

암수동체성 물고기 *Rivulus marmoratus*(Teleostomi: Cyprinodontidae)의
자연발생적 좌우비대칭성에 관하여

박 은 호·강 승 국*·이 승 휘
(한양대학교 자연과학대학 생물학과, 경기고등학교*)

Spontaneous Bilateral Asymmetry in the Hermaphroditic Fish *Rivulus marmoratus* (Teleostomi: Cyprinodontidae)

Eun-Ho Park, Seung Kuk Kang* and Seung-Hwi Lee
(Department of Biology, Hanyang University; Kyonggi High School*)
(1987. 1. 8 접수)

ABSTRACT

The spontaneous bilateral asymmetry was analyzed in the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* to obtain base line data on the developmental stability of this fish. The results obtained were as follows;

1. Eight kinds of countable anatomical characters except numbers of otolith and radii branchiostegi showed bilateral asymmetry at the frequency ranging from 9.8% to 64.7%.
2. Asymmetry index was not significantly different from that of gonochoristic fish species previously reported.

Genetical implication of the results was discussed in relation to developmental stability and homozygosity of this species.

서 론

동물의 외부 형태 및 일부 기관의 배열은 대칭성(symmetry)을 나타낸다. 주축(radius)의 수와 방향에 따라서 여러 유형의 대칭성이 있으나, 그 중 주축을 통하는 대칭면이 단 한 개인 경우를 좌우대칭성(bilateral symmetry)이라 한다.

편형동물 이상의 분류군은 대부분 좌우대칭성이며, 특히 절지동물과 척추동물에서 현저하다. 좌우대칭형은 고도의 활동성과 기민한 운동을 요하는 동물의 감각 및 운동기능에 능률성을 부여한다(Jolicoeur, 1963). 따라서 대칭성은 동물의 기능과 진화에 중요한 역할을 하며, 이는 유전적으로 조절된 일련의 발생과정을 통하여 정교하게 표출된다. 그러나 대칭성은 개체발생 과정 중 내, 외적인 여러가지 요인에 의해 교란될 수도 있다(Valentine and Soulé, 1973; Siegel and Doyle, 1975; Bruckner, 1976). 따라서 이러한 비대칭성(asymmetry)

은 개체발생의 안정성(developmental stability)내지 항상성(homeostasis)의 척도로 이용될 수 있다(Mather, 1953; Van Valen, 1962; Felley, 1980).

*Rivulus marmoratus*는 척추동물에서 유일한 기능적인 암수동체성 물고기(Harrington, 1961)로서 유전적으로 완벽한 동질성을 지니고 있다(Kallman and Harrington, 1964; Harrington and Kallman, 1968; Harrington, 1971). 따라서 이들을 실험재료로 사용할 경우 개체사이의 유전적인 이질성에 의한 결과의 교란을 극소화할 수 있고, 사육에 편리한 점 등 실험동물로서의 가치성이 높다(Park and Kim, 1984a). 이러한 관점에 입각하여 본 연구는 *R. marmoratus*의 기초 생물학적 연구의 일환으로 이들에서 나타나는 자연발생적 좌우비대칭성의 정도를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 사육

본 연구에 사용된 재료는 1981년 독일연방공화국 함부르크대학 동물학 연구소로부터 분양받은 4개체 중 생존한 1개체에서 기원된 것으로 모두 한양대학교 생물학과 사육실에서 사육한 것이다.

사육용 물은 수돗물을 24시간 이상 aeration시켜 염소를 제거한 후 평균 4주 간격으로 교체하였고 염분도는 $10 \pm 1\%$ 로 유지하였다. 물고기의 발생시 온도와 개체발생의 안정성은 상관성이 있으므로(Harrington and Crossman, 1976; Dentry and Lindsey, 1978), 온도는 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 항온 조절하였다. 광주기는 40W형광등으로 1일 14시간 자동조절하였다. 부화 후 1개월까지의 유어는 brine shrimp(*Artemia salina*)의 유생(nauplii)으로 길렀으며, 그 이후의 먹이로는 닭의 간, 지렁이 혹은 초파리 등을 사용하였다. 본 실험에는 부화 후 90~100일 된 102개체를 무작위적으로 선택하여 사용하였다.

2. 방법

(1) 형질의 선정

좌우 비대칭성의 판단과 관찰이 용이하고 정확하며, 분류 및 형태학적 특성으로 이용되는 다음 10가지 형질만을 선정하여 조사하였다(Fig. 1).

- 1) 가슴지느러미의 가시 연조수(Valentine *et al.*, 1973; Mitton, 1978)
- 2) 배지느러미의 가시 연조수(Vrijenhoek and Lerman, 1982; Leary *et al.*, 1983; Bell *et al.*, 1985)
- 3) 가슴지느러미의 기골(ptyergophore=radialia)의 수(Harder, 1975)
- 4) 이골(otolith)의 수(Felley, 1980)
- 5) 측선 상부의 비늘수[등지느러미 제 1 기조 앞에서부터 측선까지의 복후방(caudoventrals) 비늘수, Valentine *et al.*, 1973]
- 6) 측선 하부의 비늘수[뒷지느러미 제 1 기조 앞에서부터 측선까지의 배전방(craniodorsals) 비늘수, Valentine *et al.*, 1973]
- 7) 측선상의 비늘수(Valentine *et al.*, 1973; Mitton, 1978; Felley, 1980)
- 8) 측선상의 유공 비늘수[보통 아가미 뚜껑 옆에 위치한 측선 제일 앞의 구멍뚫린 비늘(first anterior pored scale in the lateral line)에서 시작하여 미기골(hypural plate)까지 구멍

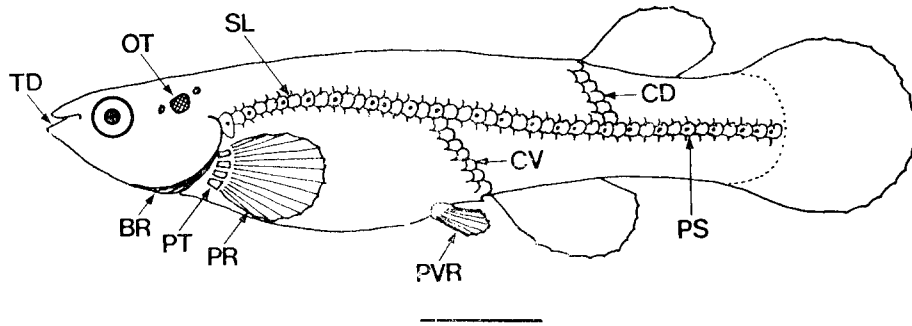


Fig. 1. Diagrammatic representation of selected ten characters for measuring bilateral asymmetry in *R. marmoratus*. BR; No. of radii branchiostegi, CD; No. of craniodorsad scales above lateral line, CV; No. of caudoventrad scales below the lateral line, OT; No. of otolith, PR; No. of pectoral fin rays, PS; No. of pored scales in the lateral line, PT; No. of pterygophores, PVR; No. of pelvic fin rays, SL; No. of scales in the lateral line, TD; No. of outer teeth of dentary. Scale bar; 2mm.

놓린 비늘수, Valentine *et al.*, 1973]

9) 새피복사골(radii branchiostegi)의 수(Harder, 1975)

10) 아래턱 바깥쪽의 치아수(Schultz, 1969; Vrijenhoek and Lerman, 1982)

(2) 조사 방법

조사 형질이 뚜렷하고 확실하게 구분되도록 골격과 비늘을 멜라닌 제거 염색방법(Park and Kim, 1984b)으로 염색하였다. 염색이 끝난 개체는 개체별로 고유번호를 부여하고, 선정된 형질에 따라 해부현미경으로 관찰하여 숫적인 비대칭성을 계수하였다.

(3) 자료의 통계처리

조사한 각 형질에 대한 좌, 우별 평균치와 표준편차를 산출하였고, Valentine 등(1973)의 방법에 따라 total signed difference ($\sum |r-1|$)를 얻은 후 signed difference의 표준편차(S_{r-1})를 계산하고 형질의 평균값(\bar{X}_{r+1})도 얻었다. 여기서 이질적인 자료의 산포도를 비교하는데 편리한 비대칭 변이의 제곱상수(squared coefficient of asymmetry variation, CVa^2)를 다음 공식에 의하여 계산하였다.

$$CVa^2 = \left(\frac{S_{r-1} \times 100}{\bar{X}_{r+1}} \right)^2$$

각 형질에 대한 비대칭성의 유의성 검정은 Lewontin(1966)이 사용한 변이의 제곱상수법에 따른 F-test 방법을 채택하였다.

결 과

1. 개체별 비대칭 형질의 빈도

조사한 총 102개체 가운데 한가지 이상의 형질에서 비대칭성을 나타낸 것이 95개체(93.2%)였으며 2가지 이상의 형질에서 비대칭성을 지니고 있는 개체의 빈도도 89개체(87.32%)였다. 따라서 본 종은 거의 최소한 한가지 형질 이상에서 비대칭성을 나타낸다고 판단된다.

Table 1. Mean number and asymmetry data from the selected 10 characters of *Rivulus marmoratus**

Characters	Mean \pm S.D.**		Frequency of asymmetry (%)	Total of signed differences	CVa ² values	F ratios
	Left	Right				
Pectoral fin rays	12.98 \pm 0.46	13.05 \pm 0.45	14.71	15	1.8513	1.058
Pelvic fin rays	5.74 \pm 1.63	5.46 \pm 1.64	25.45	94	296.7111	1.013
Pterygophores	4.00 \pm 0.20	4.04 \pm 0.34	15.69	16	20.4640	2.962***
Otolith	3.00 \pm 0.00	3.00 \pm 0.00	0.00	0	0	1.000
Scales above the lateral line	6.00 \pm 0.28	6.06 \pm 0.24	9.80	10	6.0810	1.417
Scales below the lateral line	7.91 \pm 0.49	8.06 \pm 0.57	20.59	21	6.4101	1.390
Scales in the lateral line	46.13 \pm 2.30	46.02 \pm 2.39	64.71	135	1.8511	1.083
Pored scales in the lateral line	23.52 \pm 4.50	23.32 \pm 4.59	61.76	170	15.6676	1.043
Radii branchiostegi	6.00 \pm 0.00	6.00 \pm 0.00	0.00	0	0	1.000
Outer teeth of dentary	5.99 \pm 1.14	5.95 \pm 1.24	38.24	58	50.2048	1.179

* Sample size; 102

** S.D.; standard deviation,

*** $p > 0.05$

2. 비대칭성의 양적 분석

*R. marmoratus*에서 조사된 10가지 형질 각각의 좌, 우의 평균치는 Table 1에 나타내었다. 이골의 수와 새피복사골의 수는 전혀 비대칭을 나타내지 않았으나 다른 형질에서는 정도의 차이는 있었지만 모두 비대칭을 나타내었다. Table 1에서 나타난 바와 같이 형질별로는 측선의 비늘수(64.71%)와 측선상의 유공비늘수(61.76%)에서 비대칭성이 가장 현저하였고, 아래턱 바깥쪽 치아수(38.24%)에서도 비교적 많이 나타났었다.

상대적 비대칭성을 비교하기 위하여 계산된 CVa² 값을 보면 배지느러미 가지 연조수(CVa²=296.7111)에서 가장 큰 값을 나타내었고, 다음이 아래턱 바깥쪽 치아수(CVa²=50.2048)에서였다. 이것은 배지느러미 가지 연조수와 아래턱의 바깥쪽 치아수는 적은데 비해 나타난 변이가 다양하고 많기 때문에 상대적으로 CVa² 값이 커진 것이라 생각된다. 한편 갯수가 많은 측선상의 비늘수(CVa²=1.0827)나 측선상의 유공 비늘수(CVa²=1.0430)에서는 비대칭 빈도는 컸지만 CVa² 값은 작게 나타났다.

좌, 우 비대칭성의 우연성 여부를 알아보기 위하여 계산해 본 F분포값이(Table 1) 대부분의 형질에서는 1% 이내의 값을 나타내므로 여기서 관찰된 비대칭은 fluctuating asymmetry로 판단된다. 그러나 예외로 방사기골의 수에서만은 좌, 우의 차이가 유의적이므로 directional asymmetry인 것으로 볼 수 있다(Soulé, 1967; Jackson, 1973; Bell *et al.*, 1985).

3. 비대칭 형질의 보기

조사된 형질 중에서 가슴지느러미 가지 연조의 수는 보통 좌, 우가 13:13으로 대칭을 이루나 12:13(Fig. 2a), 13:14(Fig. 2c) 등의 비대칭이 존재하며, 방사기골의 수도 좌, 우가 보통 4:4이나 3:4(Fig. 2a), 4:5(Fig. 2b) 등인 비대칭이 나타났다. 특히 배지느러미 모양은 완전한 것이 보통이며 이들의 가지 연조수도 좌, 우가 6:6인 대칭성이 대부분이나 완전한 모양의 지느러미가 하나 더 있는 것(Fig. 3a), 한쪽 지느러미가 불완전한 것(Fig. 3b), 한쪽 것이 전혀 없는 것(Fig. 3c) 등으로 아주 특이하였다. 아래턱 바깥쪽 치아수도 보통 좌, 우가 6:6의 대칭성이나 4:5(Fig. 4a), 6:9(Fig. 4b) 등으로 비대칭성을 나타냄

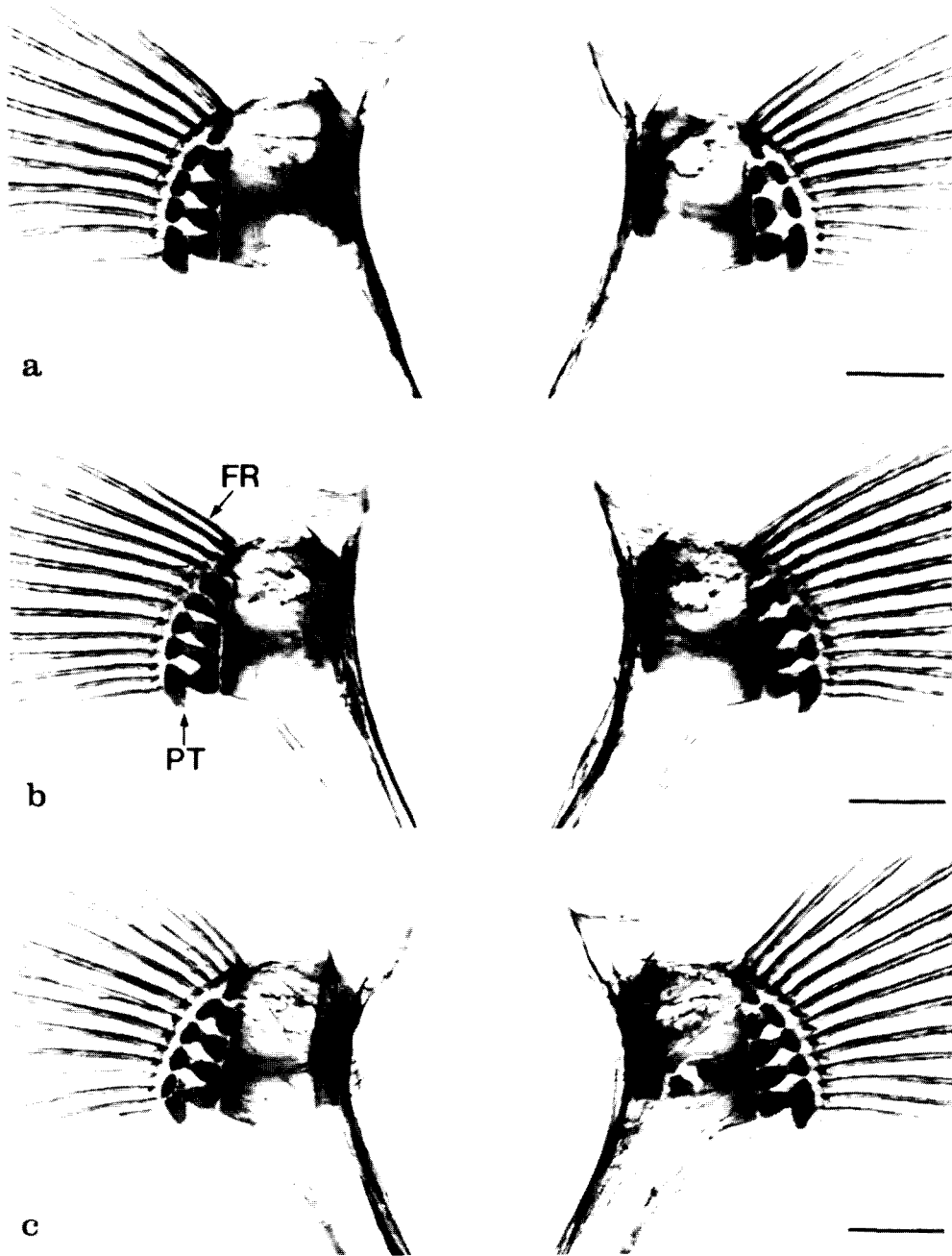


Fig. 2. Microphotographs showing bilateral asymmetry in some unit bones of pectoral girdle of *R. marmoratus*. Numbers of fin rays (FR) and/or pterygophores (PT) between left and right sides are different in given specimens (a-c). Scale bars; 0.5 mm.

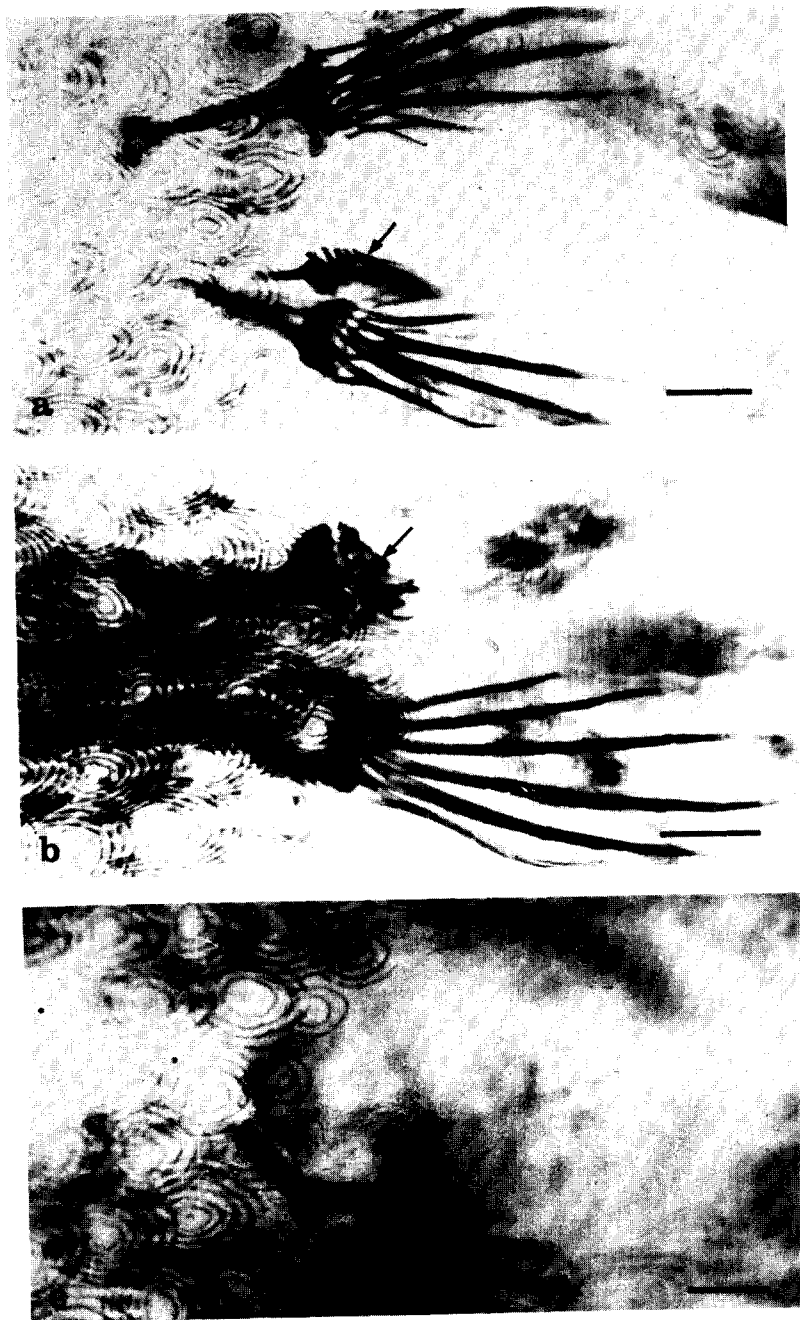


Fig. 3. Microphotographs showing bilateral asymmetry of pelvic fin complexes of *R. marmoratus*. a. Extra rudiment (arrow) in one side, b. Typical type of unilateral vestigial (arrow), c. Complete absence of pelvic structures in one side. Scale bars; 0.2 mm.

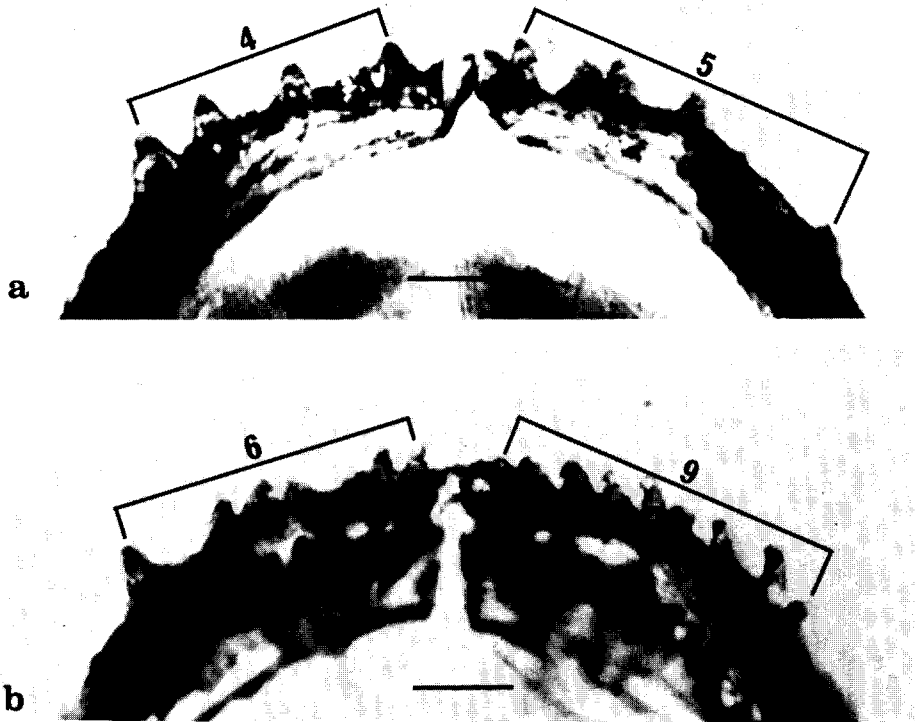


Fig. 4. Microphotographs showing bilateral asymmetry in numbers of outer teeth of dentary in *R. maromoratus*(a, b). Scale bars; 0.1 mm.

을 볼 수 있었다.

고 찰

동물의 발생과정은 발생중 내, 외적 환경의 변화에도 불구하고 어떠한 범위내에서 유전적으로 정교하게 조절된다. 그러나 이러한 developmental buffering 내지 안정성은 간혹 균형을 잃는 수가 있다(Leary *et al.*, 1983). 이러한 발생의 불안정성(developmental instability)은 극단적으로 기형으로 표출되거나, 아니면 좌우 비대칭성 동물일 경우 좌우 비대칭성으로 표현된다. 따라서, 좌우 비대칭성을 정량하여 역으로 발생의 불안정성을 계량할 수 있다.

물고기에 대한 비대칭성의 연구는 최초로 Hubbs and Hubbs(1945)에 의해서 보고되었으며, 그 후에 무지개송어(*Salmo gairdneri*)를 비롯한 10여종에서 연구되었다(Valentine *et al.*, 1973; Moore, 1977; Mitton, 1978; Vrijenhoek, 1979; Felley, 1980; Vrijenhoek and Lerman, 1982; Leary *et al.*, 1983; Bell *et al.*, 1983; Bell *et al.*, 1985).

위의 연구 결과 비대칭성은 일반적으로 환경 하중(environmental stress)과 관계가 있어(Valentine *et al.*, 1973), 환경 하중이 증가할 경우 개체의 항상성 유지 능력의 감소 내지

소실로 비대칭성이 증가한다. 그 예로 Valentine 등 (1973)은 오염된 수역에서 비대칭성이 증가함을 보고하였다.

환경 하중 외에도 유전적인 요인으로서 heterozygosity가 발생학적 안정성과 관계가 있다고 보고되고 있다. 암수이체성(gonochorism)일 경우 자가교배에 의한 inbreeding depression 결과 우월한 이형접합 유전자의 감소(over dominance 학설) 혹은 악성 열성유전자의 증가(dominance학설)로 인해 비대칭성이 증가할 것이라고 보고 있다(Lerner, 1954). 근래 무지개송어에서 동위효소의 heterozygosity의 감소가 비대칭성의 증가와 상관관계가 있음이 제시되었다(Leary *et al.*, 1983; 1985).

상기한 논리에서 볼 때 *R. marmoratus*는 이미 설명했듯이 유전적으로 극도의 homozygosity 상태이므로 비대칭성이 암수동체성이 아닌 암수이체성의 보통 물고기보다 매우 클 것으로 예상된다. 그러나 Table 1에서 나타난 비대칭계수(CVa²)를 암수이체성인 barred sand bass (*Paralabrax nebulifer*)나 grunion(*Leuresthes tenuis*) (Valentine *et al.*, 1973)의 비대칭계수와 비교해 볼 때 비록 종은 다르나 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다. 예컨대 측선상부의 비늘수의 비대칭계수가 *R. marmoratus*에서는 6.0810이며 barred sand bass의 남 California와 Baja California 집단의 평균 비대칭계수는 6.2011(Valentine *et al.*, 1973의 표 1)로서 서로 유사하였다. 이러한 경향은 비단 상기한 형질에서 뿐만 아니라 가슴지느러미의 가시연조수 등에서도 나타난다. 따라서 *R. marmoratus*는 누적적인 자가수정에 의한 유전적인 inbreeding depression으로부터 야기될 수 있는 발생학적 불안정성을 극복하는 어떤 유전적 기작이 개재하여 항상성을 유지하는 것으로 추측된다. 그러나 이에 관한 기작은 전혀 알려지지 않고 있으며 앞으로 연구해야 할 중요한 과제의 하나라고 생각된다.

이골의 수와 새피복사골의 수를 제외한 조사된 모든 형질에서 비대칭성이 나타남은 다른 물고기에서의 기존 연구 결과와 유사하다(Valentine *et al.*, 1973; Felley, 1980; Leary *et al.*, 1983). 이골의 수나 새피복사골의 수에서 비대칭성이 없음은 이들의 발생이 매우 안정하거나, 아니면 이러한 형질이 비대칭성인 개체는 초기 발생내지 어린 시기에 도태되기 때문에 관찰되지 않는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Bell, M.A., R.C. Francis and A.C. Havens, 1985. Pelvic reduction and its directional asymmetry in threespine sticklebacks from the Cook inlet region, Alaska. *Copeia* 1985:437-444.
- Bruckner, D., 1976. The influence of genetic variability on wing asymmetry in honeybees (*Apis mellifera*). *Evolution* 30:100-108.
- Dentry, W. and C.C. Linsey, 1978. Vertebral variation in zebrafish (*Brachydanio rerio*) related to the prefertilization temperature history of their parents. *Can. J. Zool.* 56:280-283.
- Felley, J., 1980. Analysis of morphology and asymmetry in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) in the southeastern United States. *Copeia* 1980:18-29.
- Harrington, R.W. Jr., 1961. Oviparous hermaphroditic fish with internal self-fertilization. *Science* 134:1749-1750.
- Harrington, R.W. Jr., 1971. How ecological and genetic factors interact to determine when self-fertilizing hermaphrodites of *Rivulus marmoratus* change into functional secondary males, with a reappraisal of the modes of intersexuality among fishes. *Copeia* 1971:389-432.

- Harrington, R.W. Jr. and R.A. Crossman, 1976. Temperature induced meristic variation among three homozygous clones of the self-fertilizing fish *Rivulus marmoratus*. *Can. J. Zool.* **54**:1143-1155.
- Harrington, R.W. Jr. and K.D. Kallman, 1968. The homozygosity of the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* Poey (Cyprinodontidae, Atheriniformes). *Amer. Natur.* **102**:337-343.
- Harder, W., 1975. Anatomy of Fishes. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Hubbs, C.L. and L.C. Hubbs, 1945. Bilateral asymmetry and bilateral variation in fishes. *Pap. Mich. Acad. Sci., Arts Let.* **30**:229-310.
- Jackson, J.F., 1973. A search for the population asymmetry parameter. *Syst. Zool.* **22**:166-170.
- Jolicoeur, P., 1963. Bilateral symmetry and asymmetry in limb bones of *Martes americana* and man. *Rev. Can. Biol.* **22**:409-432.
- Kallman, K.D. and R.W. Harrington, Jr., 1964. Evidence for the existence of homozygous clones in the self-fertilizing hermaphroditic teleost *Rivulus marmoratus* Poey. *Biol. Bull.* **126**:101-114.
- Leary, R.F., F.W. Allendorf and K.L. Knudsen, 1983. Developmental stability and enzyme heterozygosity in rainbow trout. *Nature* **301**:71-72.
- Leary, R.F., F.W. Allendorf and K.L. Knudsen, 1985. Developmental instability as an indicator of reduced genetic variation in hatchery trout. *Tran. Amer. Fish. Soc.* **114**:230-235.
- Lerner, I.M., 1954. Genetic Homeostasis. John Wiley, New York.
- Lewontin, R., 1966. On the measurement of relative variability. *Syst. Zool.* **15**:141-142.
- Mather, K., 1953. Genetic control of stability in development. *Heredity* **7**:297-336.
- Mitton, J.B., 1978. Relationship between heterozygosity for enzyme loci and variation of morphological characters in natural populations. *Nature* **273**:661-662.
- Moore, W.S., 1977. A histocompatibility analysis of inheritance in the unisexual fish *Poeciliopsis 2 monacha-lucida*, *Copeia* **1977**:213-223.
- Park, E.-H. and D.S. Kim, 1984a. Hepatocarcinogenicity of diethylnitrosamine to the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* (Teleostomi: Cyprinodontidae). *J. Natn. Cancer Inst.* **73**:871-876.
- Park, E.-H. and D.S. Kim, 1984b. A procedure for staining cartilage and bone of whole vertebrate larvae while rendering all other tissues transparent. *Stain Technol.* **59**:269-272.
- Schultz, R.J., 1969. Hybridization, unisexuality, and polyploidy in the teleost *Poeciliopsis* (Poeciliidae) and other vertebrates. *Amer. Natur.* **103**:605-619.
- Siegel, M.I. and W.J. Doyle, 1975. Stress and fluctuating asymmetry in various species of rodents. *Growth* **39**:363-369.
- Soulé, M.E., 1967. Phenetics of natural population. II. Asymmetry and evolution in a lizard. *Amer. Natur.* **101**:141-160.
- Valentine, D.W. and M.E. Soulé, 1973. Effects of p,p'-DDT on developmental stability of pectoral fin rays in the grunion, *Leuresthes tenuis*. *Fish. Bull.* **71**:921-926.
- Valentine, D.W., M.E. Soulé and P. Samollow, 1973. Asymmetry analysis in fishes; a possible statistical indicator of environmental stress. *Fish. Bull.* **71**:357-370.
- Van Valen, L., 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* **16**:125-142.
- Vrijenhoek, R.C., 1979. Genetics of a sexually reproducing fish in a highly fluctuating environment. *Amer. Natur.* **113**:17-29.
- Vrijenhoek, R.C. and S. Lerman, 1982. Heterozygosity and developmental stability under sexual and asexual breeding systems. *Evolution* **36**:768-776.