

북방전복(*Haliotis discus hannai*) 난모세포의 미세구조적 분화김혜진 · 김현진¹ · 김영숙² · 이정식^{1*}국립수산과학원 남동해수산연구소, ¹전남대학교 수산생명의학과, ²국립수산과학원 수산방역과Microstructural Differentiation of the Oocyte in the Abalone *Haliotis discus hannai*Hyejin Kim, Hyeon Jin Kim¹, Young Sook Kim² and Jung Sick Lee^{1*}

Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Tongyeong 53017, Korea

¹Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea²Pathology Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

The purpose of this study was to provide basic information on sexual maturity and reproductive biology for the management of biological resources in abalone *Haliotis discus hannai*. The nucleus of the oogonium occupied about 42% of the cytoplasm, and had a distinctive basophilic chromatin. The cytoplasm of previtellogenic oocytes was homogeneous and the size of nuclear pores increased. Fine granular and vacuolar yolk granules were observed in the cytoplasm of the initial vitellogenic oocyte. In this stage, the egg stalk and jelly membrane began to develop. The nucleus of the active vitellogenic oocyte was located near the animal pole. Yolk granules were strongly acidophilic. Lampbrush chromosomes were observed in the nucleus and rough endoplasmic reticulum. Annulate lamellae developed in the cytoplasm. The shape of the ripe oocyte was rounded polygonal. The size of ripe oocytes was $202.9 \pm 21.40 \times 142.1 \pm 18.82 \mu\text{m}$ and the thickness of the jelly membrane was $10.1 \pm 1.52 \mu\text{m}$. These results show that yolk accumulation in *H. discus hannai* is based on two methods: exogenous accumulation, through the egg stalk, and endogenous accumulation, through intracellular organelles. Management of biological resources will be necessary when oocytes predominate after the active vitellogenic stage.

Keywords: *Haliotis discus hannai*, Oocyte, Microstructural differentiation

서론

해양동물의 생물학적 최소형, 성비, 생식세포의 분화, 생식소 발달, 성숙 및 생식주기 등에 관한 연구는 종의 생식생물학적 이해와 생물자원의 보존관리 및 양식기술 개발에 필요한 정보를 제공하게 된다. 생식세포의 분화과정에 관한 정보는 이러한 연구에 필요한 기초자료를 제공하는 매우 중요한 과정의 하나이다. 배우자형성과정은 생식세포의 분화, 발달 과정에 관한 것이지만, 생식소 발달과정은 생식소 내에 우점하는 생식세포들을 기준으로 구분하는 것으로 배우자형성과정과 생식소 발달과정은 서로 다른 개념이다. 전복류를 비롯한 패류의 난모세포는 제1감수분열 말기에 체외로 산란된다. 따라서 난자형성과정은 감수분열 단계에 따른 구분이 아니라 난원세포 단계부터 제1난

모세포의 형태 및 조직학적 구분에 의한 것이다(Sobhon et al., 1999; Gosling, 2004; Gurney and Mundy, 2004). 전복과의 난자형성에 관한 연구로는 *Haliotis tuberculata coccinea* (Bilbao et al., 2010)와 *H. midae* (Roux et al., 2013)의 난모세포 발달을 비롯한 연구가 있으나 난자형성과정 동안 난모세포의 미세구조적 변화를 보고한 연구는 그 수가 부족하다.

전복과(Haliotidae)는 복족강(Gastropoda), 원시복족목(Vetigastropoda)에 속하며, 현재 62종 24아종이 보고되어 있다(WoRMS, 2018). 국내에 분포하는 전복과는 등근전복속(*Haliotis*)의 2종 2아종과 오분자기속(*Sulculus*)의 2아종이 보고되어 있다. 이 가운데 북방전복 *H. discus hannai*은 국내 연안의 수심 5-10 m 조하대에서 서식하는 각장 10 cm의 중형 전복으로 한국, 중국 및 일본 등지에서 양식 및 자원조성 등으로 이용되는

*Corresponding author: Tel: +82. 61. 659. 7172 Fax: +82. 61. 659. 7179

E-mail address: ljs@jnu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0090>

Korean J Fish Aquat Sci 53(1), 90-97, February 2020

Received 15 January 2020; Revised 24 January 2020; Accepted 10 February 2020

저자 직위: 김혜진(연구사), 김현진(대학원생), 김영숙(연구원), 이정식(교수)

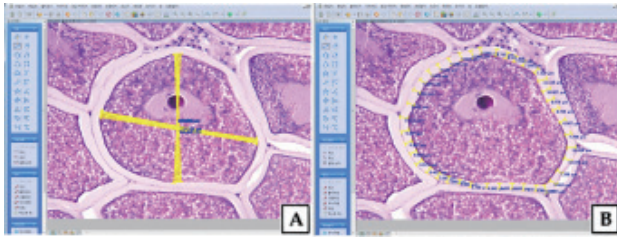


Fig. 1. Microscopic image analysis of the oocyte in abalone *Haliotis discus hannai*. A, oocyte diameter; B, thickness of outer jelly membrane.

중요한 생물자원 가운데 하나이다(Lee et al., 2015). 본 연구는 북방전복 난자형성과정 중 난모세포의 미세구조적 변화를 기재하고 이를 통해 생물자원 관리에 필요한 성숙속 및 생식생물학적 기초정보를 제공하고 하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 생물학적 최소화 이상(각장 69.0 ± 12.80 mm)의 북방전복 52개체를 분석하였다.

광학현미경 표본 제작

광학현미경 조직표본 제작은 생식소가 포함된 간체장의 일부를 절취하여 10% 중성포르말린에 24시간 동안 고정하였다. 고정된 시료는 흐르는 물에 48시간 동안 수세한 후 ethanol로 단계별 탈수를 진행하여 paraplast (Leica, Wetzlar, Germany)에 포매하였다. 포매된 시료는 microtome (RM2235, Leica, Wetzlar, Germany)을 이용하여 4-6 μ m 두께로 연속 절편한 후 유리슬라이드에 부착하였다. 제작된 표본은 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E) 염색, Masson 삼중염색 그리고 alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응 후 광학현미경으로 분석하였다.

투과전자현미경 표본 제작

투과전자현미경 분석용 시료제작은 해부단계에서 생식소의 일부를 절취하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 완충된 2.5% glutaraldehyde 용액에 2-3시간 고정하였다. 고정된 시료는 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 20분씩 3회 수세한 후, 2% osmium tetroxide로 2시간 동안 4°C 암조건에서 후 고정하였다. 후 고정된 시료를 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 20분씩 3회 수세한 후, ethanol 단계별 탈수 과정을 진행하였다. 그리고 30분 간격으로 propylene oxide의 치환과정을 2회 거쳐 epoxy resin으로 60°C 오븐에서 36-48시간 동안 중합하였다. 완성된 epoxy block은 0.7-1 μ m 두께로 semithin 절편 후 ultramicrotome (EM-UC 7, Leica, Wetzlar, Germany)을 이용

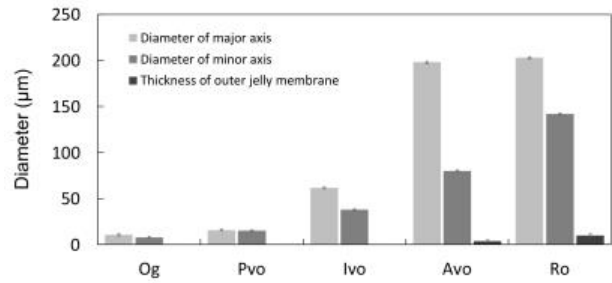


Fig. 2. Changes of the diameter and thickness of outer jelly membrane of the oocyte during oogenesis in abalone *Haliotis discus hannai*. Avo, active vitellogenic oocyte; Ivo, initial vitellogenic oocyte; Og, oogonium; Pvo, previtellogenic oocyte; Ro, ripe oocyte. Vertical error bars indicate SD.

하여 600-900 nm 두께로 절편한 후, uranyl acetate-lead citrate의 이중염색 과정을 거쳐 투과전자현미경(LIBRA[®] 120, Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Germany)으로 관찰하였다.

현미경 화상분석

조직학적 특징의 정량화를 위해 현미경 화상장치(KY-F1030, JVCKENWOOD, Yokohama, Japan) (Moticam 10, Motic Electric Group Co., Ltd, Xiamen, China)로 광학현미경 조직표본을 JPEG 파일화 하였다. 난모세포의 조직학적 특징을 각 항목별로 화상분석 프로그램(i-solution, IMT i-Solution Inc., NY, USA)을 이용하여 분석하였다(Fig. 1).

$$\text{Proportion of nucleus to cytoplasm (\%)} = \frac{\text{Nucleus area } (\mu\text{m}^2)}{\text{Ooplasm area } (\mu\text{m}^2)} \times 100$$

조직화학적 반응 후 염색 친화도 판정은 광학현미경 조직표본 JPEG 파일을 Adobe Photoshop CS6 (Adobe, San Jose, CA, USA)를 통해 RGB 방식의 색을 확인하였다. 이를 Code Beautify (www.codebeautify.org)에서 Pantone[®] Formula Guide/solid coated (Pantone Inc., Carlstadt, NJ, USA)의 유사 색상과 대조하여 그 고유번호를 괄호 안에 표시하였다.

결 과

북방전복의 난소는 생식소 외막과 간체장 사이의 생식소 내강에 형성된 격벽에 의해 다수의 내강으로 구분되어 있었으며, 내강의 형태는 소엽형으로 난자형성소낭을 따라 난모세포들이 발달되어 있었다. 난모세포의 분화가 진행되면서 난모세포, 핵 및 인의 크기가 증가하였고(Fig. 2) 세포질의 염색성은 호염기성에서 호산성으로 전환되는 경향을 보였다. 난모세포 분화과정은 생식세포의 크기, 염색성 및 세포소기관의 광학 및 투과전자현

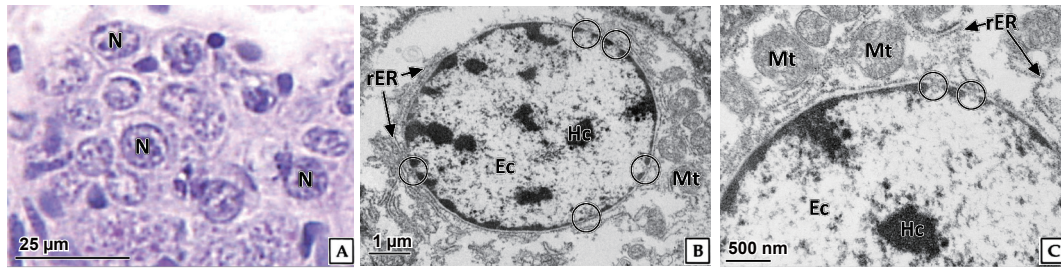


Fig. 3. Light and transmission electron microscopy on the oögonia of abalone *Haliotis discus hannai*. A, note the basophilic chromatin, H-E stain; B, note the euchromatin (Ec) and granular heterochromatin (Hc) in karyoplasm; C, Note the numerous mitochondria (Mt) and rough endoplasmic reticulum (rER) in the cytoplasm; N, nucleus; circle, nuclear pore.

미경적 특징에 따라 난원세포(oögonium), 난황형성전기 난모세포(previtellogenic oocyte), 난황형성개시기 난모세포(initial vitellogenic oocyte), 난황형성활성기 난모세포(active vitellogenic oocyte) 및 완숙기 난모세포(ripe oocyte)로 구분되었다.

난원세포기

난원세포의 형태는 원형으로 직경 $10.7 \pm 1.90 \times 8.0 \pm 1.21 \mu\text{m}$ 이었다(Fig. 2). 핵은 원형으로 직경 $5.8 \pm 0.79 \mu\text{m}$ 로 세포질의 약 42%를 차지하였다. 난원세포는 H-E 염색, Masson 삼중염색 및 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 강한 호염기성을 나타내는 염색사가 핵질에 분포함을 확인할 수 있었다. 세포질은 H-E 염색에서는 매우 약한 호염기성을 나타냈으며, Masson 삼중염색에서 옅은 붉은색(7430C)을 나타냈으나 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서는 옅은 푸른색(7445C)으로 반응하였다(Fig. 3A). 투과전자현미경 관찰 결과, 난원세포의 핵질은 이형염색질과 진정염색질이 뚜렷하게 구분되었다(Fig. 3B). 핵막의 외막과 내막 사이에 핵 주변 공간(perinuclear space)의 거리는 약 50 nm이었으며, 핵공이 뚜렷하게 구분되었다. 핵의 외막을 따라 리보솜이 부착된 조면소포체가 발달되어 있었다. 세포질에서는 크리스테가 발달된 직경 약 300-500 nm의 미토콘드리아를 관찰할 수 있었다(Fig. 3C).

난황형성전기

난황형성전기의 난모세포는 원형 또는 장방형으로 크기는 $15.8 \pm 2.21 \times 15.1 \pm 2.13 \mu\text{m}$ 로 난원세포에 비해 약 1.5배 증가하였다(Fig. 2). 핵의 크기는 $8.9 \pm 1.32 \mu\text{m}$ 로 난원세포에 비해 약 65% 증가하였으나 세포질에 대한 핵의 비율은 $27.1 \pm 1.70\%$ 로 난원세포 단계에 비해 약 40% 감소하였다. H-E 염색 결과, 난황형성전기 난모세포의 핵질에서는 강한 호염기성을 나타내는 원형의 인이 관찰되었으며, 핵질에는 호염기성의 염색사가 산재하고 있었다. 세포질은 균질한 상태였고 난원세포 단계에 비해 H-E 염색과 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 강한 호염기성으로 나타났으며, Masson 삼중염색에서는 적자색(682C)을 나타냈다(Fig. 4A). 핵질에는 전자밀도가 높은 과립상의 이형

염색질이 분포하였으며, 난원세포 단계에 비해 핵공의 크기가 증가하였다. 세포질에는 크리스테가 발달한 다수의 미토콘드리아와 시스테네가 잘 발달된 조면소포체가 산재하고 있었다(Fig. 4B, 4C).

난황형성개시기

난황형성개시기 난모세포는 다각형 또는 장방형으로 난황형성전기의 난모세포에 비해 다소 신장된 형태였다. 난모세포의 크기는 $61.6 \pm 7.10 \times 38.0 \pm 6.84 \mu\text{m}$ 이었으며, 핵의 크기는 $25.8 \pm 5.66 \mu\text{m}$ 로 난황형성전기 난모세포에 비해 약 3배 증가하였다(Fig. 2). 초기 난황형성개시기 난모세포의 핵질에는 강한 호염기성을 나타내는 원형의 인과 염색사들이 산재하고 있었다. 세포질의 염색성은 난황형성전기 난모세포에 비해 호염기성이 다소 감소하였으며, 세포질에서는 미세과립 형태의 난황과립들과 소형의 공포들이 관찰되었다(Fig. 5A). 세포질에 분포하는 난황과립은 H-E 염색에서는 약한 호산성과 공포상으로 나타나는 2종류였으며, 난자형성과정에서 진행되면서 난자형성소낭과 난모세포를 연결하는 난병 구조가 발달하기 시작하였다(Fig. 5B). 난병 부위의 세포질에서는 소형의 공포와 호산성의 난황과립들이 축적되어 있었으며, AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 진한 푸른색으로 반응하는 젤리층이 확인되었다(Fig. 5C). 핵질에서는 전자밀도가 높은 이형염색질의 응집이 뚜렷하였으며, 세포질에는 조면소포체가 발달해 있었다(Fig. 5D). 세포질에는 관상의 미토콘드리아와 원형의 시스테네 구조가 잘 발달된 골지체 다발이 분포하고 있었다. 난황과립은 전자밀도가 높은 단백질성 과립과 투명한 지질성 과립의 두 종류가 구분되었는데, 단백질성 과립은 가장자리와 중앙의 전자밀도의 차이를 보였다(Fig. 5E).

난황형성활성기

난황형성활성기의 난모세포는 난자형성소낭과 난모세포를 연결하는 난병의 구조가 명확해지면서 난황형성개시기의 난모세포에 비해 더욱 신장된 형태였다. 난모세포의 평균 크기는 $197.9 \pm 28.31 \times 80.1 \pm 18.82 \mu\text{m}$ 로 측정되었다(Fig. 2). 세포질

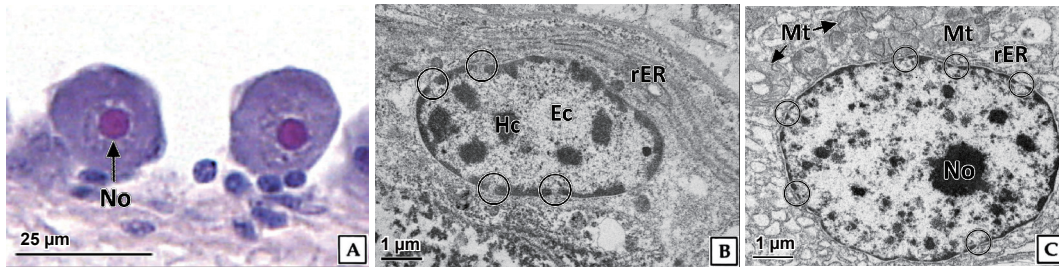


Fig. 4. Light and transmission electron microscopy on the previtellogenic oocytes of abalone *Haliotis discus hannai*. A, note the basophilic cytoplasm and eosinophilic nucleolus (No), H-E stain; B, note the well developed rough endoplasmic reticulum (rER) in the cytoplasm; C, note the well developed nuclear pore (circle) and electron dense nucleolus in karyoplasm; Ec, euchromatin; Hc, heterochromatin; Mt, mitochondria.

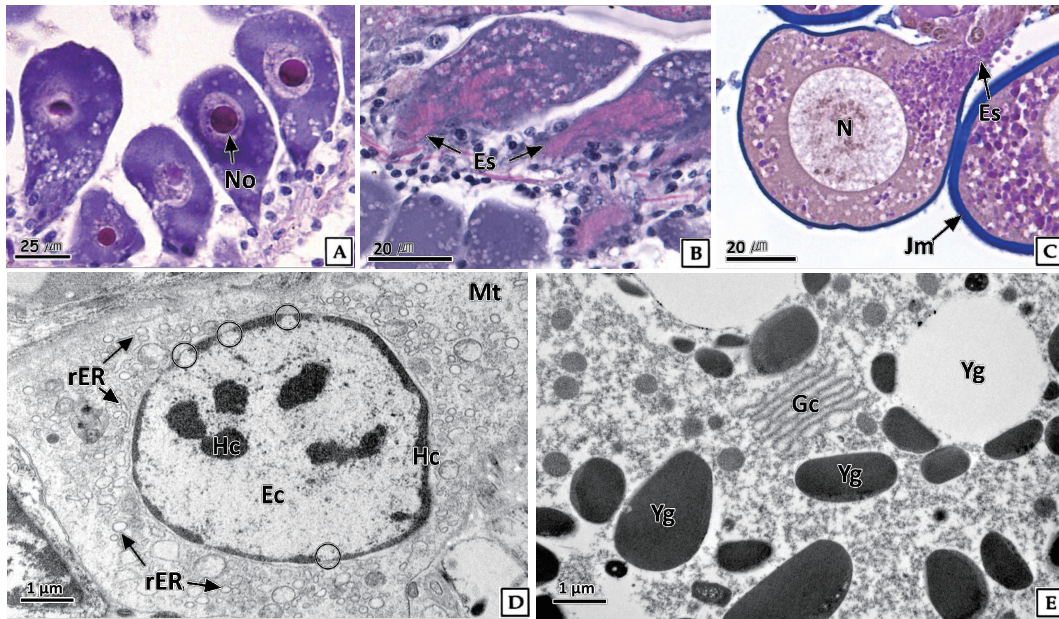


Fig. 5. Light and transmission electron microscopy on the initial vitellogenic oocyte of abalone *Haliotis discus hannai*. A, Note the basophilic cytoplasm and small vacuolar yolk granules, H-E stain; B and C, Note the eosinophilic and PAS positive yolk granules near the egg stalk (Es). AB-PAS (pH 2.5) reaction; D, note the well developed mitochondria (Mt) and rough endoplasmic reticulum (rER); E, two types of yolk granules (Yg) and Golgi complex (Gc) with well developed cisternae; Ec, euchromatin; Hc, heterochromatin; Jm, outer jelly membrane; N, nucleus; No, nucleolus; circle, nuclear pore.

에 대한 핵의 비율은 $15.2 \pm 1.96\%$ 이었으며, 핵질을 차지하는 인의 비율은 난황형성개시기 난모세포에 비해 감소하였다. 핵은 동물극 부근에 위치하며, 핵질에는 강한 호염기성을 나타내는 원형의 인이 뚜렷하였다. 염색사는 이전 단계에 비해 다소 감소한 양상을 보였다. H-E 염색에서 세포질 염색성은 난황형성개시기에 비해 약한 호염기성에서 호산성으로 전환되었다. 세포질에는 난황과립과 소형의 공포들이 산재하고 있었으며, H-E 염색에서 대부분의 난황과립은 강한 호산성으로 나타났다(Fig 6A). 난황과립들은 Masson 삼중염색에서는 진한 붉은색(7641C)으로 반응하였으며, AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 공

포상 형태와 PAS에 양성으로 반응하는 난황과립(509C)의 두 종류로 구분되었다. 난모세포 젤리층 외막의 두께는 $4.1 \pm 0.92 \mu\text{m}$ 이었으며, 염색성은 H-E 염색에서 연한 붉은색(2365C)을 나타냈다. 이들은 Masson 삼중염색에서 푸른색(271C)으로 반응하였고(Fig 6B) AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 alcian blue에 양성으로 강하게 반응하여 진한 푸른색(2136C)을 나타냈다(Fig. 6C). 투과전자현미경 표본에서 난모세포의 핵질에서는 솔염색체(lampbrush chromosome)가 관찰되었으며, 인의 내부에서는 전자밀도가 낮은 pars fibrosa가 관찰되며, 인의 주변에는 망상구조의 perinucleolar chromatin이 위치하고 있었다

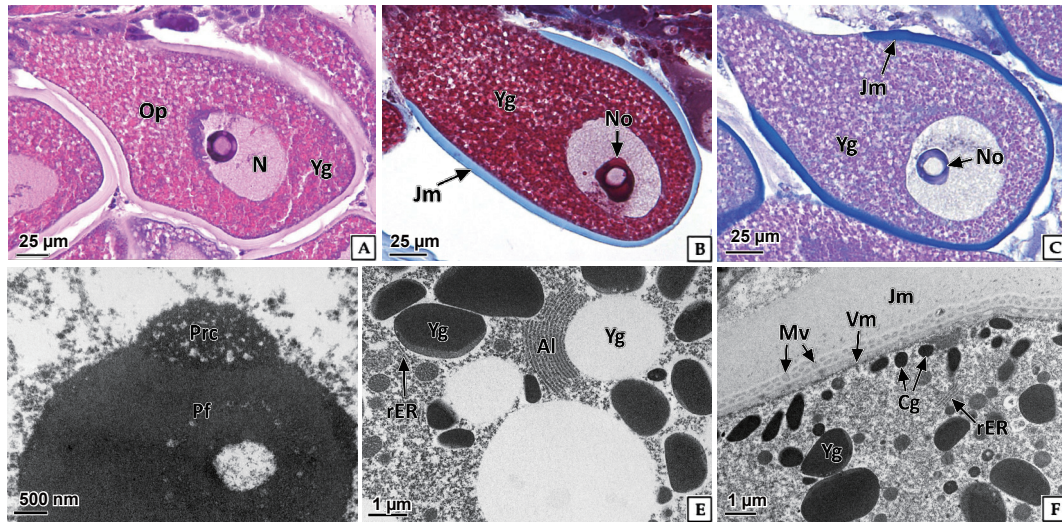


Fig. 6. Light and transmission electron microscopy on the active vitellogenic oocyte of abalone *Haliotis discus hannai*. A-C, note the nucleus (N) in the animal pole; A, H-E stain; B, Masson's trichrome stain; C, AB-PAS (pH 2.5) reaction; D, network structure of perinucleolar chromatin (Prc) and electron lucent pars fibrosa (Pf); E, two types of yolk granules (Yg) and well developed annulate lamella (Al) in the ooplasm (Op); F, cortical granules (Cg) under the vitellin membrane (Vm) and developed outer jelly membrane (Jm); Mv, microvilli; rER, rough endoplasmic reticulum.

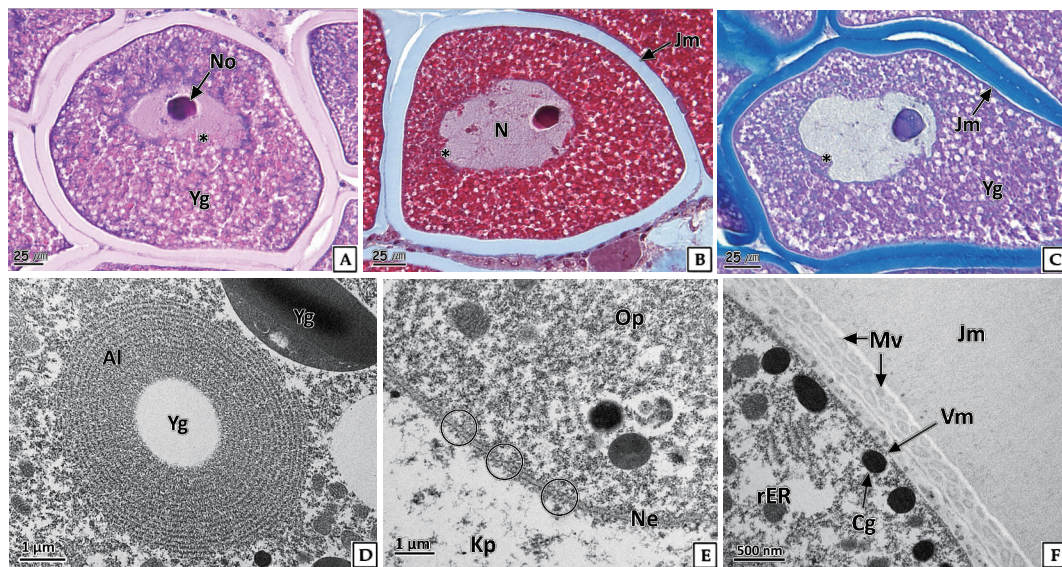


Fig. 7. Light and transmission electron microscopy on the ripe oocyte of abalone *Haliotis discus hannai*. A-C, note the well developed outer jelly membrane (Jm); A, H-E stain; B, Masson's trichrome stain; C, AB-PAS (pH 2.5) reaction; D, annulate lamella (Al) with electron lucent yolk granule in the ooplasm (Op); E, Electron lucent karyoplasm (Kp) and numerous nuclear pore (circle); F, Microvilli (Mv) between vitellin membrane (Vm) and outer jelly membrane (Jm); Cg, cortical granule; N, nucleus; Ne, nuclear envelope; No, nucleolus; rER, rough endoplasmic reticulum; Yg, yolk granules.

(Fig. 6D). 난황과립 사이의 세포질에서는 조면소포체와 환층판(annulate lamellae)이 발달되어 있었으며, 환층판은 지질성 난황과립을 둘러싸고 있었다(Fig. 6E). 또한 젤리층 외막의 내

부에는 미세융모가 발달되어 있었으며, 난황막 아래의 세포질에는 전자밀도가 높은 피질과립(cortical granule)들이 산재하고 있었다(Fig. 6F).

완숙기

완숙기 난모세포의 형태는 둥근 다각형이며, 평균 크기는 $202.9 \pm 21.40 \times 142.1 \pm 18.82 \mu\text{m}$ 로 난황형성활성기 난모세포에 비해 단경이 약 56% 증가하였다(Fig. 2). 염색사는 난황형성활성기에 비해 감소하였으며, 세포질에는 난황과립과 소형의 공포가 세포질 전체에 분포하고 있었다. 난황과립은 H-E 염색에서 강한 호산성의 붉은색(224C)으로 나타났으며(Fig. 7A), Masson 삼중염색에서 붉은색(200C) (Fig. 7B), AB-PAS (pH 2.5) 반응에서는 푸른색으로 반응하였다(Fig. 7C). 성숙기 난모세포의 젤리층 외막의 두께는 $10.1 \pm 1.52 \mu\text{m}$ 로 난황형성활성기 난모세포에 비해 약 2배 이상 증가하였다. 투과전자현미경 표본에서 완숙기 난모세포의 핵질에는 솔염색체가 여전히 발달되어 있었고 세포질은 전자밀도가 높은 단백질성의 난황과립과 투명하게 관찰되는 지질 성분의 난황과립들로 채워져 있었으며, 원형의 환층판이 발달 되어있었다(Fig. 7D). 완숙기 난모세포에서 핵공의 크기는 난황형성활성기에 비해 감소되었고 젤리층 외막에서는 발달된 미세융모들을 관찰할 수 있었으며(Fig. 7E), 난황막 아래의 세포질에서는 직경 약 250 nm의 피질과립들이 분포하고 있었다(Fig. 7F).

고 찰

전복과를 포함한 대부분의 복족류의 성은 자웅이체로 난소는 다수의 난자형성소낭으로 이루어져 있으며, 난자형성소낭 내에서 난모세포의 분화 및 발달이 진행된다. 난모세포들의 발달은 각 소낭 내에서 비동시적으로 진행되며, 계절에 따른 변화양상을 나타낸다(Voltzow, 1994; Jung et al., 2007). 북방전복의 난소 또한 다수의 난자형성소낭으로 이루어져 있었으며, 각 소낭을 따라 난모세포들이 발달하고 있었다. 난자형성소낭은 결합조직으로 이루어진 격벽이 생식소 외막의 안쪽에서부터 간췌장까지 발달되어 있는 소엽형 구조를 가지고 있었다. 이러한 난소의 구조는 *H. rufescens* (Martin et al., 1983), *H. iris*와 *H. australis* (Wilson and Schiel, 1995)를 비롯한 다른 전복류와 동일하였다(Sobhon et al., 1999; Najmudeen and Victor, 2004; Bilbao et al., 2010; Visser-Roux, 2011).

패류에서 난모세포의 분화, 발달과정 동안 뚜렷한 특징 중 하나는 난모세포의 크기 증가로 이는 세포질 내 난황물질의 축적에 따른 결과이다. 동근전복속(*Haliotis*)의 완숙 난모세포 크기는 *H. rufescens* 250 μm (Giorgi and DeMartini 1977), *H. asinina* 125 μm (Capinpin et al., 1998), *H. asinina* 80-140 μm (Sobhon et al., 1999), *H. varis* $180 \pm 20 \mu\text{m}$ (Najmudeen and Victor, 2004), *H. midae* 250-300 μm (Visser-Roux, 2011; Wu et al., 2018)으로 종에 따라 다르게 보고되고 있다. 본 연구에서 북방전복의 완숙 난모세포의 크기는 장경 약 $202.9 \pm 21.4 \mu\text{m}$ 였는데, 이와 같은 완숙 난모세포의 크기 차이는 난황축적 정도에 따른 것으로 판단되지만, 이러한 차이가 종 특이성인지 생태

학적 특성인지에 대해서는 후속의 연구가 필요하다.

난모세포의 난황축적 방법은 난황전구물질의 기원 부위에 따라 외재적 난황축적과 내재적 난황축적으로 구분된다. 난모세포 발달과정에서 난황 축적과 관련 있는 구조 가운데 난병은 난모세포의 외재적 난황축적과 밀접한 관계가 있으며, 인을 포함한 세포소기관들은 난모세포의 내재적 난황축적과 밀접한 관계가 있다(Beams and Sekhon, 1966; Wallace and Selmen, 1981; Eckelbarger and Young, 1997).

복족류와 이매패류에서 난병은 미세소관들이 밀집된 구조로 난소형성소낭과 난모세포의 부착 및 지지기능과 동시에 난황전구물질의 통로 기능을 담당한다(Beams and Sekhon, 1966; Park et al., 2003; Jung et al., 2007). 북방전복에서도 난병은 난황형성개시기의 난모세포 시기부터 구분되기 시작하여 난모세포가 발달됨에 따라 더욱 뚜렷해졌다. 또한 동일한 시기부터 난병 부위의 난세포질에서 H-E 염색에서 호산성으로 반응하고 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서는 PAS에 양성으로 반응하는 난황과립들이 확인되었다.

내재적 난황축적은 기본적으로 세포내 물질합성 기작에 의한 것으로 핵 내의 유전자의 활성화로부터 시작되어 인과 조면소포체 및 골지체 등의 세포내 소기관에 의해 주로 이루어진다(Wallace and Selman, 1981; Visser-Roux, 2011). 원시복족목 패류에서 난모세포의 난황축적은 비대성 여포세포와 관계가 있으며, 1) 조면소포체와 골지체의 결합작용을 통한 세포질 내의 자가합성 형태와 2) 명확하지는 않지만 미토콘드리아와 같은 다양한 세포소기관에 의한 방법, 3) 음세포작용 등을 통한 타가합성의 세 가지 난황축적 방법이 보고되었다(Eckelbarger and Young, 1997).

뿔소라과의 *Bolinus brandaris*의 경우에도 난황축적 방법은 여포세포에 의한 외재적 방법과 조면소포체 등에 의한 내재적 방법에 의한다고(Amor et al., 2004). 소라(*Batillus cornutus*)의 난황축적 과정에서도 난병의 발달과 인과 세포소기관의 활성이 관찰되어 소라의 난황축적도 외재적 방법과 내재적 난황축적의 두 가지 방법에 의한 것으로 보고되었다(Jung et al., 2007).

본 연구에서도 북방전복의 난모세포 발달과정이 진행됨에 따라 핵질에서 솔염색체의 활성화와 세포질 내에서 조면소포체, 환층판 및 골지체 등의 세포소기관의 발달이 확인되었다. 이러한 결과는 북방전복의 난황축적은 난병을 통한 외재적축적과 세포내소기관을 통한 내재적 축적의 두 가지 방법에 의한 것임을 보여주는 것이다.

패류에서 난모세포의 분화, 발달과정 동안 핵의 이동, 피질과립 및 젤리층의 발달은 수정과 산란 후 환경적응을 위한 구조적 분화이다.

성숙기 난모세포의 조직학적 특징인 핵의 동물극(animal pole)으로의 이동은 수정 시 융성전핵과의 결합을 용이하게 하기 위한 것이며, 피질과립의 발달은 수정막 형성에 관여한다(Wallace and Selmen, 1981). 이와 같은 현상은 *H. midae*

(Wood and Buxton, 1996)와 *H. asinina* (Jebreen et al., 2000)에서 보고되었으며, 본 연구의 북방전복에서도 확인되었다.

체외수정을 위해 수중에 산란을 하게 되는 무척추동물의 경우 다양한 물리화학적 외부 환경요인으로부터 난을 보호하기 위해 젤리층과 같은 다양한 난막 구조를 발달시킨다(Bolton et al., 2000; Beninger and Chérel, 2019). 복족류인 *Tegula funebris*에서 성숙 난모세포는 두께 250-260 μm 의 젤리층으로 둘러싸여 있으며(Moran, 1997), 소라의 완숙 난모세포에서 젤리층의 두께는 약 5.3 μm 이며(Jung et al., 2007), *H. asinina*의 완숙 난모세포에서 젤리층 외막의 발달이 보고되었다(Wetakan et al., 2001).

북방전복의 난모세포에서 젤리층 외막은 난황형성활성기 단계부터 급격히 발달하여 완숙기 난모세포에서는 두께 약 10 μm 로 분석 되었으며, 조직화학적으로 젤리층은 산성의 당단백질로 구성된 것으로 확인되었다. 한국에서 북방전복의 주 산란기는 9월 전후로 보고되었지만(Kim et al., 2016), 전복류의 주 산란기는 수온을 비롯한 환경조건에 따른 성 성숙 속도 및 생식소 발달단계의 차이에 의해 변화가 가능하다(Uki and Kikuchi, 1984; Grubert and Ritar, 2004; Najmudeen and Victor, 2004). 따라서 북방전복은 세포학적 측면에서 난황형성활성기 이후의 난모세포들이 우점하는 시기에 남획을 최소화하는 금어기 등과 같은 생물자원의 관리가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 해양수산부 농림수산식품기술기획평가원(Golden Seed 프로젝트, 213008-05-4-SB720)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Amor MJ, Ramo M and Durfort M. 2004. Ultrastructural studies of oogenesis in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Sci Mar* 68, 343-353. <https://doi.org/10.3989/scimar.2004.68n3343>.
- Beams HW and Sekhon SS. 1966. Electron microscope studies on the oocyte of the fresh-water mussel (*Anodonta*), with special reference to the stalk and mechanism of yolk deposition. *J Morphol* 119, 477-501. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051190407>.
- Beninger PG and Chérel D. 2019. Cloaked bivalve oocytes: lessons in evolution, ecology, and scientific awareness. *Ecol-ogy* <https://doi.org/10.1002/ecy.2818>.
- Bilbao A, Tuset V, Viera M, De Vicose GC, Fernández-Palacios H, Haroun R and Izquierdo M. 2010. Reproduction, fecundity, and growth of abalone (*Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve 1846) in the Canary Islands. *J Shellfish Res* 29, 959-967. <https://doi.org/10.2983/035.029.0430>.
- Bolton TF, Thomas FIM and Leonard CN. 2000. Maternal energy investment in eggs and jelly coats surrounding eggs of the echinoid *Arbacia punctulata*. *Biol Bull* 199, 1-5. <https://doi.org/10.2307/1542700>.
- Capinpin Jr EC, Encena II VC and Bayona NC. 1998. Studies on the reproductive biology of the Donkey's ear abalone, *Haliotis asinina* Linne. *Aquaculture* 166, 141-150. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00275-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00275-0).
- Ecklebarger KJ and Young CM. 1997. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in the methane-seep mollusc *Bathynnerita naticoidea* (Gastropoda: Neritidae) from the Louisiana slope. *Invertebr Biol* 116, 299-312. <https://doi.org/10.2307/3226862>.
- Giorgi AE and DeMartini JD. 1977. A study of the reproductive biology of the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson, near Mendocino, California. *Calif Fish Game* 63, 80-94.
- Gosling E. 2004. Bivalve molluscs: Biology, ecology and culture. Blackwell science, Oxford, U.K., 1-443.
- Grubert MA and Ritar AJ. 2004. Temperature effects on the dynamics of gonad and oocyte development in captive wild-caught blacklip (*Haliotis rubra*) and greenlip (*H. laevigata*) abalone. *Invertebr Reprod Dev* 45, 185-196. <https://doi.org/10.1080/07924259.2004.9652590>.
- Gurney LJ and Mundy CN. 2004. Reproductive biology: identifying spawning cycles in the genus *Haliotis*. In: Technical Report Series. Tasmanian Aquaculture Fisheries Institute 23, 1-27.
- Jebreen E, Counihan T, Fieldder D and Degnan B. 2000. Synchronous oogenesis during the semilunar spawning cycle of the tropical abalone *Haliotis asinina*. *J Shellfish Res* 19, 845-851.
- Jung GK, Park JJ, Ju SM, Jin YG and Lee JS. 2007. Ovarian structure and oogenesis of the spiny top shell, *Batillus cornutus* (Lightfoot, 1786) (Gastropoda: Turbinidae). *Korean J Malacol* 23, 209-216.
- Kim H, Kim BH, Son MH, Jeon MA, Lee YG and Lee JS. 2016. Gonadal development and reproductive cycle of aquaculture abalone, *Haliotis discus hannai* in Korea (Gastropoda: Haliotidae): Implications for seed production. *J Shellfish Res* 35, 653-659. <https://doi.org/10.2983/035.035.0311>.
- Lee JS, Son MH, Lee JS, Lim HK, Won SH, Lee JH, Kang JC, Kim JW and Kim SY. 2015. Korean abalone (I): morphology, taxonomy and ecology. Maple Design, Busan, Korea, 1-68.
- Martin GG, Romero K and Miller-Walker C. 1983. Fine structure of the ovary in the red abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda). *Zoomorphology* 103, 89-102. <https://doi.org/10.1007/BF00312240>.
- Moran AL. 1997. Spawning and larval development of the black turban snail *Tegula funebris* (Prosobranchia: Trochidae). *J Mar Biol* 128, 107-114. <https://doi.org/10.1007/s002270050074>.
- Najmudeen TM and Victor ACC. 2004. Reproductive biology

- of the tropical abalone *Haliotis varia* from Gulf of Mannar. J Mar Biol Ass India 46, 154-161.
- Park JJ, Lee JY, Lee JS and Chang YJ. 2003. Gonadal development and gametogenic cycle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). Korean J Fish Aqua Sci 36, 352-357. <https://doi.org/10.5657/kfas.2003.36.4.352>.
- Roux A, Lambrechts H and Roodt-Wilding R. 2013. Reproductive histology of cultured *Haliotis midae* (Linnaeus, 1758) and preliminary evaluation of maturation. J Shellfish Res 32, 143-153.
- Sobhon P, Wetakan SA, Chanpoo M, Wanichanon C, Linthong V, Thongkukiatkul A, Jarayabhand P, Kruatrachue M, Upatham SE and Poomthong T. 1999. Classification of germ cells, reproductive cycle and maturation of gonads in *Haliotis asinina* Linnaeus. Sci Asia 25, 3-21.
- Uki N and Kikuchi S. 1984. Regulation of maturation and spawning of an abalone, *Haliotis* (Gastropoda) by external environmental factors. Aquaculture 39, 247-261. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90270-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90270-9).
- Visser-Roux A. 2011. Reproduction of the South African abalone, *Haliotis midae*. Ph.D. Dissertation, University of Stellenbosch, Stellenbosch, Republic of South Africa.
- Voltzow J. 1994. Gastropoda: Prosobranchia. In: Microscopic anatomy of invertebrates vol. 5. Mollusca I. Harrison FW and Kohn AJ, eds. Wiley-Liss, New York, NY, U.S.A., 111-252.
- Wallace RA and Selmen K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am Zool 21, 325-343. <https://doi.org/10.1093/icb/21.2.325>.
- Wetakan SA, Linthong V, Wanichanon C, Panasophonkul S, Meepool A, Kruatrachue M, Upatham ES, Pumthong T and Sobhon P. 2001. Ultrastructure of female germ cells in *Haliotis asinina* Linnaeus. Invertbr Reprod Dev 39, 67-79. <https://doi.org/10.1080/07924259.2001.9652468>.
- Wilson NHF and Schiel DR. 1995. Reproduction in two species of abalone (*Haliotis iris* and *H. australis*) in southern New Zealand. Mar Freshwater Res 46, 629-637. <https://doi.org/10.1071/MF9950629>.
- Wood AD and Buxton CD. 1996. Aspects of the biology of the abalone *Haliotis midae* (Linne, 1758) on the east coast of South Africa. 2. Reproduction. S Afr J Mar Sci 17, 69-78. <https://doi.org/10.2989/025776196784158356>.
- WoRMS (World Register of Marine Species). 2018. Taxonomic status of family haliotidae. Available at: <http://www.marine-species.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1727> on Oct 7, 2019.
- Wu Y, Kaiser H and Jones CLW. 2018. A first study on the effect of dietary soya levels and crystalline isoflavones on growth, gonad development and gonad histology of farmed abalone, *Haliotis midae*. Aquac Int 27, 167-193. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0315-6>.