

## 경골어류 카라신과 glow-light tetra의 난자형성과정

이규재<sup>1,2</sup>, 장병수<sup>3</sup>, 등영건<sup>1,4</sup>, 김동희<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실, <sup>4</sup>기초의학연구소, <sup>2</sup>평생건강사업단  
<sup>3</sup>한서대학교 보건학부 피부미용학과

## The Oogenesis of Glow-light Tetra, Characidae, Teleost

Kyu-Jae Lee<sup>1,2</sup>, Byung-Soo Chang<sup>3</sup>, Yung-Chien Teng<sup>1,4</sup> and Dong-Heui Kim<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Medical Biology, <sup>4</sup>Institute of Basic Medical Science, and  
<sup>2</sup>Institute of Lifelong Health, Wonju College of Medicine, Yonsei University,  
Wonju, Gangwon 220-701, Korea

<sup>3</sup>Department of Cosmetology, Hanseo University, Seosan, Chungnam 356-706, Korea

(Received October 21, 2008; Accepted December 16, 2008)

### ABSTRACT

Glow-light tetra, *Hemigrammus erythrozonus* is a teleost belonging to Characidae. The natural habitate of this fish is the wild in the Essequibo river, Guyana and South America. The oogenesis of glow-light tetra was investigated by light microscopy to compare with those of other families.

A pair of ovary was located between swim bladder and intestines. The ovary was of white color and ellipsoidal shape with the major axis 11 mm and the minor axis 4 mm.

Cytoplasm of oogonia was basophilic and many nucleoli were located at inside of nuclear membrane. In primary oocytes, yolk vesicles were distributed only in the marginal area and egg envelope was not formed on the outside of an egg. In secondary oocytes, the egg envelope was formed and yolk vesicles in the cytoplasm were increased than the earlier stage. The amount of basophilic substance was decreased. In case of matured egg, thickness of egg envelope and size of egg were increased, basophilic substance was distributed in only around the egg envelope. The yolk vesicles were changed to yolk mass in accordance with development.

In conclusion, the oogenesis of glow-light tetra, *Hemigrammus erythrozonus* was characterized by the increase in cell size, the formation and accumulation of yolk, and the decrease of basophilia a in the cytoplasm. The oogenesis of glow-light tetra seems to share common patterns in Characidae, teleost and have a similar pattern with other teleost.

**Keywords :** *Hemigrammus erythrozonus*, Oogenesis, Egg, Teleost

### 서 론

Glow-light tetra (*Hemigrammus erythrozonus*)는 조기어강

(Actinopterygii), 카라신목(Characiformes), 카라신과(Characidae)에 속하는 담수산 경골어류로 남아메리카, 기아나 및 에세퀴보강(Essequibo river)에 분포한다. 체장은 4~5 cm 정도이며 수명은 2~4년 정도이다. 어류의 난소는 한 쌍으로 체

\* Correspondence should be addressed to Dr. Dong-Heui Kim, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0353, Fax: (033) 732-4446, E-mail: fish7963@yonsei.ac.kr

강상부의 좌우에 위치하며 난소내의 난원세포(oogonia)는 체세포 분열을 통하여 제1난모세포가 된다. 제1난모세포는 난황이 없고 난황포(yolk vesicle)가 세포질 가장자리에 형성되어 다당류를 축적하는 것으로 알려져 있으며(Lee et al., 1985), 제2감수분열과정 중에 난막 외측의 여포세포에서 합성된 물질이 미세용모를 통하여 세포질 안으로 들어오는 난황형성과정(vitellogenesis)이 이루어지고 후에 성숙란이 형성된 후 세포분열은 멈추고 산란 단계에 이르게 된다. 어류의 난자형성과정은 연구자에 따라서 산란전시기, 초기산란시기 및 산란후시기 3단계(Hatakeyama & Akiyama, 2007) 또는 휴지기, 준비시기, 산란전시기, 산란시기 및 산란 후 퇴행시기로 5단계(Singh et al., 2005)로 나누기도 한다. 경골어류의 난자형성과정은 포유류와 달리 수환경이라는 점에서 많은 다양성을 가지고 있기 때문에 난자의 형태, 환경요인, 산란방식 및 생식행동 등에서 매우 다양하다(Jalabert, 2005).

경골어류의 난자형성과정은 실험실내에서 어류의 양어, 암수구별 및 산란이 매우 어렵기 때문에 양어 및 산란이 쉬운 몇몇 어종 또는 산업적 유용성에 따라서 식용어류에서 집중적으로 연구되어 있는 실정이다. 카라신과에 속하는 어류에 대한 연구는 *Hemigrammus ocellifer*, *Gymnocorymbus ternetzi*, *Hemigrammus caudovittatus* (Kim et al., 1996) 및 *Hyphessobrycon serpae* (Kim et al., 2005) 등 수정란 난막의 미세구조에 대한 연구가 대부분이며 난자형성과정에 대한 연구는 확인되지 못했다. 따라서 본 연구는 광학현미경을 이용하여 년 중 번식이 가능하고 산란주기가 짧은 번식특성을 가지고 있는 카라신과에 속하는 glow-light tetra의 난자형성과정을 밝히고 이미 알려진 다른 종의 난자형성과정의 유사점 또는 차이점이 있는지를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

2007년 4월에 강원도 원주시 산호수족관으로부터 glow-light tetra (*Hemigrammus erythrozonus*)를 구입하여 8개월간 기초사육한 후 번식기에 들어간 뒷지느러미에 카라신 고리(Characin hook)가 없는 포란상태의 암컷을 선별하여 실험 재료로 사용하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 사육조건

사육에 사용된 물은 증류수에 Fritz-guard (Fritz Co. Ltd., USA)로 염소를 제거한 수돗물을 혼합하여 총경도 10 ppm 이하, 수온  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  및 pH  $6.0 \pm 0.5$ 를 유지하였다(Bailey & Sandford, 1998). 물의 정화는 스폰지 여과기(Brilliant sponge

filter™, Tetra Co. Ltd., Germany)를 이용한 생물학적 여과(biological filtration)법을 이용하였으며, 수조 바닥에 쌓인 배설물은 3일 간격으로 1/4씩 환수시켜 제거하였다. 낮 환경은 하루 10시간씩 유지시켰고, 먹이는 냉동장구벌레(Blood Worms™, Hikari Sales USA, Inc., USA)와 테트라민(Tetra Min™, Tetra Co., Ltd., Germany)을 각각 오전 9시와 오후 5시에 하루 2번씩 급여하였다.

#### 2) 난소의 적출 및 조직처리

성숙한 glow-light tetra의 암컷을 해부하여 난소의 외부형태를 관찰하고 난소를 적출하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 10% formaldehyde로  $4^\circ\text{C}$ 에서 24시간 고정한 후 흐르는 물로 12시간 세척하고 ethanol 농도 상승순으로 탈수한 다음에 xylene으로 치환시킨 후 paraffin으로 포매하여 2~3  $\mu\text{m}$  두께로 자른 후 hematoxylin과 eosin으로 이중 염색하여 광학현미경으로 발생분화시기에 따른 난자형성과정을 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

Glow-light tetra의 난소는 한 쌍으로 흰색의 장타원형(장축 11 mm, 단축 4 mm)이었으며 부레와 창자사이에 위치하고 있었고(Fig. 1) 난소 내에는 난원세포, 제1난모세포, 제2난모세포 및 난세포 등 다양한 분화단계의 생식세포들이 분포하고 있었다. 열대지역에 서식하는 어류이기 때문에 산란주기가 짧아 연속적인 번식을 위해서는 연속적인 난자형성과정이 필요하며 본 어종의 경우 산란주기는 28일 정도였다. 그러나 폴란드의 멸종위기에 처한 *Vimba vimba*의 경우 초기난황형성과정은 부화 후 6개월쯤 시작되어 3년째까지 진행되며 4년 정도는 되어야 성숙하는 것으로 알려져 있다(Hliwa et al., 2003).

난원세포의 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 파란색으로 염색되었고 핵 내에는 여러 개의 구형인 인들이 분포하고 있었다(Fig. 2). 초기시기의 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리에 국한적으로 난황포(yolk vesicle)들이 형성되기 시작하였으며 난막은 형성되기 시작하였으나 뚜렷하지는 않았다(Fig. 3). 제1난모세포가 발달함에 따라서 난황포는 바깥 가장자리에서 안쪽으로 증식되어 증가하였고 핵 주위는 호염기성이었으며 매우 얇은 난막이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 제2난모세포의 세포질은 호염기성에서 호산성으로 염색된 난황포가 점점 증가하여 제1난모세포에 비하여 완전히 다른 성상을 띠어 염기성 세포질은 점점 감소하는 경향을 보였다. 또한 뚜렷한 난막이 관찰되었다(Fig. 5). 발생이 진행됨에 따라서 성숙란이 되었을 때 난막의 두께와 난자의 크기는 더욱 증가하였고 난황포는 더욱 발달하여 호산성으로 염색된 난황괴(yolk mass)

를 이루었다(Fig. 6).

카라신과에 속하는 어류인 glow-light tetra의 난자형성과정은 지금까지 알려진 다른 과(Family)의 경골어류와 다를 것으로 생각했으나 본 실험결과는 잉어과(Cyprinidae)에 속하는 참붕어와 피라미의 경우와 매우 유사하였다(Jang et al., 1995; Kim et al., 2007). 난자형성과정 중 난막의 두께는 피라미의 경우 발생이 진행됨에 따라서 난막의 두께는 얇아지는 것으로 보고된 바 있다(Jang et al., 1995). 남극의 0°C 이하에 서식하는 Notothenioid에 속하는 9종의 난자형성과정에 대한 연구에 따르면 수환경조건은 동일하지만 중간 난자형성과정은 서로 다른 것으로 보고된 바 있다(Motta et al., 2005). 어류의 난자형성과정은 수온, 광주기, 광도, 수질 등 환경요인에 의해 결정되는데 이중 온도상승과 광량의 증가가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Singh et al., 2005; Hatakeyama & Akiyama, 2007).

경골어류의 난황형성과정은 성호르몬의 자극에 의한 간에서 특수한 glycolipo-phosphoprotein인 vitellogenin의 합성과정을 의미하며 여포세포에서 이루어지는 estradiol 합성과 vitellogenic follicles에 의한 vitellogenin의 흡수는 모두 여포자극호르몬(FSH)에 의해서 조절되는 것으로 생각된다. 난세포의 성숙은 황체형성호르몬(LH) 조절 하에서 여포세포에서 합성되는 MIS (maturation inducing steroid) 또는 progesterin에 의해서 직접적으로 시작되는 것으로 알려져 있다(Jalabert, 2005).

본 실험의 경우 난황포는 나중에 형성되는데 비하여 온대지역에 서식하는 담수 경골어류인 *Labeo rohita*는 휴지 및 준비시기에 인과 염색질이 존재하며 이 시기에 이미 난황포가 관찰되고 번식기가 끝나면 퇴행시기를 거쳐 휴지기로 되돌아가는 것으로 보고된 바 있다(Singh et al., 2005). 또한 온대지역에 서식하는 Florida gar, *Lepisosteus platyrhincus*의 경우 산란시기는 봄이고, 여름은 번식중지시기이다. 이 종은 가을에 성호르몬이 증가하여 난자형성과정과 난황형성과정이 활발하게 진행되는데(Orlando et al., 2007) 일 년에 한 번 산란하는 종은 대부분 이런 유사한 난자형성과정을 갖는 것으로 생각된다.

지금까지 조직학적으로 난자형성과정에서 관찰되는 구조물들의 성분에 대하여 많이 알려져 있지 않으나 심해경골어류인 *Hoplostethus mediterraneus*의 난자형성과정을 면역염색법을 이용한 연구에 따르면 난황낭 속에는 주로 당단백질들을 포함하고 있으며 초기에는 alpha-D-glucose와 alpha-D-mannose, 후기에는 galactose와 beta-N-acetyl glucosamine이 분포하고 세포질 주변부에 분포하는 nNOS가 산란과 배우체형성과정(gametogenesis) 조절에 관여하는 것으로 생각되고 있다(Calabro et al., 2008).

이상과 같이 glow-light tetra의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 난황낭의 축적, 염기성 물질의 감소, 난막발달 및

두께의 증가로 요약될 수 있으며 일반적인 다른 과의 담수 경골어류와 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다. 본 연구는 광학현미경상의 조직학적 관찰이므로 앞으로 정확한 난자형성과정을 단계적으로 확인하기 위해서는 투과전자현미경을 이용한 미세구조적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Bailey M, Sandford G: The new guide to aquarium fish, a comprehensive and authoritative guide to tropical freshwater, brackish, and marine fishes, Hermes House, pp. 62-63, 1998.
- Calabro C, Albanese MP, Bertuccio C, Licata A, Gentile N: Histological, histochemical and immunohistochemical study on the growing oocytes of the abyssal teleost *Hoplostethus mediterraneus* (V). *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 46(1) : 97-102, 2008.
- Hatakeyama R, Akiyama N: Annual reproductive cycle of a bitterling, *Tanakia tanago*, reared in an outdoor tank. *Zoolog Sci* 24(6) : 614-622, 2007.
- Hliwa P, Demska-Zakeš K, Martyniak A, Król J: Oogenesis in *Vimba vimba* (L. 1758) from Drawieński National Park (NW Poland). *Folia Biol (Krakow)* 51(3-4) : 165-170, 2003.
- Jalabert B: Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reprod Nutr Dev* 45 : 261-279, 2005.
- Jang SJ, Kim DH, Reu DS, Deung YK: A study on the oogenesis of *Pale chub (Zacco platypus)*, *Korean J Electron Microscopy* 25(3) : 63-74, 1995. (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: Ultrastructure of the fertilized egg envelope from *Hyphessobrycon serpae*, Characidae, Teleost, *Korean J Electron Microscopy* 35(2) : 89-96, 2005. (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)
- Lee TY, Kang YJ, Lee BD: Reproduction and population dynamics of marbled sole *Limanda yokohamae*, 1. Reproduction. *Bull Korean Fish Soc* 18(3) : 253-261, 1985. (Korean)
- Motta CM, Capriglione T, Frezza V, Simoniello P, Tammaro S, Filosa S: Oogenesis at subzero temperatures: a comparative study of the oocyte morphology in nine species of Notothenioids. *Tissue Cell* 37(3) : 233-240, 2005.
- Orlando EF, Binczik GA, Denslow ND, Guillette LJ Jr: Reproductive seasonality of the female Florida gar, *Lepisosteus platyrhincus*. *Gen Comp Endocrinol* 151(3) : 318-324, 2007.
- Singh AK, Kumar A, Singh IJ, Ram RN: Seasonal ovarian cycle in

freshwater teleost, *Labeo rohita* (Ham.) in Tarai region of Uttaranchal. J Environ Biol 26(3) : 557-565, 2005.

### < 국문초록 >

조기어강 (Actinopterygii), 카라신목 (Characiformes), 카라신과 (Characidae)에 속하는 담수산 경골어류에 속하는 Glow-light tetra (*Hemigrammus erythrozonus*)의 난자형성과정을 다른 어류와의 차이점을 확인하기 위하여 광학현미경으로 관찰한 결과 난원세포의 세포질은 호염기성이었고 핵 내에 다수의 이형염색질이 분포하고 있었다. 제1난모세포의 경우 난황포가 단지 난세

포 가장자리에만 배열되어 있었고 난막의 형성은 관찰되지 않았다. 제2난모세포에서는 난막이 형성되었고 제1난모세포에 비해서 난황포가 점점 핵 쪽으로 증식된 경향을 보였다. 발생이 진행됨에 따라서 호염기성 물질들은 점점 감소하는 경향을 보였고 후에 난막 주위에만 국한적으로 분포하였으며, 난막의 두께와 난자의 크기는 점점 증가되었다. 이상과 같이 glow-light tetra의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 난황낭의 축적, 염기성 물질의 감소, 난막 발달 및 두께의 증가로 요약될 수 있으며 일반적인 다른 과의 담수경골어류와 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다. 본 연구는 광학현미경상의 조직학적 결과이므로 앞으로 정확한 난자형성과정을 단계적으로 확인하기 위한 투과전자현미경을 이용한 미세구조적 연구가 필요하다.

## FIGURE LEGENDS

**Fig. 1.** The photograph of glow-light tetra. O: Ovary.

**Fig. 2.** A light micrograph of an oogonium in ovary ( $\times 200$ ). N: Nucleus, C: Cytoplasm, Arrow: Nucleolus. The cytoplasm was basophilic.

**Fig. 3.** Primary oocyte ( $\times 100$ ). N: Nucleus, Arrow: Yolk vesicle. Egg envelope was not developed on egg outside. Yolk vesicle was distributed in marginal area only.

**Fig. 4.** Secondary oocyte in early stage ( $\times 40$ ). N: Nucleus, Yv: Yolk vesicle.

**Fig. 5.** A light micrograph of a secondary oocyte ( $\times 40$ ). N: Nucleus, Yv: Yolk vesicle. The yolk vesicle was increased than that of early stage, and egg envelope (arrow) was more thicker than that of early stage.

**Fig. 6.** A light micrograph of matured egg ( $\times 40$ ). Arrow: Egg envelope, Ym: Yolk mass.



