

한국고유종 돌마자의 난자형성과정

김재구 · 류동석¹ · 박종영*

전북대학교 자연과학대학 생물학과, 전북대학교 생물다양성연구소, ¹청주대학교 이공대학 생명과학과

Oogenesis of *Microphysogobio yaluensis* (Pisces, Cyprinidae) in the Korean Endemic Species by Jae Goo Kim, Dong Suck Reu¹ and Jong Yong Park* (Faculty of Biological Science and Institute for Biodiversity Research, College of Natural Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea; ¹Department of Life Science, Cheongju University, Cheongju 28503, Republic of Korea)

ABSTRACT The oogenesis of the *Microphysogobio yaluensis* was investigated using light microscopy. Various developmental oocytes appeared in the ovary of the *M. yaluensis*. The oogenesis is largely divided into four stages: nuclear-chromatin stage, peri-nucleoli stage, vitellogenesis (yolk vesicle and yolk granule stages), and mature stage. The nuclear-chromatin is distributed in a large germinal vesicle as threads. The peri-nucleoli stage has many acidic nucleoli lining at the inner side of the nuclear membrane and an egg envelope just weakly starts. As the oogenesis gradually proceeds, they change to the vitellogenesis stage. The oocyte become to drastically increase and the marginal area of the ooplasm is covered with many vacuoles showing no negative reactions with hematoxylin and eosin staining, called the yolk vesicle stage. Many yolk vesicles-owned oocyte largely increase and as the development continues, its ooplasm is changed from the yolk vesicles to the yolk granules of eosinophilic. At the mature stage, lots of granules merged into a big yolk mass, acidophilic. Even at the mature stage, the egg envelope was still thin between the ooplasm and the follicular layer of the oocyte.

Key words: Korean Endemic Species, *Microphysogobio yaluensis*, oocyte, oogenesis, Cyprinidae

서 론

국내의 담수어류 중 한국고유종은 60여 종이 기재되어 있으며, 그중 돌마자 *Microphysogobio yaluensis*는 잉어목 잉어과 모래무지아과에 속하는 한국고유종이다. 돌마자는 유속이 비교적 완만하고 하상이 자갈이나 모래로 구성된 하천의 바닥에 살며, 부착조류 또는 수서곤충을 섭식하는 것으로 알려져 있다(Kim and Park, 2002). 산란기는 5월에서 7월 사이로 이 시기에는 암컷과 수컷 모두 주둥이의 기부, 가슴지느러미의 기부, 배지느러미의 기부가 주황색을 띠는 특징이 있다(Kim, 1997; Kim and Park, 2002).

경골어류의 난소는 일반적으로 종에 따라 모양과 위치가 다

르며, 동종에서도 생태적 조건에 따라 개체별 차이도 보이는 것으로 알려져 있다(Toshimori and Yasuzumi, 1976). 현재 국내의 담수어류는 대부분 주머니 모양의 난소가 체벽에 밀착되어 있으며 평활근이 발달되지 않은 난소외막에 의해 낭상형(cystovarian type) 난소를 가지고 있다(Park, 1996; Parenti and Grier, 2004; Koya and Munoz, 2007).

어류의 난자형성과정(oogenesis)은 난소 내에서 분열과 증식을 하는 난원세포(oogonia)로부터 염색인기(chromatin-nucleolus stage)와 주변인기(peri-nucleolus stage)를 거치는 제1난모세포(primary oocyte)로 분화가 진행된다. 제1난모세포의 특징은 난황포(yolk vesicle)가 세포질 가장자리에 형성되는 것이며, 제2난모세포는 간에서부터 합성 분비되는 난황전구물질을 난막(egg envelope) 외측에 분포하고 있는 여포세포(follicle cell)를 통해 난의 안쪽으로부터 난황물질을 축적하는 일련의 난황형성과정(vitellogenesis)을 거치게 된다(Yoon *et*

*Corresponding author: Jong Yong Park Tel: 82-63-270-3344,
Fax: 63-270-3362, E-mail: park7877@jbnu.ac.kr

al., 1993; Kinoshita et al., 2009). 이후 핵막 가까이까지 호산성의 난황구가 축적되 난황괴 (yolk mass)를 형성하고 방사대 (zona radiata)가 비후되며 중앙에 위치하고 있던 핵이 동물극으로 이동하는 특징을 보이는 완숙기의 제2난모세포들로 만들어진다(Kinoshita et al., 2009; Kim et al., 2011). 어류의 난자형성과정은 크게 초기성장, 난황포 형성, 난황형성 및 성숙의 4단계로 구분되기도 하며, 이러한 난자형성과정의 주기는 어류가 서식하는 환경에 수온, 광주기, 광도, 수질 등 요인으로부터 그 시기가 결정된다. 난자는 비세포성 막인 난막에 둘러싸여 배가 외부환경으로부터 받는 물리, 화학적 충격에 방어하고 확산을 통한 가스교환의 기능들을 수행하고 있다(Grierson and Neville, 1981; Cameron and Hunter, 1984; Guraya, 1986).

이러한 난막은 종 특이성 (species specificity)을 보이며, 부착성란은 난막이 얇고, 비부착성란은 난막이 두꺼운 층판구조를 이루고 있는 것으로 알려져 있으며, 강한 부착성 난은 난막의 외부구조물을 가지고 기질에 부착하는 특징을 보유했다(Dumont and Brummett, 1980; Grierson and Neville, 1981; Schmehl and Graham, 1987; Hamazaki et al., 1989; Park, 1996).

경골어류의 생식세포에 관한 연구는 참붕어 *Pseudorasbora parva* (Kim et al., 2007), 꾸구리속 *Gobiobotia* 3종 (Choi, 2015) 및 수수미꾸리 *Kichulchoia multifasciata* (Kim et al., 2011) 등에서 난자형성과정 등의 연구가 진행된 바 있다. 또한 참마자 *Hemibarbus longirostris* (Kim et al., 2001)와 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus* (Kim et al., 2009) 등에서 수정란 난막의 미세구조 등이 연구되었으며, 이러한 연구에서 생식세포형성과정과 미세구조는 종간에서 차이를 보일 뿐 아니라 동종간에서도 그들의 수정방식이나 생식습성 또는 서식환경에 따라 다양한 것으로 알려져 있다 (Wolenski and Hart, 1987; Choi, 2015). 현재까지 한국산 담수어류의 난자형성과정에 관한 연구는 채집 및 채란이 쉽고 실험실 내 양어가 어렵지 않은 종에서 연구가 활발하게 진행되어 왔으나 모래무지아과에 속하는 한국고유종의 연구는 참물개 *Squalidus chankaensis tsuchigae* (Kim et al., 1998)와 쉬리 *Coreoleuciscus splendidus* (Reu, 2008) 등 정소 내 생식세포에 관한 연구와 긴물개 *S. gracilis majimae* (Park et al., 2005) 및 모래주사 *Microphysogobio koreensis* (Kim et al., 2012) 등 초기발생 및 난발생 연구를 제외하면 미흡한 실정이다. 특히 산란유도가 어렵고 종의 채집이 힘든 종에서는 연구가 미흡하며, 대부분의 국내 담수어류는 일정시기에 한 번의 집단산란을 하는 주기를 보여 난자형성과정 및 생식계에 관한 연구가 어려운 실정이다.

따라서 본 연구는 한국고유종 돌마자 *Microphysogobio yaluensis*의 난자형성과정을 조사하여 수온변화와 무분별한 개발로 인한 환경오염 및 서식지 파괴 등으로부터 한국고유종을 보존하기 위한 연구에 기초자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

돌마자 (n = 10, 57.9 ± 3.2 mm SL)는 2009년 3월에 충청북도 괴산군 청천면 후평리 (36°39'29 N; 127°44'10 E) 달천과 구룡천 합류지점의 여울부에서 족대 (망목 4 × 4 mm)를 이용하여 채집하였다.

2. 실험방법

채집된 10개체의 난소를 적출한 뒤 4°C의 10% formalin에 12시간 고정한 다음 흐르는 물에 12시간 수세하였고 일반적인 탈수법인 ethanol 농도 상승순으로 조직을 탈수하였다. 이후 xylene으로 치환하여 paraffin으로 포매한 후 block을 제작하였다. Block은 microtome (Leica-820, Germany)으로 3~5 μm 간격으로 절편을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 이중 염색한 뒤 광학현미경 (Carl zeiss, AX10, Germany)을 이용하여 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 난소의 외부형태

돌마자의 난소는 길게 신장되어 복강 내 체벽과 장간막 사이에 위치하며, 좌우 난소의 모양과 크기는 비슷하였다. 한 쌍의 난소는 생식구 (genital aperture)에 개구되어 있었다. 각 개체의 난소는 난황물질에 의해 연한 노란색을 띠고 있었지만 아직까지 복부가 팽창하지 않은 상태였다. 경골어류의 난소는 대부분 체강의 형태에 따라 그 모양과 크기가 다양한 형태로 나타난다. 돌마자의 난소는 낭상형으로 나타나 버들치 (Kim et al., 2009)와 비슷한 형태였으며, 체강에 부레를 가지고 있지 않은 가늘고 긴 체형의 미꾸리과 어류 난소보다는 짧은 형태로 나타났다 (Park, 1996).

2. 난소 내 생식세포

돌마자의 난소를 확인한 결과, 난소 내에는 다양한 성장단계의 세포들이 존재하였으며 이러한 난소는 산란성기 이전에 채집된 성숙단계의 난소 내 세포구성을 잘 보여주고 있었다.

난소 내에는 참붕어 (Kim et al., 2007), 수수미꾸리 (Kim et al., 2011), 꾸구리속 3종 (Choi, 2015) 등의 연구에서와 같이 초기단계인 염색인기와 주변인기, 난황포가 형성되는 난황포기, 난황이 축적되는 난황구기 및 성숙의 단계로 난자형성과정이 진행되었다. 염색인기의 세포에서 핵 내의 인들이 핵막 인근에 배열되는 주변인기로 분화되었다. 주변인기 난모

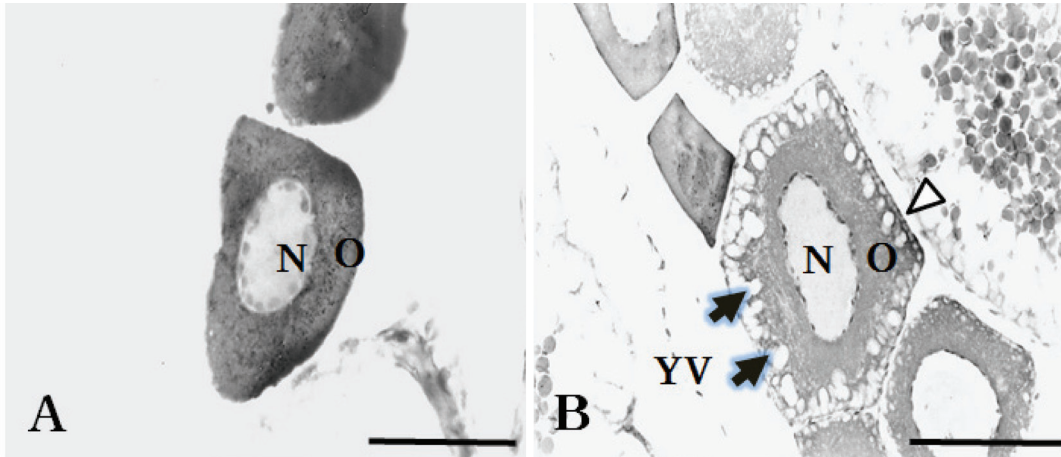


Fig. 1. A. A light micrograph of the peri-nucleolar stage of *M. yaluensis*. The ooplasm, nucleus, is well stained with hematoxylin (Bar = 50 μ m). B. A light micrograph of early yolk vesicle stage of *M. yaluensis*. The yolk vesicle is developed in the ooplasm, and it is not stained with H&E (Bar = 100 μ m). N; nucleus, O; ooplasm, YV; yolk vesicles (arrows), arrowhead; egg envelope.

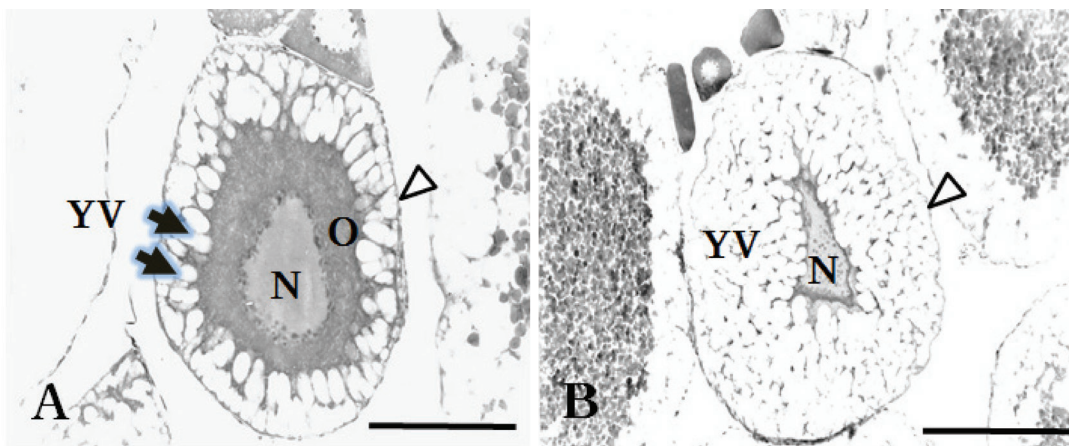


Fig. 2. A. A light micrograph of a late yolk vesicle stage of *M. yaluensis*. The follicle cells surround the oocyte (Bar = 100 μ m). B. A light micrograph of an early yolk formation stage of *M. yaluensis* (Bar = 200 μ m). N; nucleus, O; ooplasm, YV; yolk vesicles (arrows), arrowhead; envelope.

세포 직경은 약 70 μ m였으며 핵은 30 μ m 정도였다. 세포질은 hematoxylin에 매우 강하게 염색되는 호염성을 보였으며 핵 내에는 여러 개의 인들이 핵막의 안쪽에 산재하고 있었다 (Fig. 1A).

난황을 형성하는 초기의 난세포는 직경이 약 130 μ m였으며 세포질 가장자리에 난황포들이 형성되기 시작하였다. 이 시기부터 난막이 형성되기 시작하였다 (Fig. 1B). 난황포기의 난세포는 난황포가 세포의 가장자리에서 핵쪽으로 점차 증가하였으며 핵주위 세포질은 여전히 호염성으로 확인되었다 (Fig. 2A). 더욱 발달된 난세포는 대부분의 세포질이 난황포로 변화하였고 세포질의 양은 매우 적게 남아있었다 (Fig. 2B). 난황형성기의 난세포 직경은 약 200 μ m였으며 세포질은 거의 존재하지 않았으며, 세포질의 크기에 비해 핵의 비율이 감소하기

시작하였다. 또한 핵막 인근으로부터 난황물질이 축적되기 시작하였다 (Fig. 3A). 핵막 인근으로부터 축적되기 시작한 난황물질이 대부분의 세포질에 분포하기 시작하였으며 난황괴를 형성하였다. 성숙기의 난세포 직경은 약 500 μ m였으며 호산성의 난황물질이 세포질 거의 대부분을 차지하여 큰 난황괴를 형성하였으며, 난황물질이 가득한 세포질에 비해 핵의 크기와 비율이 매우 감소하였다 (Fig. 3B). 돌마자의 성숙기 난세포의 직경은 약 500 μ m로 나타나 꾸구리속 꾸구리 *Gobiobotia macrocephala* (960 μ m), 돌상어 *G. brevibarba* (1,151 μ m), 흰수마자 *G. naktongensis* (739 μ m)와 미꾸리과 수수미꾸리 (617 μ m) 등에 비해 작은 크기였다 (Kim *et al.*, 2011; Choi, 2015). 따라서 난자형성과정은 유사하였으나 난의 크기에서 차이를 보였다. 이러한 돌마자의 특징은 작은 크기의 난을 산란하여

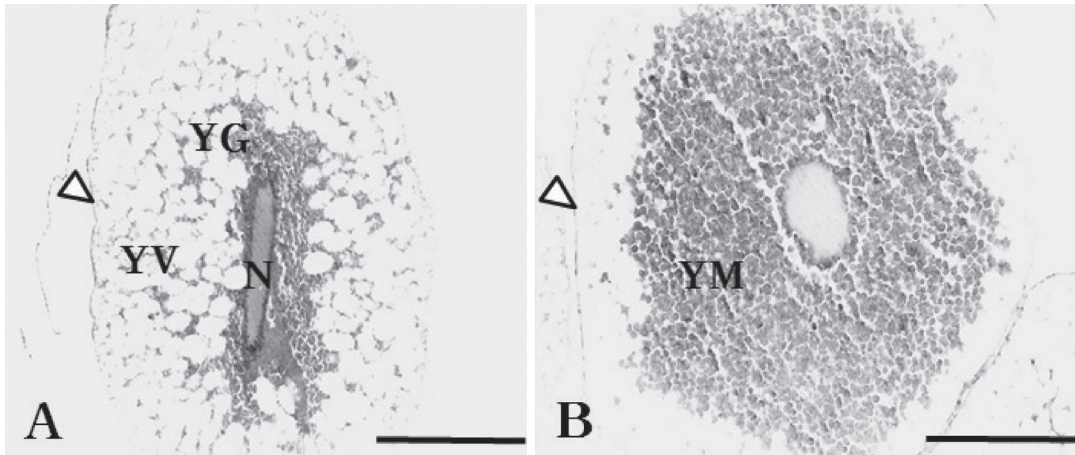


Fig. 3. A. A light micrograph of a late yolk formation stage of *M. yaluensis*. The yolk granules, which are stained strongly with eosin (Bar=200 μ m). B. A light micrograph of a mature egg in ovary of *M. yaluensis* (Bar=200 μ m). YM; yolk mass, N; nucleus, YV; yolk vesicles, YG; yolk granules, arrowhead; egg envelope.

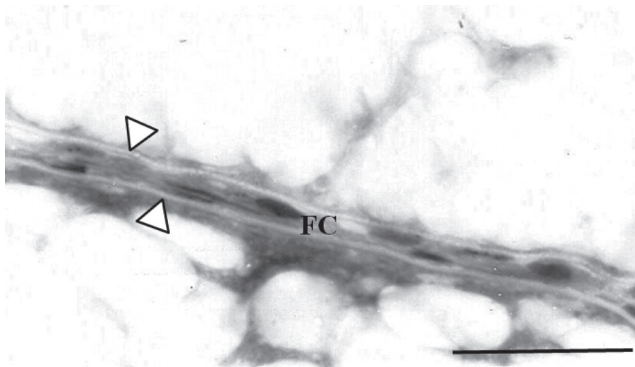


Fig. 4. A light micrograph of egg envelope in the ovary of *M. yaluensis* (Bar=20 μ m). FC; follicle cell, arrowheads; egg envelopes.

비교적 빠른 부화시간을 갖는 모래주사(Kim *et al.*, 2012)와 유사한 결과로 확인되었다.

돌마자의 난자형성과정은 잉어과의 피라미(Deung *et al.*, 2000), 참붕어(Kim *et al.*, 2007) 및 꾸구리속 3종(Choi, 2015)과 미꾸리과의 수수미꾸리(Kim *et al.*, 2011)의 난자형성과정과 거의 유사하였다. 본 연구에서 나타난 난자형성과정은 일반적인 어류의 난자형성과정인 초기성장, 난황포형성, 난황형성 및 성숙의 4단계로 구분할 수 있었으며, 이러한 결과는 기존의 경골어류 난자형성과정에 관한 연구와 일치하였다(Deung *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2011; Choi, 2015).

돌마자의 성숙한 난세포의 난막은 약 $1.5 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 로 확인되었다. 난막의 가장자리에는 여포세포들이 존재하였고 안쪽으로 난황물질들을 관찰할 수 있었다. 난막의 외측에 부착구조 등 특수구조는 관찰되지 않는 무구조형이었다(Fig. 4). 모래무지아과의 꾸구리(7~10 μm) 돌상어(10~15 μm), 흰수마자

(3~6 μm)의 난막과 비교하면 돌마자의 난막은 매우 얇은 것으로 확인되었다(Choi, 2015). 특히 유속이 느린 분류구간에 서식하는 흰수마자가 돌마자와 유사한 무구조형의 얇은 난막을 보유하고 있어 생태적인 특징과 상당한 유사성을 보였다.

돌마자의 난막은 분화과정이 진행될수록 두께의 변화는 관찰되지 않았다. 이는 피라미 *Zacco platypus*(Deung *et al.*, 2000)와 유사하였으나 분화가 진행될수록 난막의 두께가 증가하는 참붕어(Kim *et al.*, 2007)와 수수미꾸리(Kim *et al.*, 2011)와는 차이가 있었다. 어류의 수정란에서 난막의 두께는 일반적으로 침성란보다는 부성란이 더 두꺼운 것으로 알려져 있으며, 산란된 알이 부모세대로부터 보호를 받는 종이 보호받지 않는 종에 비해 얇은 것으로 알려져 있다(Flegler, 1977; Laale, 1980). 또한 친어가 알을 보호하지 않는 경우와 물의 흐름이 빠른 곳에 서식하는 종에서 난막의 두께가 더 두꺼운 것으로 알려져 있다(Guraya *et al.*, 1975; Park, 1996; Kim *et al.*, 2011). 이러한 차이는 종의 생태적 요인에 따라 다른 것으로 판단되며, 부착구조의 유무에 따라 차이를 보인다. 대부분의 담수어류는 침성란으로 산란된 후 하루로 떠내려가지 않도록 자갈이나 모래 사이에 묻혀 있거나 부착사를 이용하여 수초 또는 바위에 붙어 있다. 일부의 종에서는 점액을 분비하여 산란된 난자들이 서로 붙어 있게 된다. 그러나 해산어류의 난은 대체로 부성란이 많으며, 모체의 체내에서 형성된 수분과 유구에 의해 해수보다 가벼운 부력을 갖게 된다. 이는 표층에서 부화하여 자어가 되었을 때 쉽게 먹이를 구할 수 있도록 하는 역할을 한다. 본 실험에서 돌마자의 난자는 기존에 부착성란으로 알려져 있으나(Kim and Park, 2002), 난막의 외측에 특별한 부속구조물이나 부속사는 관찰되지 않는 무구조형이다. 이러한 점은 모래무지아과의 참마자(Kim *et al.*, 2001)와 흰수마자(Choi, 2015)와 같이 유속이 느리고 모래로 구성된 하상에

서식하는 어류와 상당히 유사하였다. 따라서 돌마자는 난 표면의 장력을 통한 약한 부착능을 보유할 것으로 생각된다. 이에 산란장으로부터 흘러내려간 난들은 비교적 유속이 약하고 모래의 입자가 큰 곳의 간극에서 성장과 가스교환을 이어갈 것으로 사료된다.

돌마자 난자형성과정은 종 고유의 형태적 특징을 보였으며 이는 종을 분류하는데 중요한 형질로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 국내에 서식하는 담수어가 수온상승, 서식지 파괴 및 환경오염으로 인하여 종 수 및 개체수가 감소하는 경향을 보여 한국고유종의 보존과 생활사 및 번식에 대한 연구도 함께 수행되어야 할 것이다.

요 약

잉어목 모래무지아과에 속하는 한국 고유종 돌마자 *Microphysogobio yaluensis* 난소 내 생식세포들의 형태학적 특징을 연구하기 광학현미경을 이용하여 조사하였다. 난자형성과정(oogenesis)은 크게 염색인기(chromatin-nucleolus stage), 주변인기(perinucleolus stage), 난황형성기(vitellogenesis)의 난황포 및 난황구기와 성숙(mature stage)의 단계로 구분되었다. 염색인기에는 배포가 크게 형성되며 실모양의 염색질이 산재되어 있다. 주변인기에는 핵 내에 산성의 인들이 핵막인근에 분포하고 있었으며, 난막(egg envelope)이 형성되기 시작하였다. 이후 난황형성기의 난황포 단계에서는 세포질의 대부분이 텅빈 공포모양의 난황포로 구성되며, 발생이 진행되면서 난황구 단계에서는 난황포 사이에 eosin에 염색되는 난황과립으로 대체되었다. 성숙단계에 도달한 난세포에는 많은 난황구들이 하나의 커다란 난황괴(yolk mass)를 형성하고 있었다. 이 시기의 난세포의 난막은 세포질과 여포세포층 사이에 얇게 형성되었다.

REFERENCES

- Cameron, I.L. and K.E. Hunter. 1984. Regulation of the permeability of the medaka fish embryo chorion by exogenous sodium and calcium ions. *J. Exp. Zool.*, 231: 447-454.
- Choi, W.S. 2015. The oogenesis and ultrastructure of egg envelope in 3 species of genus *Gobiobotia* (Pisces: Cyprinidae) from Korea. Thesis, Chonbuk National Univ., 41pp. (in Korean)
- Deung, Y.K., D.H. Kim and D.S. Reu. 2000. Ultrastructure of the fertilized egg envelope from pale chub Cyprinidae, Teleost. *Korean J. Electron Microscopy*, 30: 321-326. (in Korean)
- Dumont, J.N. and A.R. Brummett. 1980. The vitelline envelope, chorion, and micropyle of *Fundulus heteroclitus* eggs, *Camete Res.*, 3: 25-44.
- Flegler, C. 1977. Electron microscopic studies on the development of the chorion of the viviparous teleost *Dermogenys pusillus* (Hemirhamphidae). *Cell Tiss. Res.*, 179: 255-270.
- Grierson, J.P. and A.C. Neville. 1981. Helicoidal architecture of fish eggshell, *Tiss. Cell*, 13: 818-830.
- Guraya, S.S. 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis, *Monographs in Developmental Biology*. Karger, 18: 111-147.
- Guraya, S.S., R. Kaur and P.K. Saxena. 1975. Morphology of ovarian changes during the reproductive cycle of the fish, *Mystus tengara* (Ham.). *Acta Anat.*, 91: 222-260.
- Hamazaki, T.S., Y. Nagahama, I. Iuchi and K. Yamagami. 1989. A glycoprotein from the liver constitutes the inner layer of the egg envelope (zona pellucida interna) of the fish, *Oryzias latipes*. *Dev. Biol.*, 133: 101-110.
- Kim, C.H., J.G. Kim and J.Y. Park. 2011. Structure of Egg Envelope and Oogenesis of *Kichulchoia multifasciata* (Pisces, Cobitidae). *Korean J. Microscopy*, 41: 189-196. (in Korean)
- Kim, C.H., S.W. Yoon, J.G. Kim, H.T. Kim, J.S. Park and J.Y. Park. 2012. Embryonic Development and Early Life History of the Endangered Species *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Cyprinidae). *Korean J. Ichthyol.*, 24: 160-166. (in Korean)
- Kim, D.H., K.J. Lee, B.S. Chang, H.S. Jung, Y.C. Teng and S. Kim. 2009. The oogenesis of Chinese minnow, Leuciscinae, Teleostei. *Korean J. Electron Microscopy*, 39: 237-243. (in Korean)
- Kim, D.H., K.J. Lee, S. Kim and Y.K. Deung. 2007. A study on the oogenesis of false dace (*Pseudorasbora parva*). *Korean J. Electron Microscopy*, 37: 65-72. (in Korean)
- Kim, D.H., Y.K. Deung, H.Y. Kim and D.S. Reu. 2001. Ultrastructure of the fertilized egg envelope from long nose barbel, Cyprinidae, Teleost. *Korean J. Electron Microscopy*, 31: 85-90. (in Korean)
- Kim, I.S. 1997. Illustrated Encyclopedia of Fauna & Flora of Korea, Vol. 37, Freshwater Fishes. Ministry of Education, 629pp. (in Korean)
- Kim, I.S. and J.Y. Park. 2002. Freshwater fishes of Korea. Kyohak Publishing, Seoul, 467pp. (in Korean)
- Kim, K.H., A.S. Kwon and Y.H. Lee. 1998. Spermatozoal ultrastructure and phylogenetic relationships of the subfamily Gobioninae (Cyprinidae) 2. Ultrastructure of spermatozoa in the Korean gudgeon, *Squalidus chankaensis tsuchigae*, *Korean J. Limnol.*, 31: 159-164.
- Kinoshita, M., K. Murata, K. Naruse, M. Tanaka (Eds.). 2009. Medaka: biology, management, and experimental protocols, Wiley-Blackwell, Iowa, USA, pp. 67-99.
- Koya, Y. and M. Munoz. 2007. Comparative study on ovarian structures in scorpaenids: possible evolutionary process of reproductive mode. *Ichthyol. Res.*, 54: 221-230.
- Laale, H.W. 1980. The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes, a review. *Copeia*, 2: 210-226.
- Parenti, L.R. and H.J. Grier. 2004. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integr. Comp. Biol.*, 44:

- 333-348.
- Park, J.Y. 1996. A morphological study on the gonad of the species in the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) from Korea. Dissertation, Chonbuk National Univ., 158pp. (in Korean)
- Park, K.S., Y.P. Hong, W.K. Moon, S.S. Choi and K.G. An. 2005. The egg development of Korean slender gudgeon, *Squalidus gracilis majimae* (Cypriniforms: Cyprinidae). Korean J. Limnol., 38: 73-82. (in Korean)
- Reu, D.S. 2008. A study on the reproductive cells in testis of *Coreoleuciscus splendidus*, J. Ind. Sci., Cheongju Univ., 25: 31-36. (in Korean)
- Schmehl, M.K. and E.F. Graham. 1987. Comparative ultrastructure of the zona radiata from eggs of six species of salmonids. Cell Tiss. Res., 250: 513-519.
- Toshimori, K. and F. Yasuzumi. 1976. The morphology and the function of the oocyte chorion in the teleost, *Plecoglossus altivelis*. J. Electron Microscopy, 25: 210.
- Wolenski, J.S. and N.H. Hart. 1987. Scanning electron microscope studies of sperm incorporation into the zebrafish (*Brachydanio*) egg. J. Exp. Zool., 243: 259-273.
- Yoon, J.M., G.Y. Kim, H.T. Huh, J.M. Kim and H.Y. Park. 1993. Studies on genetics and breeding in rainbow trout, *Oncophynchus mykiss* IX. Ultrastructural changes of ovarian follicle during oocyte growth. Korean J. Zool., 36: 304-318.