항문 부근에서 좌우가 융합된 낭상형으로 체강의 길이와 비슷한 크기로 존재하고 있었다. 부레를 갖는 버들치(Kim et al., 2009)와 해산어류인 양볼락과 어류 Scorpaena notata (Munoz et al., 2002)의 난소들은 쌍으로 구성되어 있어 수수미꾸리와 차이를 보여 주었다. 미꾸리과 어류에서 쌀미꾸리의 난소는 쌍으로 존재하였으나 Iksookimia속과 Cobitis속, Misgurnus속 그리고 Nemacheilus속은 수수미꾸리와 유사한 형태를 보이고 있었다(Park, 1996). 이는 여울 저서성 어류인 수수미꾸리를 비롯하여 부레를 보유하고 있지 않는 종에서 나타나는 특징으로 사료된다.

성숙 초기의 수수미꾸리 난소 내에는 난원세포, 제1난모 세포 및 제2난모세포 등 분화단계가 다양한 생식세포들로 구성되어 있었다. 핵 내에는 크기가 다양한 인들이 산재하고 전체적으로 hematoxylin에 강하게 염색된 난원세포(103.9± 24.7 μm)와 세포질의 외측에서부터 난황포가 형성되고 난 막에 방사대가 관찰되는 평균 277.5±60.5 μm의 제1난모세 포, 핵이 커지며 난황포에 난황구를 축적하기 시작하고 난황 물질이 핵막 주변의 내질층으로부터 피질층으로 확산되어 가고 있는 제2난모세포(617.6±85.1 μm)가 관찰되었다. 미 세융모 아래에는 선명한 줄무늬를 가지는 약 4 µm 두께의 방사대와 세포 안쪽에 이동하고 있는 난황물질이 확인되었 다. 본 연구에서 나타난 이러한 초기성장, 난황포형성, 난황 형성 및 성숙의 4단계의 난자형성과정은 일반어류와 거의 일치하였다(Grierson & Neville, 1981; Cameron & Hunter, 1984; Lee et al., 1985). 한편 한국산 미꾸리과 어류의 산란 시기는 모두 4~7월로 알려져 있었으나(Kim & Park, 2002) 수수미꾸리의 경우에서는 겨울인 11월~1월 사이가 산란성 기로 보고된 바 있다(Kim & Lee, 1995). 그러나 본 연구에 서는 완전히 성숙한 난을 관찰하지는 못했으므로 생식연주 기에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

수수미꾸리의 난막 표면에 많은 미세융모가 관찰되었는 뎨 이러한 미세융모는 난황포가 형성되는 시기에서 발달하 여 난황물질들이 형성됨에 따라 더욱 뚜렷해졌다. 이와 같 이 난막 표면에 존재하는 구조물들은 그들의 기능에 따라 다양한 형태들로 알려져 있다(Laale, 1980; Hiromi, 1984; Rizzo et al., 2002). 특히 Park (1996)은 한국산 미꾸리과 어 류에서 난막표면의 구조물을 과립형(granular form), 융모형 (villous form), 사상형 (filamental form), 거치형 (saw-shaped form), 소구형 (hillock-shaped form), 울타리형 (fence-shaped form) 그리고 무구조형(non-structural form) 등 7가지로 분 류하였다. 주로 천천히 흐르는 하천에 바닥이 모래질인 곳에 서식하는 기름종개속의 Cobitis lutheri, C. striata, C. sinensis 등에서는 과립형이 나타난 반면에 정수역에 바닥이 진흙으 로 된 곳에 서식하는 미꾸리속 Misgurnus mizolepis, M. anguillicaudatus에서는 어떠한 형태도 보이지 않은 무구조 형이 나타난다. 또한 서식환경이 특이한 I. choii 처럼 가는 모래의 깊숙한 곳에 파묻혀 서식하는 종에서는 덩굴형(vineshaped form)이 나타나기도 한다. 수수미꾸리는 빠르게 흐르는 여울에 바닥이 자갈과 돌로 구성된 곳에서 서식하여비슷한 서식처에 사는 참종개속 Iksookimia longicorpus, I. koreensis, I. pumila, I. hugowolfeldi 그리고 기름종개속의 C. granoei 등과 일치하는 융모형의 구조를 나타냈다. 이처럼 서식환경과 난막 구조가 생태적 연관성을 보이고 있어, 이러한 특징들은 그들의 서식환경과 형태들이 깊은 연관성을 보이고 있으므로 일부 분류군에서 분류학적 특징으로 이용되기도 한다(Groot & Alderdice, 1985; Hirai, 1993; Yoon, 1999; Park & Kim, 2001; Rizzo et al., 2002).

체외수정을 하는 어류에서는 난막의 동물극쪽에 다양한 크기와 모양의 난문을 가지고 있는데 이는 종의 특이성을 보일 뿐 아니라 다른 종의 정자가 침입하는 것을 방어하고 다수정을 방지하는 기능을 가지는 것으로 알려져 있다(Grierson & Neville, 1981; Cameron & Hunter, 1984). 또한 일부어 류에서는 난문의 수가 2개 이상 나타나고 있어 중요한 분류 학적 특징으로 이용되고 있다(Chen et al., 1999; Morisawa, 1999; Debus et al., 2002). 농어목에 속하는 Dicentrarchus labrax의 난문은 원통형으로 나타나며 난문 주변에 특이한 구조물들이 원을 형성하는 반면에 (Fausto et al., 1994), 송사 리 Oryyzias latipes (Iwamatsu et al., 1993)는 난문 안쪽에서 나타나는 동심원이 왼쪽으로 회전하는 형태를 보였다. 그러 나 이들과는 대조적으로 수수미꾸리는 외경이 크고 내경이 작아지는 깔대기 모양의 난문 한 개를 보유하고 있었으며 난문 외경에는 동심원 형태나 특이한 구조물은 없었다. 또 한 난문부근의 미세융모의 길이가 난표면의 다른 미세융모 보다 길었으며 난문안쪽에서 하나로 융합하였다. 이러한 현 상은 도미과 어류(Chen et al., 1999)와 홍바리 Epinephelus fasciatus (Kim et al., 2011)가 수정구를 만들어 난문을 차단하 는 경우와 다르게 미세융모의 융합현상으로 난문을 차단하는 것으로 추정되지만 이를 확인하기 위해서는 미세구조적 연구 가 추가로 진행되어야 할 것으로 판단된다. Pore canals 또한 난문인근에서 증가하는 양상을 보이고 있는데, 이러한 현상 은 해산어류에서 삼투조절과 기체교환 기능을 수행하는 것 으로 추정하고 있으나 확실히 알려진 바는 없다(Chen et al., 1999; Kim et al., 2011). 본 연구를 통해 수수미꾸리의 난막 표면에서는 다수의 미세융모가 존재하고 난문부근에서 길 이가 길어지는 현상, 그리고 난문쪽에 pore canal들의 크기 와 수가 증가하는 현상 등은 수수미꾸리의 분류학적 연구 에 중요한 기초자료가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

Cameron IL, Hunter KE: Regulation of the permeability of the medaka fish embryo chorion by exogeneous sodium and calcium

- ions. J Exp Zool 231(3): 447-454, 1984.
- Chen KC, Shao KT, Yang JS: Using micropylar ultrastructure for species identification and phylogenetic inference among four species of Sparidae. J Fish Biol 55: 288-300, 1999.
- Debus L, Winkler M, Billard R: Structure of micropyle surface on oocytes and caviar grains in Sturgeons. Internat Rev Hydrobiol 87(5/6): 585-603, 2002.
- Fausto AM, Carcupino M, Scapigliati G, Taddei AR, Mazzini M: Fine structure of the chorion and micropyle of the sea bass egg *Dicentrarchus labrax* (Teleostea, Percichthydae). Boll Zool 61: 129-133, 1994.
- Grierson JP, Neville AC: Helicoidal architecture of fish eggshell. Tiss Cell 13(4): 818-830, 1981.
- Groot EP, Alderdice DF: Fine structure of the external egg membranes of five species of Pacific salmon and steelhead trout. Can J Zool 63: 552-566, 1985.
- Hirai A: Fine structure of the egg membrane in four species of Pleuronectinae. Japanese J Ichthyol 40: 227-235, 1993.
- Hiromi O: Electron microscopic study on adhesive material of pacific herring (*Clupea pallasi*) eggs. Japanese J Ichthyol 30(4): 404-411, 1984.
- Iwamatsu T, Nakashima S, Onitake K: Spiral patterns in the micropylar wall and filaments on the chorion in eggs of the medaka, *Oryzias latipes*. J Exp Zool 267: 225-232, 1993.
- Kim DH, Lee KJ, Chang BS, Jung HS, Teng YC, Kim S: The oogenesis of Chinese minnow, Leuciscinae, Teleostei. Korean 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*). Korean J Electron Microscopy 37(2): 65-72, 2007. (Korean)
- Kim DH, Lee KJ, Teng YC, Kim WJ, Kim S: The oogenesis of *Coreoleuciscus splendidus*, Cyprinidae, Teleostei. Korean J Electron Microscopy 40(1): 9-14, 2010. (Korean)
- Kim IS: A review of the spined loaches, Family Cobitidae (Cypriniformes) in Korea. Korean J Ichthyol 21: 7-28, 2009.
- Kim IS, Lee EH: Studies on early embryonic development of *Niwaella multifasciata* (Pisces: Cobitidae). Korean J Lim 28(4): 455-462, 1995. (Korean)
- Kim IS, Park JY: Freshwater fishes of Korea. Kyo-hak Publishing Co., Ltd., pp. 230-233, 2002. (Korean)
- Kim SH, Lee CH, Ju HS, Kim HB, Lee YD: Ultrastructural variations on the micropyle of blacktip Grouper, *Epinephelus fasciatus* before and after artificial fertilization. Korean J Microscopy 41(2): 123-128, 2011. (Korean)
- Koya Y, Munoz M: Comparative study on ovarian structures in scorpaenids: possible evolutional process of reproductive mode. Ichthyol Res 54: 221-230, 2007.
- Laale HW: The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes, a reviews. Copeia 210-226, 1980.
- Lee TY, Kang YJ and Lee BD: Reproduction and population dynamics of marbled sole *Linmanda yokohamae*, L. Reproduction

- Bull. Korean Fish Soc 18(3): 253-261, 1985. (Korean)
- Morisawa S: Fine structure of micropylar region during late oogenesis in eggs of the hagfish *Eptatretus burgeri* (Agnatha). Develop Growth Differ 41: 611-618, 1999.
- Munoz M, Casadevall M, Bonet S: The ovarian morphology of *Scorpaena notata* shows a specialized mode of oviparity. J Fish Biol 61: 877-887, 2002.
- Parenti LR, Grier HJ: Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes, Integr Comp Biol 44: 333-348, 2004.
- Park JY: A morphological study on the gonad of the species in the family Cobitidae (Pisces: Cypriniformes) from Korea. Dissertation, Chonbuk National Univ., pp. 6-158, 1996. (Korean)
- Park JY, Kim IS: Fine structure of oocyte envelopes of the related cobitid species in the genus *Iksookimia* (Cobitidae), Ichthyological Res 48: 71-75, 2001.
- Park JY, Kim IS: Ultrastructure of the external egg envelopes in two Cobitid fishes (Cobitidae). Korean J Ichthyol 13(1): 19-23, 2001.
- Rizzo E, Sato Y, Barreto BP, Godinho HP: Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. J Fish Biol 61: 615-632, 2002.
- Yoon JM: Ultrastructure of egg micropyles and zona radiata in three aquacultural teleosts. Korean J Ichthyol 11(2): 126-133, 1999.

<국문초록>

미꾸리과(Cobitidae)에 속하는 한국 고유종인 수수미꾸리 Kichulchoia multifasciata 생식세포들의 형태학적 특징을 연구하 기 위해 조직학적 방법으로 난소 내의 난세포 및 난막의 구조를 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 조사하였다. 2010년 11월 수수미꾸리의 난소에는 다양한 발생단계의 생식세포들을 가지고 있었다. 난원세포의 핵은 평균 42.9±6.9(31.1~50.3)μm이며, 세 포 크기는 평균 103.9±24.7(69.8~130.1)μm로 나타났다. 핵 내 에는 인이 산재하였으며, 전체적으로 hematoxylin에 강하게 염색 되었다. 제1난모세포의 핵은 난원세포의 핵보다 커졌으며, 핵 내 의 인들이 핵막 인근으로 이동하여 분포하였고 세포는 평균 277.5 ±60.5 (216.7~354.9) μm였다. 제1난모세포 성숙 초기에는 세포 질에 난황포를 형성하기 시작하였으며 이후 난막의 방사대가 형 성되기 시작하였다. 성숙단계가 진행될수록 평균 617.6±85.1 (503.4~723.6) μm의 크기에 제2난모세포가 발달하였고 핵막과 인을 제외한 부분이 호염성 염색물질인 eosin에 강하게 염색되 었다. 또한 세포질의 대부분을 차지하고 있는 난황포에는 난황구 가 축적되기 시작하였으며 일부 난황괴가 형성되고 있었다. 한편 난막에는 미세융모가 관통하는 방사대와 외측의 미세융모가 확 인되었다. 2011년 3월 수수미꾸리의 수정난을 주사전자현미경으 로 관찰한 결과 난막의 표면에는 2~3μm의 미세융모가 분포하 였으며 외경이 크고 내경이 작아지는 깔대기 모양의 난문이 관 찰되었다. 난문 주변의 미세융모는 평균 5.26±1.22(6.79~3.39) μm로 난막 표면의 미세융모보다 긴 것으로 확인되었다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 3. Histological chracteristics of the oogonia and oocytes according to developmental stages in Kichulchoia multifasciata. (A) An ovary has some oogonia, primary and secondary oocytes (Bar=500 μm); (B) Oocytes of chromatin-nucleolus stages (Bar=50 μm); (C) Oocytes of peri-nucleolus stages (Bar=50 μm); (D) Oocyte of yolk vesicle stage (Bar=100 μm); (E) Oocyte of yolk granule stage (Bar=200 μm); (F) Egg membrane of oocyte in yolk granule stage (Bar=20 μm). C: cytoplasm, Fc: follicle cell layer, N: nucleus, Nc: nucleolus, OG: oogonia, PO: primary oocyte, SO: secondary oocyte, Yg: yolk granule, YV: yolk vesicles, arrow: egg envelope, arrowhead: microvilli.
- Fig. 4. Scanning electron micrographs of an egg envelope and micropyle of just after fertilization in *Kichulchoia multifasciata*. (A) Numerous microvilli on the egg surface (Bar=3.1 μm); (B) Microvilli and a funnel-like micropyle just after fertilization (Bar=8.4 μm); (C) Fusion of microvilli lengthen toward micropyle at 5 minutes after fertilization (Bar=15 μm). MV: microvilli, arrows: pore canals.

