한국전자현미경학회지 제 30 권 제 4 호 2000
Korean J. Electron Microscopy 30(4), 321~326(2000)

# 경골어류 잉어과 피라미의 수정란 난막 미세구조

등 영 건*, 김 동 희, 류 동 석[1]
연세대학교 원주의과대학 기초과학교실 · 연세대학교 기초의학연구소
[1]청주대학교 생물학과

# Ultrastructure of the Fertilized Egg Envelope from Pale Chub, Cyprinidae, Teleost

Young Kun Deung*, Dong Heui Kim and Dong Suck Reu[1]
Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science,
Wonju College of Medicine, Yonsei Univ. [1]Dept. of Biology, Chongju Univ.
(Received August 24, 2000)

## ABSTRACT

The ultrastructure of the fertilized egg envelope from pale chub, *Zacco platypus* belong to Cyprinidae was studied using scanning and transmission electron microscopes.

The fertilized egg was an adhesive type, have a single micropyle resembling the pathway of sperm in the area of the animal pole. The micropyle was surrounded by 5 peaks of hill. An outer surface of the fertilized egg envelope was arranged by pore canals irregularly. In section of fertilized egg, the egg envelope consistes of three layers, an outer adhesive layer, a middle electron dense layer and an inner lamellae layer consisting of 9 layers. These ultrastructural characters of fertilized egg envelope from pale chub can be utilized in taxonomy of teleost.

**Key words** : Fish, Fertilized egg envelope, Pale chub, Ultrastructure

## 서 론

어류의 수정란 난막 미세구조는 시클리드과 angelfish와 잉어과 zebrafish (Kim et al., 1993), 시클리드과 golden severum, convic cichlid 및 discus (Deung et al., 1997), 자리돔과 tomato clown anemonefish (Kim et al., 1998), 잉어과 leopard danio, cherry barb 및 white cloud mountain fish (Kim et al., 1998a), 큰가시고기과 three-spine stickleback (Deung et al., 1999) 및 등목어과 three-spot gourami, pearl gourami 및 marble gourami (Kim et al., 1999)에서 보고 된 바 있으며, 이들 난막의 구조는 같은 과(family)에서 수정란의 외형은 유사하나 미세구조는 종에 따라 서로 다른 것

* Correspondence should be addressed to Dr. Young Kun Deung, Dept. of Basic Science and Institute of Basic Medical Science, Wonju College of Medicine, Yonsei Univ., 162 Ilsan-Dong, Wonju, Kangwon-Do, 220-701 Korea. Ph.: 033-732-0351, FAX: 033-732-4446, E-mail: youngkun@wonju.yonsei.ac.kr
Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

으로 알려져 있다. 이런 난막 구조는 어류가 서식하고 있는 수환경의 물리, 화학적 특성의 차이, 계통분류학적 위치 및 생태학적 군에 따라서 다양하다(Ivankov & Kurdyayeva, 1973; Laale, 1980).

난막의 미세구조는 국내에 서식하는 어종의 경우 일부 어종에서 연구된 바 있으나, 국내어류의 수정란 난막 구조는 분류체계에 따른 체계화가 전혀 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구는 한국어류의 수정란 난막 미세구조를 분류체계에 따른 체계화 작업의 일환으로 국내에서 가장 출현빈도가 높은 피라미를 실험재료로 사용하여 난문의 미세구조, 난막의 표면 및 단면구조를 밝힘으로써 계통분류학적 기초자료를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

1999년과 2000년 6월부터 8월 사이에 강원도 원주시 흥업면 매지리 연세대학교 원주캠퍼스 호수에서 피라미(*Zacco platypus*)를 채집하여 실험재료로 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 수정란의 채란

포란된 암컷의 복부를 손가락으로 압력을 가하여 난소로부터 빠져 나온 성숙란을 petri dish에 100개씩 넣고, 적출한 수컷의 정소를 막자사발에 넣어 분쇄한 후 성숙란과 혼합하여 인공수정을 시켜 수정란을 얻었다.

#### 2) 조직처리

(1) 주사전자현미경 시료

인공수정 실시 후 위란강이 형성되어 배반형성이 시작될 때 수정란을 선별한 후 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 4시간 전고정 및 2% osmium tetroxide로 90분간 후고정하여 통상적인 주사전자현미경 처리법에 따라 처리한 후 난문의 외형과 난막의 표면구조를 JSM-6300형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

(2) 투과전자현미경 시료

수정란을 주사전자현미경 처리법에 따라 고정 및 탈수하여, 통상적인 투과전자현미경 시료처리법에 따라 처리한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM-1200EX II형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 난문의 형태

동물극 쪽에 정자의 통로로 생각되는 한 개의 난문이 관찰되었고 이 난문은 5개의 돌출물에 의해 둘러싸여 있었다(Fig. 1). 난문 주위에 난막이 융기하여 형성된 주름이 난문을 중심으로 방사형으로 존재하는 카라신과 어류의 경우(Kim et al., 1996)는 제외하고 대부분의 어류에서는 난문 주위에 구조물이 있는 경우는 거의 없다. 이런 난문 주위의 돌출물은 아주 특이한 구조물로써 종을 구분하는데 매우 중요한 형태학적 형질로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. 난문의 외형은 각진 원형이었지만(Fig. 2) 난문 안쪽은 완전한 원형으로 테두리가 함몰된 반지 형태였다(Fig. 3). 난문의 안쪽 형태는 잉어과의 cherry barb와 매우 유사하였고 함몰된 반지형태의 폭이 cherry barb보다 좁았다(Kim et al., 1998a). 일반적으로 경골어류는 정자의 두부에 첨체를 보유하고 있지 않기 때문에 난막에 정자의 통로인 한 개의 난문을 가지고 있으나 난문 수는 어종에 따라서 여러 개인 경우(Cherr & Clark, 1984), 두 개인 경우(Yao et al., 1995) 및 난문이 없는 경우 등 매우 다양하다(Mattei & Thiaw, 1993).

### 2. 난막의 표면형태

난막 표면은 부착성이었으며 부착사나 부속구조물은 관찰되지 않았고, 직경 0.3~0.5 μm 정도인 pore canal들이 불규칙적으로 분포하고 있었다(Fig. 4). 등목어과의 three-spot gourami, pearl gourami 및 marble gourami (Kim et al., 1999), 카라신과에 속하는 black tetra (Kim et al., 1996) 및 큰가시고기에서도(Deung et al., 1999) 피라미의 난막 표면처럼 수많은 pore canal들이 분포하고 있는 것으로 알려져 있는데, 이런 구

조물은 난자형성과정 중에 미세융모가 관통되어 있는 상태에서 위란강이 형성될 때 난황막과 난막이 서로 분리되면서 만들어진 것으로 생각된다. 어류에서 난막 표면에 분포하는 부속구조물의 형태는 zebrafish와 큰가시고기의 경우 버섯모양(Kim et al., 1993), 시클리드과 어류의 경우는 망상형(Deung et al., 1997), 흰동가리돔의 경우는 섬유상 다발형태(Kim et al., 1998b) 등 다양하며 수정란은 부속구조물이 있는 경우 대부분 부착성이지만 zebrafish처럼 비부착성인 경우도 있고, 큰가시고기처럼 수정란끼리는 부착성이지만 다른 바위, 돌, 수초와 같은 산란상에는 비부착성인 경우도 있다. 또한 같은 과라고 하더라도 종에 따라서, 같은 종이라고 해도 분포 지역에 따라 형태학적으로 차이를 보이기도 한다(Brummett & Dumont, 1981). 피라미의 경우처럼 부착성 구조물이 없이 난막 자체가 부착성질을 가지는 경우는 점액성의 뮤신과 유사한 물질 또는 젤라틴 성분을 분비하기 때문인 것으로 보고된 바 있다(Laale, 1980).

### 3. 난막의 내부형태

난막은 3층으로 부착성인 전자밀도가 낮은 외층, 전자밀도가 높은 중층 및 9층의 층상구조를 이룬 내층으로 구성되어 있었다(Fig. 5). 지금까지 실험해온 다른 종들과는 달리 내층의 층상구조는 바깥쪽은 좁고, 안쪽은 넓은 층상구조를 가지고 있었는데 이것은 외부 충격으로부터 더욱 효과적으로 발생중인 배(embryo)를 보호할 수 있을 것으로 생각된다. 난막의 단면 구조는 종에 따라 다양하며 같은 과일수록 서로 유사한 것으로 알려져 있으나 등목어과 어류의 경우는 모두 같은 형태를 가지고 있어 과를 대표하는 형태학적인 특성을 가지고 있다(Kim et al., 1999). 수정란에서 난막의 두께는 일반적으로 침성란보다는 부성란이, 난태생어류보다는 난생어류가, 친어가 알을 보호하지 않는 경우 또한, 물의 흐름이 더 빠른 곳에 서식하는 종에서 더 두꺼운 것으로 알려져 있는데, 광량, 수압 및 파도의 강약 등 외부환경 요인 뿐만 아니라 산란상에 따라서도 다양한 구조를 보이며(Ivankov & Kurdyayeva, 1973), 종에 따라서 산란환경 및 습성이 같은데도 불구하고 난막 구조는 서로 다른 경우도 있다(Guraya, 1986).

이상과 같이 피라미의 수정란 난막에서 관찰된 5개의 돌출물로 둘러싸인 난문, pore canal이 산재되어 있는 표면구조 및 3층으로 구성되어 있는 단면구조는 피라미만이 가지는 종을 대표하는 고유 형태학적 형질이며, 종을 분류하는데 중요한 분류형질로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 수정란 난막의 미세구조에 대한 연구는 주로 양어가 쉽고 번식이 쉬운 몇몇 종에 한정적으로 집중되어 있으며, 특히 한국산 어류는 번식주기가 1년이고, 실험실 내에서 양어와 번식이 어렵기 때문에 수정란 난막의 미세구조에 대한 연구는 접근하기 매우 어려운 실정이므로 앞으로 다른 한국산 어류에 대한 분류학적 체계에 따른 수정란 난막의 형태학적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

Brummett AR, Dumont JN: A comparison of chorions from eggs of northern and southern populations of *Fundulus heteroclitus*. Copeia 3 : 607-614, 1981.

Cherr GN, Clark WH JR: An acrosome reaction in sperm from the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. J Exp Zool 232 : 129-139, 1984.

Deung YK, Reu DS, Kim DH: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes in golden severum, convic cichlid and discus, Cichlidae, teleost. Korean J Electron Microscopy 27(4) : 417-432, 1997 (Korean).

Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of gametes in the Three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*. Korean J. Electron Microscopy 29(2) : 177-187, 1999 (Korean).

Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger 18 : 111-147, 1986.

Ivankov VN, Kurdyayeva VP: Systematic differences and the ecological importance of the membranes in fish eggs. J Ichthyol 13 : 864-873, 1973.

Kim DH, Reu DS, Kim WJ, Deung YK: A comparative study on the ultrastructures of the egg envelope in fertilized eggs of angelfish (*Pterophyllum eimekei*) and zebrafish (*Brachydanio rerio*). Korean J Electron Microscopy 23(3) : 115-128, 1993 (Korean).

Kim DH, Reu DS, Deung YK: A comparative study on the ultrastructure 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, 1998a (Korean).

Kim DH, Reu DS, Deung YK: Ultrastructure of fertilized egg envelop in the tomato clown anemonefish, *Amphiprion freatus* (Pomacentridae: Marine teleostei). Korean J. Electron Microscopy 28(3) : 273-282, 1998b (Korean).

Kim DH, Deung YK, Kim WJ, Reu DS, Kang SJ: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes from three-spot gourami, pearl gourami and marble gourami, belontiidae, teleost. Korean J. Electron Microscopy 29(3) : 343-351, 1999 (Korean).

Laale HW: The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes: a review. Copeia 2 : 210-226, 1980.

*Mattei X, Thiaw OT*: Acrosome-like structures in the spermatozoa of teleost fishes. Can J Zool 71 : 883-888, 1993.

Yao Z, Emerson CJ, Crim LW: Ultrastructure of the spermatozoa and eggs of the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.), an internally fertilizing marine fish. Mol Reprod Dev 42 : 58-64, 1995.

## <국문초록>

경골어류, 잉어과에 속하는 피라미 수정란을 실험재료로 사용하여 난문의 미세구조, 난막의 표면 및 단면구조를 밝힘으로써 계통분류학적 기초자료를 제시하고자 주사전자현미경과 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

피라미의 수정란은 부착성란으로 동물극 쪽에 수정을 위한 정자의 통로로 생각되는 한 개의 난문이 관찰되었고 이 난문은 5개의 돌출물에 의해 둘러싸여 있었다. 난막의 표면은 부속구조물들은 관찰되지 않았고, 수많은 pore canal들이 분포하고 있었으며 난막은 모두 3층으로 부착성인 전자밀도가 낮은 외층, 전자밀도가 높은 중층 및 9층의 층상구조를 이룬 내층으로 구성되어 있었다.

이상과 같은 피라미 수정란 난막의 미세구조적 특징은 피라미의 수정란이 가지는 독특한 형태학적 형질로서 종을 분류하는데 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

## FIGURE LEGENDS

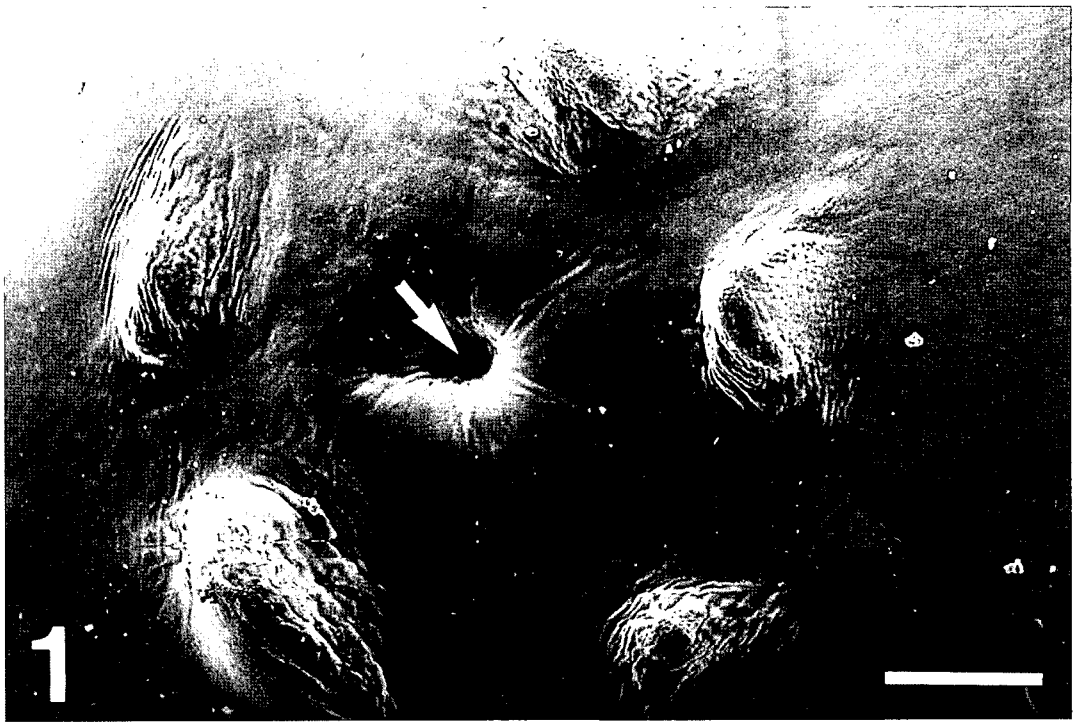
**Fig. 1.** A scanning electron micrograph of micropyle (arrow) in the fertilized egg envelope. The micropyle is surrounded by 5 peaks of hill (scale bar = 50 μm).

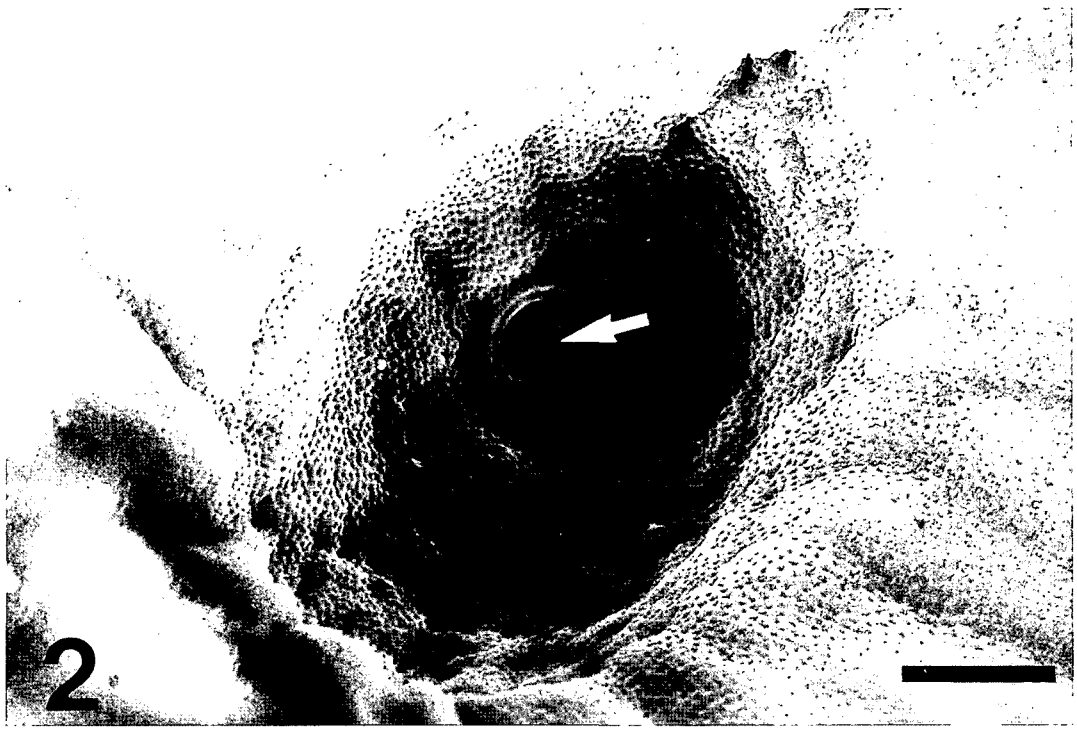
**Fig. 2.** A magnified scanning electron micrograph of micropyle (arrow) (scale bar = 5 μm).

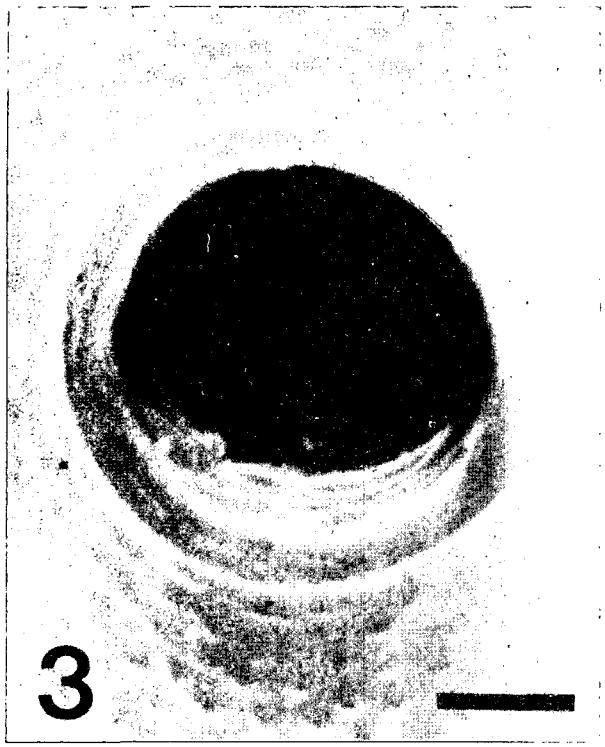
**Fig. 3.** A scanning electron micrograph of inner part of the micropyle (scale bar = 1 μm).

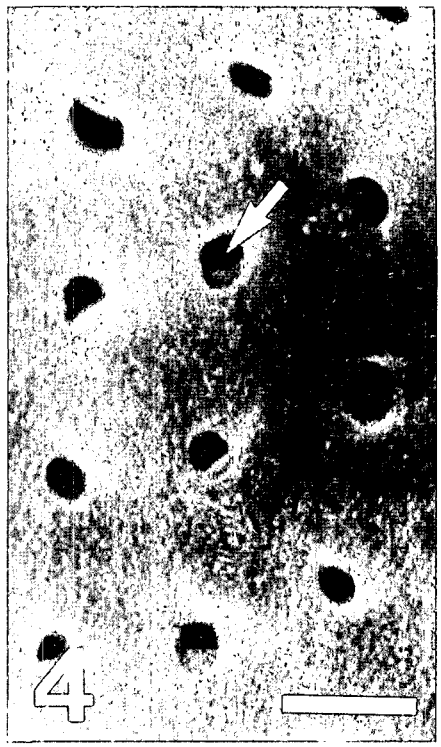
**Fig. 4.** A scanning electron micrograph of outer surface in the fertilized egg envelope. The pores (arrow) are arranged on the outer surface (scale bar = 1 μm).

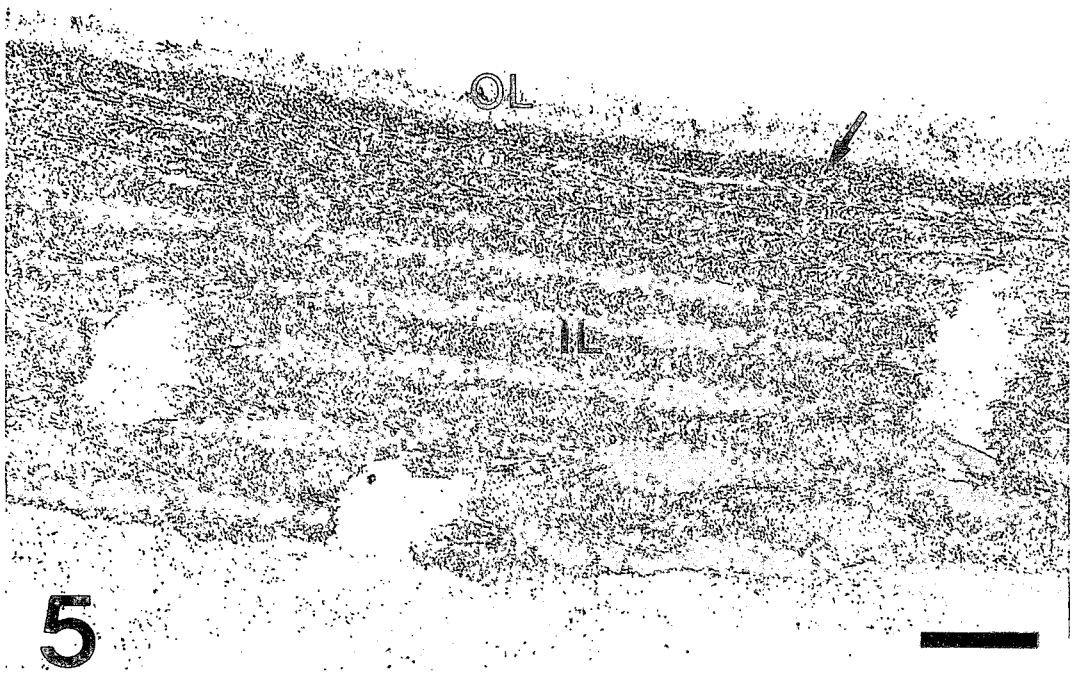
**Fig. 5.** The section of the fertilized egg envelope. The egg envelope consists of three layers, an outer adhesive layer (OL), a middle electron dense layer (arrow) and an inner lamellae layer (IL) consisting of 9 layers (bar = 500 nm).


1


2


3


4


OL
IL
5