

## 경골어류 등목어과 Three spot gourami의 난자형성과정

장병수, 정한석<sup>1</sup>, 주경복<sup>2</sup>, 김동희<sup>3,\*</sup>

한서대학교 보건학부 피부미용학과, <sup>1</sup>건강증진대학원 수안재활복지학과,  
<sup>2</sup>초당대학교 안경광학과, <sup>3</sup>연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실

## The Oogenesis of Three Spot Gourami, Belontiidae, Teleostei

Byung-Soo Chang, Han-Suk Jung<sup>1</sup>, Kyung-Bok Joo<sup>2</sup>, Dong-Heui Kim<sup>3,\*</sup>

Department of Cosmetology and <sup>1</sup>Department of Chiropractic Rehabilitation,  
Graduate School of Health Promotion, Hanseo University, Seosan, Chungnam 356-706, Korea

<sup>2</sup>Department of Ophthalmic Optics, Chodang University, Muan, Jeonnam 534-701, Korea

<sup>3</sup>Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University,  
Wonju, Gangwon 220-701, Korea

(Received August 3, 2011; Revised September 22, 2011; Accepted September 23, 2011)

### ABSTRACT

Three spot gourami (*Trichogaster trichopterus* Pallas, 1770) is a teleost belonging to Belontiidae. The oogenesis of three spot gourami was investigated by light microscope. The ovary was of light peach color and ellipsoidal shape with the major axis 2 cm and the minor axis 1 cm. Cytoplasm of oogonia was basophilic and many nucleoli were located at inside of nuclear membrane. In primary oocyte, lipid droplets were distributed only in the marginal area first, than at nuclear envelope near. In secondary oocyte, the egg envelope was formed and yolk vesicles was formed in the marginal area. The basophilic substance of cytoplasm was changed to acidic. In case of matured egg, thickness of egg envelope and size of egg were increased. The yolk vesicles were changed to yolk mass in accordance with development. The fertilized eggs were the colorless, transparent, spherical, adhesive and pelagic type. A large oil droplet was located in vitelline membrane of the fertilized egg.

In conclusion, the oogenesis of three spot gourami was characterized by the increase in cell size, the formations of lipid droplets and yolk, the decrease of basophilic substance in the cytoplasm, and formation of one large oil droplets.

**Keywords** : Three spot gourami, Oogenesis, Belontiidae

### 서 론

등목어과(Belontiidae)에 속하는 어류는 주로 아프리카와 아시아의 열대지역에서 서식하며 다른 어류와 달리 미로기관(labyrinth)이라는 기관을 통하여 대기 중의 공기를 직접

호흡을 하는 것으로 알려져 있어 고수온에 따른 부족한 산소를 흡수하는데 적응한 어류로 생각되고 있다. Three spot gourami (*Trichogaster trichopterus* Pallas, 1770)는 등목어과(Belontiidae)에 속하는 담수산 경골어류로 동남아시아의 캄보디아, 라오스, 태국 및 베트남의 메콩강 유역에 서식하며 먹이는 동물성플랑크톤, 갑각류, 곤충의 유충을 주식으로 하

\* Correspondence should be addressed to Dr. Dong Heui Kim, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162, Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0332, Fax: (033) 732-4446, E-mail: fish7963@yonsei.ac.kr

고, 수컷이 거품둥지를 짓는 것으로 알려져 있다(Bailey & Sandford, 1998).

어류에서 배우체에 관한 연구는 정자형성, 난자형성 및 수정과정으로 나뉘어 일부 어종에서 연구되어 왔고 이 과정들은 종 간에서 차이를 보일 뿐만 아니라 동종 간에서도 그들의 수정방식이나 생식습성 혹은 서식환경조건 즉, 수온, 광주기, 광도, 수질 등에 의해 결정되는데 이중 온도상승과 광량의 증가가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Wolenski & Hart, 1987; Hatakeyama & Akiyama, 2007).

어류의 난자형성과정은 난소에서 이루어지며 난소는 한 쌍으로 체강상부의 좌우에 위치하고 있다. 난자형성과정은 다수의 인(nucleolus)의 형성, lampbrush 염색체의 발달, 핵내의 inclusion body의 발달, 난황을 포함한 다양한 형태의 소기관의 축적 및 난막형성 등을 포함한 다양한 과정을 통하여 이루어진다(Guraya, 1986).

온대지역에 서식하는 어류의 경우는 산란 직후 여름에 퇴행기로 들어가며 난자형성과정은 늦가을부터 시작하여 산란기인 봄에 절정을 이룬다(Singh et al., 2005). 경골어류의 난자에 대한 연구는 주로 수정란 난막의 미세구조에 대하여 이루어져 왔으며 과(Family) 또는 종(Species)에 따라 수정란 난막의 미세구조가 서로 달라 종을 구별하는 분류학적 형질로 이용이 가능하다(Kim et al., 1996, 1998, 1999).

등목어과에 속하는 어류에 대한 국내연구는 같은 과의 three spot gourami (*Trichogaster trichopterus*), pearl gourami (*Trichogaster leeri*) 및 marble gourami (*Trichogaster trichopterus trichopterus*)의 수정란 난막에 대한 미세구조 비교에 대해서 보고된 바 있으며(Kim et al., 1999), 난자형성과정에 대한 보고는 없었다. 특히 등목어과에 속하는 수정란은 한 개의 큰 유구(oil droplet)를 가지고 있어 물에 뜨는 특성을 가지고 있고 이 유구가 난자형성과정 중에 어느 시기에 형성되는지 알려진 바 없었다.

따라서 본 연구는 등목어과에 속하는 three spot gourami의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰하여 그동안 알려진 유구가 없는 다른 종과의 차이점을 확인하고 이 종만이 가지는 특성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

2010년 4월과 5월 사이에 three spot gourami 성어(전장 13 cm) 10마리를 물의나라 수족관(강원도 원주시)에서 구입하여 pH 6.5±0.5 및 26.0±0.5°C의 수조(120×45×60 cm)에서 기초사육하였으며, 기초양어수는 Fritz-guard(Fritz Co., USA)로 상수의 염소를 제거시킨 후 사용하였고, 스폰지 여과기(Brilliant sponge filter™, Tetra Co., Germany)를 이용한

생물학적 여과(biological filtration)법으로 물을 정화하였다. 수조 바닥에 쌓인 배설물과 먹고 남은 사료는 하루에 1/4씩 환수시켜 제거하였다. 하루 10시간씩 낮 환경을 유지시켰고 먹이는 자외선으로 살균시킨 냉동장구벌레와 테트라민(Tetra Min™, Tetra Co., Germany)을 오전 8시 30분과 오후 5시에 하루 2번씩 급이 하였다. 기초사육 중 번식기에 들어간 포란된 암컷을 선별하여 실험재료로 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 난소의 적출 및 조직처리

성숙한 three spot gourami 암컷을 해부하여 난소의 외부 형태를 관찰하고 난소를 적출하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 10% formaldehyde로 4°C에서 24시간 고정 후 흐르는 물로 12시간 세척하고, ethanol 농도 상승 순으로 탈수한 다음 xylene으로 치환시킨 후 paraffin으로 포매하여 2~3 μm 두께로 자른 후 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하여 광학현미경으로 발생분화시기에 따른 난자형성과정을 관찰하였다.

#### 2) 성숙란 채취

포란된 암컷 한 마리와 성숙한 수컷 한 마리를 선별하여 유리수조(60×30×40 cm)에 옮겨놓고 산란수는 28.0±0.5°C의 기초양어수를 사용하였으며 산란상은 부초인 water sprite (*Ceratopteris thalictroides*)를 이용하여 거품둥지 속에 산란된 수정란을 실험에 사용하였다.

## 결과 및 고찰

등목어과(Belontiidae)에 속하는 three spot gourami (*Trichogaster trichopterus*)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

Three spot gourami의 난소는 한 쌍으로 흐린 살색의 아가미 쪽은 뾰족하고 생식공 쪽은 둥근 장타원형(장축 2 cm, 단축 1 cm)이었으며 부레와 창자 사이에 위치하고 있었다(Fig. 1). 난소 내에는 난원세포, 제1난모세포, 제2난모세포 및 난세포 등 다양한 분화단계의 생식세포들이 분포하고 있었다. 초기의 난원세포의 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 호염기성인 파란색으로 염색되었고, 핵막을 따라서 여러 개의 인들이 분포하고 있었다(Fig. 2). 지금까지 보고된 일 년에 한 번 번식하는 국내 어류의 난자형성과정에서 난원세포의 형태는 본 실험 결과와 모두 동일한 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2007, 2009, 2010). 생식세포가 발달함에 따라서 난원세포의 세포질은 핵 쪽에서 세포막 쪽으로 hematoxylin의 염색성이 낮아지기 시작하였고, 세포질이 전체적으로 초기 난원세포에 비해 염색도가 낮아졌다(Fig. 3). 초

기시기의 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리인 세포막 쪽에서 국한적으로 유구들(lipid droplets)이 형성되기 시작하였으며 난막은 형성되기 시작하였으나 매우 얇게 관찰되었고 인은 파란색으로 관찰되어 쉽게 구별되었다. 핵 주변부에는 유구가 관찰되지 않았고 난원세포에서 관찰되었던 질은 파란색의 세포질은 염색성이 점점 더 낮아졌다(Fig. 4). 제1난모세포가 발달함에 따라서 유구들이 세포의 바깥 가장자리에서 증식되어 증가하기 시작하였고 작은 유구들이 핵막 근처에 집중되어 형성되기 시작하였다(Fig. 5). 제2난모세포는 발생이 진행됨에 따라서 난막은 두꺼워져 뚜렷하게 관찰되기 시작하였고, 특히 유구가 세포질 전체로 퍼져나갔다. 세포막 쪽의 유구 사이에 난황포(yolk vesicle)가 형성되기 시작했으며, 난황포는 호산성으로 에오신에 의해서 적색으로 염색되어 관찰되었다. 그러나 난황포가 형성되지 않은 핵 주변부는 아직 호염기성을 띠고 있었다(Fig. 6). 일반적으로 온대지역에 서식하는 어류의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 난황낭의 축적, 염기성 물질의 감소, 난막 발달 및 두께의 증가로 정의되고 있지만 본 연구결과 호염기성 물질의 감소는 공통점이 있다. 그러나 유구를 형성하지 않는 종의 경우 제1난모세포시기에 난황포가 형성되지만 three spot gourami의 경우 유구를 형성하기 때문에 난황포가 형성되기 전에 유구가 세포막 쪽에서 먼저 형성되고 후에 핵막 쪽에서 형성된 후 난황포가 세포막 쪽에서 형성되어 유구들 사이에 축적된다는 점이 다른 점이다.

성숙한 난자는 난자의 크기가 상당히 증가하였으며 난막이 뚜렷하고 핵은 염기성을 띠었다. 또한 난황포는 더욱 발달하여 적색으로 염색된 구형의 난황괴(yolk mass)를 이루고 있었다(Fig. 7). 수정란을 광학현미경으로 관찰한 결과 중앙하단에 한 개의 큰 유구가 발달되었으며 이 유구는 세포질 전체에 산재해 있던 작은 유구들이 합쳐서 형성된 것으로 생각된다. 위란강(perivitelline space)의 발달은 거의 없어 난막은 난황막과 거의 붙어 있었다(Fig. 8). 등목어과의 경우 수온이 높고 용존산소량이 낮은 서식처에 분포하며 보조호흡기를 보유하고 있는 것으로 보아 난황낭 내의 유구는 부력을 증가시켜 수정란이 수면에 뜨게 해줌으로써 산소공급을 용이하게 하여 생존 및 발생에 매우 중요한 기능을 하는 것으로 생각된다. 유구의 형태는 종에 따라 매우 다양하며 angelfish, 연어 및 썸치의 경우 유구가 난황낭 내에 균질하게 분포하고 있고(Bell et al., 1969; Kim et al., 1986; Kim et al., 1993), 큰가시고기는 난 중앙에 다양한 크기의 유구들이 집중되어 분포하고 있으며(Han & Kim, 1989), 미꾸라지와 zebrafish처럼 유구가 없는 종도 있다(Kim et al., 1987, 1993). 유구는 부성란에서 부력을 제공하지만(Kund, 2005), 침성란의 경우도 유구를 가지고 있고 심지어 난태생 어류도 보유하고 있는 경우가 있다(Wiegand, 1996). 따라서 정확한 유구의 기능은 알려져 있지 않으며 유구는 발생중

고열량 에너지원(Brind et al., 1982)과 비타민 A의 저장원(Kunz, 1964)의 기능을 하는 것으로 알려져 있으나 수정란에서 유구를 제거한 후 배아가 정상적으로 성장하기 때문에 유구는 영양원으로서의 기능은 없다고 보고한 연구결과도 있다(Iwamatsu et al., 2008). 본 실험에서 위란강이 발달하지 않은 이유는 부성란이기 때문에 물리적인 충격을 받을 확률이 낮기 때문인 것으로 생각된다. 등목어과에 속하는 어류의 난막의 미세구조에 대한 연구에 따르면 난막의 표면은 홈들이 난막 전체에 분포하고 있었고, 3중 모두 난막은 2층으로 부착층인 외층 및 전자밀도가 높은 한 층인 내층으로 구성되어 있어 과의 공통적인 특징이다(Kim et al., 1999).

이상과 같이 three spot gourami의 난자형성과정은 난세포의 증가, 유구형성, 난황축적, 염기성 물질의 감소, 한 개의 큰 유구형성으로 요약될 수 있다. 그러나 본 실험에서 완전히 포란된 상태에서도 유구들의 융합이 일어나는 과정을 관찰할 수 없었기 때문에 추가적인 연구가 필요하며, 난자의 형성과정에 따른 난막의 미세구조적 형성과정에 대한 연구도 수행되어야 할 것으로 사료된다. 또한 국내에 서식하는 등목어과에 속하는 버들붕어의 경우 온대지역에 서식하므로 열대지역에 서식하는 어종과 차이가 있을 수 있기 때문에 난자형성과정 비교에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

## 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. 70-73, 1998.
- Bell GR, Hoskins GE, Bagshaw JW: On the structure and enzymatic degradation of the external membrane of the salmon egg, Can J Zool 47 : 145-148, 1969.
- Brind JL, Alani E, Matias JR, Markofsky J, Rizer RL: Composition of the lipid droplet in embryos of the annual fish *Nothobranchius guentheri*. Comp Biochem Physiol 73B : 915-917, 1982.
- Guraya SS: Monographs in developmental biology, The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger 18 : 111-147, 1986.
- Han KH, Kim YU: Spawning behavior, embryonic development and morphology of larvae and juveniles of three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus* (Linnaeus) reared in the laboratory. Bull Nat Fish Univ Pusan 29 : 11-36, 1989. (Korean)
- Hatakeyama R, Akiyama N: Annual reproductive cycle of a bitterling, *Tanakia tanago*, reared in an outdoor tank. Zoolog Sci 24(6) : 614-622, 2007.
- Iwamatsu T, Muramatsu T, Kobayashi H: Oil droplets and yolk spheres during development of Medaka embryos. Ichthyol Res 55 : 344-348, 2008.
- Kim DH, Chang BS, Jung HS, Teng YC, Kim S, Lee KJ: The Ooge-

- nesis of Chinese minnow, Leuciscinae, Teleostei. Korean J Electron Microscopy 39(3) : 237-243, 2009. (Korean)
- Kim DH, Deung YK, Kim WJ, Reu DS, Kang SC: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes from three-spot gourami, pearl gourami and marble gourami, belontiidae, Teleost. Korean J Electron Microscopy 29(3) : 343-2351, 1999. (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)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: A comparative study on the ultrastructures 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 ultrastructures of the fertilized egg envelopes in three species, Cyprinidae, Teleost. Korean J Electron Microscopy 28(2) : 237-253, 1998. (Korean)
- 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 YU, Park YS, Kim DS: Development of eggs, larvae and juveniles of loach, *Misgurnus mizolepis* Gunther. Bull Korean Fish Soc 20(1) : 16-23, 1987. (Korean)
- Kim YU, Park YS, Myoung JG: Egg development and larvae of the snailfish, *Liparis tanakai*. Bull Korean Fish Soc 19(4) : 380-386, 1986. (Korean)
- Kunz Y: Morphogische Studien über die embryonale und postembryonale Entwicklung bei Teleostiern mit besonderer Berücksichtigung des Dottersystems und der Leberin. Rev Suisse Zool 71 : 445-552, 1964.
- Kunz YW: Developmental biology of teleost fishes. Fish & Fisheries Series. Springer, The Netherlands, 2005.
- 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.
- Wiegand MD: Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. Rev Fish Biol Fish 6 : 259-286, 1996.

### < 국문초록 >

경골어류 등목어과(Belontiidae)에 속하는 three spot gourami (*Trichogaster trichopterus* Pallas, 1770)의 난자형성과정을 광학현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

난소는 한 쌍으로 흐린 살색의 아가미 쪽은 뾰족하고 생식공 쪽은 둥근 장타원형(장축 2cm, 단축 1cm)이었으며 부레와 창자 사이에 위치하고 있었다. 난원세포의 세포질은 호염기성이었고 핵 내에 다수의 인들이 분포하고 있었다. 난원세포의 세포질은 hematoxylin으로 매우 강하게 파란색으로 염색되었고 핵막을 따라서 여러 개의 인들이 분포하고 있었다. 발달함에 따라서 난원세포의 세포질은 핵 쪽에서 세포막 쪽부터 hematoxylin의 염색성이 낮아졌고, 제1난모세포는 난세포 세포질의 가장자리인 세포막 쪽에서 국한적으로 유구들이 형성되기 시작하였다. 제1난모세포가 발달함에 따라서 유구들이 세포의 바깥 가장자리에서 증식되어 증가하기 시작하였고 작은 유구들이 핵막 근처에 집중되어 형성되기 시작하였다. 제2난모세포는 발생이 진행됨에 따라서 난막은 두꺼워져 뚜렷하게 관찰되기 시작하였고, 특히 유구가 세포질 전체로 퍼져나갔다. 세포막 쪽의 유구 사이에 난황포가 형성되기 시작했으며 난황포는 호산성으로 에오신에 의해서 적색으로 염색되어 관찰되었다. 성숙한 난자는 난자의 크기가 상당히 증가하였으며 난막이 뚜렷하고 핵은 염기성을 띠었다. 또한 난황포는 더욱 발달하여 적색으로 염색된 구형의 난황괴를 이루고 있었다. 수정란을 광학현미경으로 관찰한 결과 중앙하단에 한 개의 큰 유구가 발견되었다.

이상과 같이 three spot gourami의 난자형성과정은 난세포의 크기 증가, 유구와 난황의 축적, 염기성 물질의 감소 및 큰 유구의 형성으로 요약될 수 있다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** The photograph of ovary (O) in three spot gourami.
- Fig. 2.** A light micrograph of an oogonium in ovary (scale bar=50  $\mu$ m). N; Nucleus, C; Cytoplasm, Arrow; Nucleolus. The cytoplasm was basophilic.
- Fig. 3.** A light micrograph of an oogonium in ovary (scale bar=50  $\mu$ m). The color of cytoplasm is changing from nucleus to cell membrane. N; Nucleus.
- Fig. 4.** Primary oocyte in early stage (scale bar=50  $\mu$ m). N; Nucleus, Arrow; Oil droplet.
- Fig. 5.** Primary oocyte (scale bar=50  $\mu$ m). N; Nucleus, Ld, Lipid droplets.
- Fig. 6.** Secondary oocyte (scale bar=100  $\mu$ m). Yolk vesicle was distributed in marginal area only. N; Nucleus, Od; Oil droplets, Arrow; Yolk vesicle, Arrow; Follicular epithelium.
- Fig. 7.** A light micrograph of matured egg (scale bar=100  $\mu$ m). N; Nucleus, Ym; Yolk mass, E; Egg envelope, Arrow; Oil droplet, Ym; Yolk mass.
- Fig. 8.** A matured egg (scale bar=140  $\mu$ m). Arrow; Microvilli-like structure on the outside of egg envelope. Bd; Blastodisc, C; Cytoplasm, Od; Oil droplet.







