

해수에 적응된 guppy(*Poecilia reticulatus*) 상피의 미세구조적 변화

문 영 화

Ultrastructural Changes of the Epidermis of Guppy(*Poecilia reticulatus*) Scale Adapted to the Seawater

Moon, Young Wha
(Received November 23, 1995)

ABSTRACT

The epidermis of scales in the abdominal parts from freshwater- and seawater-adapted guppies(*Poecilia reticulatus*) were studied respectively by scanning- and transmission-electronmicroscope.

In the seawater adapted group, the surface area of pavement cells is increased nearly twice as much as that of freshwater-adapted group, and the pavement cells are relatively flattened. Adaptation to seawater causes the increment of the density of glycocalyx in the surface of the microridge of pavement cells, as well as the well developed intercellular junctional complex(desmosome) between neighbouring filament-containing cells. Also, intercellular space between adjacent filament-containing cells is more frequently observed in the epidermis of seawater adapted guppy.

Key words : Pavement cell, Filament-containing cell, Glycocalyx

서 론

어류의 피부는 직접적으로 물과 맞닿아있기 때문에 다른 육서 척추동물과는 다르게 그 특수한 환경에 적응하기 위하여 특별한 방식으로 발달한다. 즉, 주위환경인 물과 동물체사이의 삼투압 차이를 극복하거나, 물의 흐름이나 물속의 돌과 같은 물리적 힘에 의한 자극, 게다가 곰팡이

나 세균 그리고 기생충처럼 피부에 달라붙어 병을 야기하는 것으로부터의 위협에 대처해야 한다. 그러므로 어류 피부 상피는 점액분비세포 및 염소세포 등 특수한 기능을 하도록 분화된 세포들이나, 비늘 그리고 비늘의 표면에 형성된 microridge와 같은 표면구조들로 특징지어진다고 보고되었다(Yamada, 1968; Brown and Wellings, 1969; Waterman, 1970; Mittal *et al.*, 1980).

특히 채표면이 비늘로 덮여있는 어류(예 : guppy, 금

봉어 등)에서는 비늘이 진피에 비스듬하게 기왓장이 겹쳐진 것처럼 놓여있고 그 표면에 상피(epidermis)가 형성되며, 형태학적 연구에 의하면 상피는 중층편평상피로 기저층에서 표면층까지 3부분으로 구분되며 대부분 filament-containing cell들로 구성되고, 그외에 점액세포, 염소세포, 감각세포 및 club cell들도 관찰된다(Henrickson and Matoltsy, 1968; Fahrenbach and Knutson, 1975; Schwerdtfeger and Bereiter-Hahn, 1978; Schwerdtfeger, 1979; Sire and Geraudie, 1984; Kim *et al.*, 1988).

어류에서 생활사에 따라 자연적으로 서식환경의 염분농도를 달리하는 것에 근거하여 민물에 서식하는 광염성 어류를 해수에 적응시켜 특별히 삼투조절기능을 능동적으로 담당하는 것으로 알려진 아가미에 대하여, 서식환경의 염분농도가 미치는 영향은 세포수준에서 광학현미경과 전자현미경으로 연구하였다(Karnaky *et al.*, 1976; Foskett *et al.*, 1981; Pisam *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1993; Moon, 1995). 게다가 담수어류의 피부와 아가미는 이들을 통한 과잉의 수분유입에 직면하게되므로 삼투조절에서 주요역할을 담당할 것이라고 보고되었다(Matteij and Stroband, 1971). 어류의 아가미나 표피에서 서식수의 염분농도가 상피의 두께나 점액세포의 수 및 어류 표피를 덮고 있는 glycocalyx나 점액질(mucus)의 성분에 영향을 미친다고 알려졌다(Matteij and Stroband, 1971; Olivereau and Lemoine, 1972; Moon, 1995).

그리하여 본인은 담수산 열대어인 guppy(*Poecilia reticulatus*)를 선택하여 이들을 바닷물의 염분농도(32%)에 적응시킨 후, 서식환경의 염분농도가 환경과 직접적으로 접하는 비늘위를 덮고 있는 상피에 미치는 형태학적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물로는 관상용으로 사육되는 guppy(*Poecilia reticulatus*)를 선택하였으며, 수족관에서 구입한 guppy에 산소를 공급해주고, 먹이로는 테라민을 1일 1회 공급하면서 실험실에서 적당한 기간 동안 적응시켰다.

환경적응실험을 위하여 실험동물을 실험실에 설치된 수조(담수)에서 약 1주일간 적응시킨 후, 점진적으로 서

식수의 염분농도를 증가시켜서 결국 해수의 염분농도인 32%에서 약 일주일간 적응시켰다. 그리고 담수와 해수에 적응된 적어도 5마리의 개체로부터 마취 하지않은 상태에서 좌측 복부의 비늘들을 떼어내었다. 물의 염도를 높여주는데 사용한 해수(염분농도: 32%)는 인천 월미도 앞바다에서 취수한 것으로 4°C의 저온실에서 보관하면서 필요에 따라 사용하였다. 각 단계의 염도는 염도측정기(S-Mill)를 이용하여 측정하였다.

절취한 비늘들을 주사전자현미경으로 관찰하기 위하여, pH 7.2에서 0.1 M phosphate buffer로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde-paraformaldehyde액에서 3시간, 2% osmium tetroxide에서 1시간 전 후 고정 한 후, 각 급 ethanol로 탈수하였으며, 탈수된 조직은 액체 CO₂를 이용한 임계점 건조기(Polaron 300)에서 건조시켰고, Ion Sputter JFC-1100을 이용하여 조직표면에 금을 입힌 후, JSM-5410 LV(JEOL) 주사전자현미경으로 관찰하였다. 투과전자현미경 관찰을 위하여는 주사전자현미경 관찰에서와 동일한 방법으로 고정 및 탈수하였으며 탈수된 조직을 Epon 812 혼합액에 포매하여 60°C Polymerizer(Reichert-Jung)에서 72시간동안 중합시켰다. 포매된 조직은 1 μm의 박질편을 만들고 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경에서 관찰할 부위를 확인한 후, LKB ultratome으로 초박질표본을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하였으며, JEM-1200EX(JEOL)형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

서식환경에 따른 pavement cell들의 크기를 분석하기 위하여 한 동물 개체당 적어도 다섯개의 비늘을 무작위로 선택하여 그 상피표면을 주사전자현미경으로 1000배에서 촬영하였다. 이들 사진에서 일정면적의 테두리를 투명용지에 옮겨 그려서 영상분석기[Image analysis system (VIDAS) Kontron Co., Germany]로 면적을 계산하였으며, 그 안에 있는 pavement cell들의 수를 센 후, 각각의 환경조건에서 단위면적(1 mm²)당 차지하는 pavement cell들의 수를 비교하였다.

또한 서식환경의 염분농도에 따른 pavement cell들의 표면에 발달한 microridge의 형태계측학적 분석을 위하여, 5000배의 주사전자현미경 사진에서 하나의 pavement cell이 갖는 모든 microridge들을 모두 가로지를 수 있는 선을 긋고 그 선의 길이를 측정하였으며, 그 단

위길이당 microridge가 출현하는 빈도수를 분석하였다. 그리고 pavement cell의 표층부위를 투과전자현미경으로 8000배에서 촬영하여 직선의 단위길이당 굴곡된 microridge의 실제표면길이도 측정, 분석하였다.

결 과

1. 주사전자현미경 관찰

Guppy 복부에서 떼어낸 비늘은 전형적인 원린형의 비늘이었으며, 그 한쪽 끝이 진피에 기왓장이 겹쳐지듯이 비스듬히 박혀있었고, 비늘이 쌓여서 중복된 곳을 제외한 표면에 드러난 부위에만 상피가 덮여 있었다(Fig. 1a). 비늘에 덮여 있는 상피는 보통 4 내지 5의 세포층으로 구성된 중층편평상피로, 상피의 표면층은 pavement cell들로 덮여 있었다(Fig. 1b). pavement cell은 다각형의 납작한 형태로, 표층 세포막의 돌출로 인해 동심원이나 망상의 배열구조를 나타내는 microridge들이 뚜렷하였다(Figs. 1c, d, e). 각각의 pavement cell은 인접한 세포들의 microridge가 세포간 연결구조에 의해 연결되어 밀접하게 위치하므로 그 경계가 뚜렷하게 구분되었다(Figs. 1c, d, e). 이들 세포들은 apoptosis나 necrosis에 의해 표면층에서 사라지기도 하고(Fig. 1e), 바로 아래 층에서 새롭게 형성된 세포들로 대체되며(Figs. 1c, d), 특히 이들 세포가 형성되는 초기에는 표층 세포막 돌기가 미세음모의 형태와 유사하였다(Figs. 1d, f). 이들 pavement cell들 사이에서 점액세포의 점액분비를 위한 입구와 염소세포의 apical pit도 관찰할 수 있었다(Figs. 1e, g).

해수에 적응된 guppy와 담수산 guppy에서 단위면적당 pavement cell들의 수를 비교한 결과, 해수에서 그 수가 약 40% 이상 감소하였다($P < 0.001$, Fig. 2). 또한 담수산 guppy의 경우, pavement cell들의 크기가 비교적 균일하였으나, 해수에 적응된 것에서는 다양하였다(Figs. 1c, d, e).

담수와 해수에 적응된 개체들에서 환경과 직접 면한 pavement cell들 표면에 특징적 구조로 나타나는 microridge가 직선의 단위길이당 형성한 표면적 확장정도와, 단위길이당 출현하는 빈도수를 비교분석한 결과는 표 1에 제시하였다. 이 결과들은 통계학적으로 유의성이 없는 것으로 나타났다.

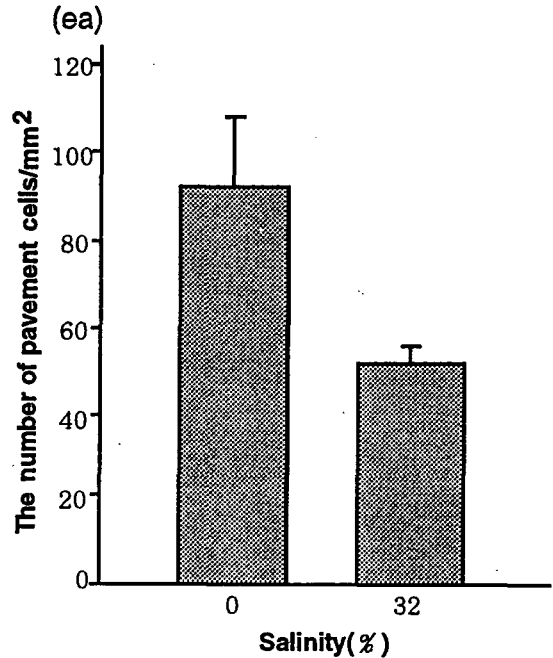


Fig. 2. The number of pavement cells per the unit area(1 mm²) of the epidermis on scales of the freshwater- and seawater-adapted guppy.

Table 1. Pavement cells; Morphometric data of the surface characteristics.

Test Condition	Surface extent(μm)	Relative frequency of epidermal ridges
Freshwater adapted guppy	18.3 \pm 1.5	16.3 \pm 2.9
Seawater adapted guppy	16.8 \pm 2.4	17.5 \pm 1.1

These data were measured per unit length(10 μm).

2. 투과전자현미경 관찰

Guppy의 비늘위를 덮고 있는 상피는 그 기저부에서부터 상피 표면층에 이르기까지 다양한 형태를 나타내는 filament-containing cell들로 구성되었으며(Figs. 3a, c, f), 이들 사이에 가끔씩 점액세포가(Fig. 3d), 그리고 아주 드물게 염소세포(Figs. 3e, 4d)가 관찰되었다. 상피의 표층부, 중상부 그리고 기저부에 각각 위치하는 filament-containing cell들은 형태적 차이를 나타내었다. 표층부에 위치하는 filament-containing cell인 상

피 표면층을 덮고 있는 pavement cell은 불규칙하거나 납작한 타원형의 핵을 가지며 핵주변부에 과립형질내세망, Golgi complex 등 세포내 소기관들이 잘 발달되었다(Fig. 3a). 특히 표층의 세포막은 융기하여 일정한 간격을 두고 microridge를 형성하였으며 외부환경과 직접 접하는 표면은 솜털모양의 glycocalyx로 덮여 있었다(Figs. 3a, 4a). pavement cell들 중 전자밀도가 높아지면서 apoptosis의 특징을 보이는 것(Fig. 4c)과, 이미 없어진 pavement cell 바로 아래층에서 새롭게 형성되고 있는 pavement cell도 관찰되었다(Fig. 3b). 이들 세포들은 인접한 pavement cell들과 desmosome에 의한 연결구조로 견고하게 부착되어 있었다(Figs. 3b, 4a, b).

상피 중간층에서 관찰되는 filament-containing cell은 타원형으로 세포 중앙에 균일한 핵질을 갖는 핵이 위치하고, 세포내소기관 즉 mitochondria, 과립형질내세망, ribosome 등이 핵주위를 둘러싸며 모여 있었으며, filament 다발들이 세포질 주변부에 산재하였고, 인접한 세포들과는 수많은 desmosome 연결구조로 결합되어 있었다(Fig. 3c).

상피 기저층의 filament-containing cell은 세포의 전반적인 전자밀도가 높으며, 중앙에는 핵이 그리고 핵 주위에는 소수의 mitochondria, 과립형질내세망, ribosome들이 관찰되었고 주변 세포질에 filament 다발들이 가득 채워져 있었다(Fig. 3f). 그리고 이들 세포의 측면 세포막은 서로 심하게 굴곡을 이루어 interdigitation을 나타내었고(Fig. 3f), 기저막층의 세포막에서는 endocytosis와 endocytic vesicle들이 관찰되었다(Fig. 3g).

가끔씩 관찰되는 점액세포는 상피 표면층 바로 아래에 위치하며, 잘 발달된 과립형질내세망, Golgi complex 그리고 점액과립들을 확인할 수 있었다(Fig. 3d). 또한 염소세포도 드물게 관찰되었는데, 하나의 염소세포가 상피의 기저막에서부터 표면층에 이르기까지 걸쳐 있었으며, 세포질의 대부분이 mitochondria와 tubular system으로 가득 채워져 있었다(Fig. 3e).

해수에 적응된 guppy에서, 상피층은 2~4층의 세포층으로 대조군보다 얇게 나타나며(Fig. 4a), 상피층을 구성하는 인접한 세포들 사이에 desmosome들이 더 빈번하였고, microridge 표면의 glycocalyx가 더 조밀하고 두껍게 발달하였다(Figs. 4a, b). 염소세포는 담수산

의 것과 비교하여 mitochondria와 tubular system이 더 조밀하게 세포질에 채워져 있었다(Fig. 4d). 또한 기저부에 위치한 filament-containing cell들의 경우 이들 측면세포막의 심한 굴곡과 더불어 intercellular space가 넓게 나타났고 이들 intercellular space에는 섬유상의 물질들이 채워져 있었다(Figs. 4e, f). 그리고 기저층 세포막에서 endocytosis와 측면 세포막에서 intercellular space로의 exocytosis(Fig. 4e), 그리고 receptor-mediated endocytosis의 결과로 형성된 coated vesicle들도 관찰되었다(Fig. 4f).

고 찰

대부분의 경골어류에서 체표면 상피는 주로 여러 층의 filament-containing cell들로 구성되고, 이 세포들은 상피의 기저층, 중간층, 그리고 표면층에 위치하는 것으로 구분되며, 그 각각의 미세구조적 특징들이 보고되었고(Henrikson and Matoltsy, 1968; Brown and Wellings, 1970; Merrilees, 1974; Harris and Hunt, 1975; Kim *et al.*, 1988), 본 연구의 guppy 비늘위에 덮여 있는 상피의 미세구조와도 일치하였다.

Schwerdtfeger(1979)는 guppy를 1년간 해수에 적응시켰을 때 꼬리지느러미가 상당히 길어졌으며, pavement cell의 표면적도 증가하는데 이는 해수에 적응된 어류에서 prolactin이 감소하기 때문이라고 하였다. 또한 Zaccane 등(1989)은 pavement cell에서 상층부에 형성된 microridge와 연관되어 분포된 cytoplasmic filament, 그리고 인접한 세포들 사이에 desmosome의 발달은 외부로부터 물리적인 힘에 의한 보호벽으로 작용할 것이라고 주장하였다. 상피내 filament-containing cell의 cytoplasmic filament는 desmosome과 연관성을 나타내며, 이들은 세포간 부착의 강도를 견고하게 하여 상피세포들의 형태를 유지시킨다(Brown and Wellings, 1970; Zaccane and Licata, 1982). 본 연구결과 pavement cell의 표층세포막의 돌출로 형성된 microridge의 높이나 단위면적당 밀도는 서식수의 염분농도에 따라 특별한 변화를 보이지 않았다. 그러나 해수에 적응된 guppy 상피에서, pavement cell이 납작해지면서 담수생의 것보다 표면적이 거의 두배 정도 증가하여 담수산 guppy에서 보다 더 넓은 비늘의 표면층을 덮고 있었

으며 세포간 연결구조인 desmosome도 발달하였다. 이는 pavement cell이 서식수 환경의 변화에 따르는 이온 강도(ionic strength)나 물의 흐름과 같은 물리적 스트레스에 견딜 수 있도록 적응된 현상일 것으로 사료된다.

어류 상피표면의 특수구조인 microridge는 상피표면에 점액질을 잡아두기 위한 구조적 장치로(Hawkes, 1974; Mittal *et al.*, 1980; Iger *et al.*, 1988), 이들 microridge의 요철구조에 고정되어 형성된 점액질층은 훌륭한 유희성을 제공하므로 물속에서 생활하는 동물체의 마찰력을 감소시켜 보호하는 기능을 하며(Fishelson, 1972; Fahrenbach and Knutson, 1975), 이온을 집중시키는 능력을 갖기도 하여 어류의 상피를 통한 투과성에 영향을 미치기도 하고(Fromm, 1980; Zacccone *et al.*, 1989), 상피의 상처나 찰과상에 따르는 삼투균형의 변화상태에서 이들 점액단백질이 보호적 삼투기능을 담당할 가능성도 시사되었다(Zacccone, 1981). 그리고 일반적으로 해수에 적응된 어류에서 아가미와 체 표면 상피내 점액세포의 수가 감소하는데 이는 해수로 서식환경을 옮긴 결과 변화된 삼투적 스트레스에 대응한 결과일 뿐 아니라 담수보다는 높은 염분농도를 갖는 해수환경의 감소된 감염회피와도 연관된 것이라고 보고된 바 있다(Solanki and Benjamin, 1982; Zacccone and Licata, 1982; Moon, 1995). 또한 서식수의 염분농도가 점액질과 glycoalyx의 주요소인 N-acetyl neuraminic acid에 영향을 미친다고 알려졌다(Olivereau and Lemoine, 1972). 본 연구결과 해수에 적응된 guppy에서 microridge 표면에 형성된 glycoalyx가 더 두껍고 조밀하게 나타났다. 이러한 glycoalyx는 높은 염도의 환경으로부터 상피로 투과되거나 분비되어야 할 일가이온들과 같은 여러 물질의 유입 및 유출과 관련되어 발달되었을 것으로 사료된다.

또한 본 연구에서 해수에 적응된 guppy 상피세포들에서 그 내부에 filamentous material을 갖고 있는 발달된 intercellular space와, 이 intercellular space로의 활발한 exocytosis가 관찰되었다.

이들 intercellular space 내부의 filamentous material은 glycoalyx 형성과 관련된 물질로 간주되며, intercellular space로의 활발한 exocytosis는 고장액의 서식환경으로 인해 이미 상피를 통해 진피로 들어온 이온들을 다시 체외로 내보내는 또다른 삼투조절기능에 속하

는 것이라고 생각된다. 그러므로 glycoalyx를 형성하는 물질과 intercellular space 내의 물질이 동일한 것인지에 대해서는 세포면역염색법을 이용하여 규명되어야 할 것이다.

결 론

담수산 guppy(*Poecilia reticulatus*)를 해수의 염분농도(32%)에 적응시킨 후 복부를 덮고 있는 비늘위 상피의 미세구조적 변화를 주사 및 투과전자현미경으로 비교 분석한 결과는 다음과 같다.

해수에 적응된 guppy 상피의 pavement cell은 담수산의 것보다 크기가 거의 두배로 증가하였으며 더 납작한 형태를 나타내었다. 또한 pavement cell의 표층부 microridge 표면에 형성된 glycoalyx도 해수에 적응된 것에서 더 두껍게 발달하였다. 비늘 위를 덮고 있는 상피를 구성하는 각 부위에 위치한 filament-containing cell들 사이에 세포간 연결구조인 desmosome들이 발달하였다. 기저부 filament-containing cell들의 측면세포막 사이에 형성된 intercellular space도 해수에 적응된 guppy에서 더 빈번하게 관찰되었다.

참 고 문 헌

- Brown, G.A. and S.R. Wellings, 1970. Electron microscopy of the skin of the teleost *Hippoglossoides elassodon*. J. Zellforsch. 103:149-169.
- Fahrenbach, W.H. and D.D. Knutson, 1975. Surface adaptations of the vertebrate epidermis to friction. J. Investigative Dermatol. 65:39-44.
- Fishelson, L., 1972. Histology and ultrastructure of the skin of *Lepidichthys lineatus*(Gobiesocidae: Teleostei). Marine Biol. 17:357-364.
- Foskett, J.K., C.D. Logsdon, T. Turner, T.E. Machen and H.A. Bern, 1981. Differentiation of the chloride extrusion mechanism during sea water adaptation of a teleost fish, the cichlid *Sarotherodon mossambicus*. J. Exp. Biol. 93: 209-224.
- Fromm, P.O., 1980. A review of some physiological and toxicological responses of freshwater fish to acid stress. Environ. Biol. Fish 5:79-93.

- Harris, J.E. and S. Hunt, 1975. The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the atlantic salmon (*Salmo trutta* L.) and the brown trout (*Salmo trutta* L.). I. General organization and filament-containing cells. *Cell Tiss. Res.* 157:553-565.
- Hawkes, J.W., 1974. The structure of fish skin. I. General organization. *Cell Tiss. Res.* 149:147-158.
- Henrickson, R.C. and A.G. Matoltsy, 1968. The fine structure of teleost epidermis. I. Introduction and filament-containing cells. *J. Ultrastruct. Res.* 21:194-212.
- Iger, Y., M. Abraham, A. Dotan, B. Fattal and E. Rahamim, 1988. Cellular responses in the skin of carp maintained in organically fertilized water. *J. Fish Biol.* 33:711-720.
- Karnaky, K.J.JR., L.B. Kinter, W.B. Kinter and C.E. Stirling, 1976. Teleost chloride cell. II. Autoradiographic localization of gill Na⁺, K⁺-ATPase in killifish (*Fundulus heteroclitus*) adapted to low and high salinity environments. *J. Cell Biol.* 70:157-177.
- Kim, H.H., Y.D. Chi, Y.W. Moon and W.S. Kang, 1988. Epidermal fine structure of the killifish, *Aplocheilichthys latipes*. *The New Medical J.* 31:45-54.
- Kim, H.H., Y.D. Chi, Y.W. Moon and W.S. Kang, 1993. Ultrastructural changes of chloride cells of the guppy (*Poecilia reticulatus*) gill according to the environmental salinity. *Korean J. Zool.* 36:264-275.
- Mattheij, J.A.M. and J.W.J. Stroband, 1971. The effects of osmotic experiments and prolactin on the mucous cells in the skin and the ionocytes in the gills of the teleost *Cichlasoma biocellatum*. *Z. Zellforsch.* 121:93-101.
- Merrilees, M.J., 1974. Epidermal fine structure of the teleost *Esox americanus* (Esocidae, Salmoniformes). *J. Ultrastruct. Res.* 47:272-283.
- Mittal, A.K., M. Whitear and S.K. Agarwal, 1980. Fine structure and histochemistry of the epidermis of the fish *Monopterus albus*. *J. Zool., Lond.* 191:107-125.
- Moon, Y.W., 1995. Ultrastructural and histochemical changes of mucous cells in the gill epithelium of the seawater-adapted guppy (*Poecilia reticulatus*). *Korean J. Zool.* 38(4):570-580.
- Olivereau, M. and A.M. Lemoine, 1972. Effects des variations de la salinité extrême sur la teneur en acide N-acétyl-neuraminique (ANAN) de la peau chez l'anguille. *J. Comp. Physiol.* 79:411-422.
- Pisam, M., G. Boeuf, P. Prunet and A. Rambourg, 1990. Ultrastructural features of mitochondria-rich cells in stenohaline freshwater and seawater fishes. *Amer. J. Anat.* 187:21-31.
- Schwerdtfeger, W.K., 1979. Morphometrical studies of the ultrastructure of the epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, following adaptation to seawater and treatment with prolactin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38:476-483.
- Schwerdtfeger, W.K. and J. Bereiter-Hahn, 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to sea water. *Cell Tiss. Res.* 191:463-471.
- Sire, J.Y. and J. Geraudie, 1984. Fine structure of regenerating scales and their associated cells in the cichlid *Hemichromis bimaculatus* (Gill). *Cell Tiss. Res.* 237:537-547.
- Solanki, T.G. and M. Benjamin, 1982. Changes in the mucous cells of gills, buccal cavity and epidermis of the nine-spined stickle-back, *Pungitius pungitius* L., introduced by transferring the fish to sea water. *J. Fish Biol.* 21:563-575.
- Waterman, R.E., 1970. Fine structure of scale development in the teleost, *Brachydanio rerio*. *Anat. Rec.* 168:361-380.
- Yamada, J., 1968. A study on the structure of surface cell layers in the epidermis of some teleosts. *Annot Zool. Jap.* 41:1-8.
- Zaccone, G., 1981. Studies on the structure and histochemistry of the epidermis in the air-breathing teleost *Mastacembelus armatus* (Mastacembelidae, Pisces). *Z. mikrosk.-ant. Forsch., Leipzig.* 95:809-826.
- Zaccone, G. and A. Licata, 1982. Histochemistry

and fine structure of the flame cells in the skin epidermis of the sea horse *Hippocampus ramulosus* Leach 1814(Teleostei: Syngnathidae). Arch. Biol.(Bruxelles) 93:249-266.

Zaccone, G., S. Fasulo, L. Ainis and A. Contini, 1989. Localization of calmodulin positive immunoreactivity in the surface epidermis of the brown trout, *Salmo trutta*. Histochem. 91:13-16.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1a.** A single scale isolated from the abdominal part. Arrows indicate the boundary between part the scale covered by the epidermis(star), and the anterior(A) and lateral(L) parts of the scale covered by the dermis. Bar=100 μm
- Figs. 1b-g.** Scanning electronmicrographs of the epidermis of scales.
- Fig. 1b.** The cross-sectional plane view of the scale. DM; dermis, E; epidermis, PC; pavement cell Bar=5 μm
- Figs. 1c-e.** High magnification of the part of the scale covered by the epidermis(star in the Fig. 1a). Notice the size of pavement cells in the seawater-(Fig. 1c) and freshwater-adapted(Figs. 1d, e) guppy scales. Arrowheads indicate the opening of mucous cells or the apical part of the chloride cell. Dark area(asterisk) represents depressed sites where apoptotic and necrotic cells were rejected. Arrows indicate newly generating pavement cells. CB; cell boundary Bars=10 μm
- Fig. 1f.** Higher magnification of the part of newly generating pavement cell(arrow in Fig. 1c). Bar=1 μm
- Fig. 1g.** Higher magnification of the apical pit of chloride cell(arrowheads in Fig. 1e). Bar=5 μm
- Figs. 3a-g.** Transmission electronmicrographs in various parts in the epidermis of the scale from the freshwater-adapted guppy. Bars=0.5 μm
- Fig. 3a.** The filament-containing cell in the surface layer(so-called pavement cell). The microridge(arrow) is covered by glycocalyx. D; desmosome, G; Golgi complex, M; mitochondria, N; nucleus, RER; rough endoplasmic reticulum
- Fig. 3b.** New pavement cell(arrow) emerging toward the surface layer is shown under the desquamating old pavement cell(PC). Notice the desmosomes(D) between adjacent filament-containing cells.
- Fig. 3c.** The filament-containing cell in the mid-layer of epidermis. Arrowheads indicate desmosomes. CF; cytoplasmic filament, M; mitochondria, N; nucleus, RER; rough endoplasmic reticulum
- Fig. 3d.** A part of the mucous cell in the mid-layer of epidermis. G; Golgi complex, M; mitochondria, MD; mucous droplet, N; nucleus; No; nucleolus, RER; rough endoplasmic reticulum
- Fig. 3e.** The cytoplasm of the chloride cell. M; mitochondria, RER; rough endoplasmic reticulum, T; tubular system
- Fig. 3f.** Filament-containing cells in the basal layer of epidermis. The lateral cell membrane have extensive interdigitation(arrow) between adjacent cells. BM; basement membrane, D; desmosome, CF; cytoplasmic filament, M; mitochondria, N; nucleus, RER; rough endoplasmic reticulum
- Fig. 3g.** The basal part of the epidermis. Endocytic vesicles(arrowheads) dispersed in the cytoplasm. Arrow indicates endocytosis. BM; basement membrane
- Figs. 4a-f.** Transmission electronmicrographs of various parts in the epidermis of the scale from seawater-adapted guppy. Bars=0.5 μm
- Figs. 4a, b.** The parts of the pavement cells. These cells are relatively flattened and their organelles are less distinct. The developed fuzz-like glycocalyx(Gc) is shown at the surface. Arrow in Fig. 4b indicates two cytoplasmic fold forming a ridge at junction of two cells. A zipper-like arrangement of desmosomes(arrowheads) is seen. BM; basement membrane, CF; cytoplasmic filament
- Fig. 4c.** The apoptotic pavement cell(arrow).
- Fig. 4d.** The chloride cell. M; mitochondria, AP; Apical pit
- Figs. 4e, f.** The cytoplasm of the filament-containing cell in the basal layer of epidermis. Arrowheads indicate exocytosis. Coated vesicles(arrows) were observed in the cytoplasm. BM; basement membrane, IS; intercellular space

