

한국산 미꾸라지에 있어서 HCG 나 송어의 뇌하수체에 의한 배란유기와 난모세포의 조직학적 변화

윤종만 · 이상목 · 박홍양

간국대학교 죽산대학

Induced Ovulation and Histological Changes of the Oocytes according to HCG and Trout Pituitary Extract in the Korean Loach, *Misgurnus anguillicaudatus*

Yoon, J. M., S. M. Lee and H. Y. Park

Department of Animal Science, Kon-Kuk University

Summary

This study was undertaken to determine the effects of HCG and trout pituitary on sexual maturation and ovulation in the Korean loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. Sexual maturation was observed in the fish treated with 250+125 IU HCG within 2-4 days following injections. Total ovary weight and GSI were significantly greater in the hormone-treated fish than in the control fish. Furthermore, in the hormone-treated fish body weight increased by about 4-9 percent in 2 days. The water content of the ovulated eggs of the fish treated with 250+125 IU HCG was also greater than that in the control. Changes in both macroscopic & microscopic appearance of Korean loach ovaries are described, as well as changes in the gonadosomatic index. Oocytes pass through seven cytologically changes in the relative stages. By examining these stages, it was found that oogenesis occurs in two broad phases. The previtellogenic phase begins as a new oogonia continues to arise following spawning. These rapidly develop into early perinucleolus oocytes, which in turn develop into resting stage oocytes. Most oocytes remain in this stage when they develop into late perinucleolus oocytes. The vitellogenic phase begins as these late perinucleolus oocytes become transformed into early maturing oocytes through the accumulation of yolk. The cytoplasm completely fills with yolk as oocytes reach the late maturing stage. Shortly before spawning the final hyaline stage of developing is reached.

Changes in the microscopic appearances of the ovaries were well correlated with changes in both gonadosomatic index and macroscopic appearance.

I. 서 론

최근에 Sneed 등 (1961), Jalabert (1976), Huat (1980) 가 금붕어 (*Carassius auratus*), Hirose 등 (1976, 1979) 이 넘치 (*Limanda yokohamae*), Howell (1983) 이 넘치 (*Limanda ferruginea*), Hirose (1976) 가 m-edaka (*Oryzias latipes*), Hirose 와 Ishida (1974), Hirose (1976, 1980), Hirose 등 (1977, 1983) 이 은어 (*Plecoglossus altivelis*), Jalabert (1976) 가 송어 (*S-*

almo gairdnerii), Suzuki 등 (1977), Oshiro 등 (1982) 이 미꾸라지 (*Misgurnus anguillicaudatus*), Kuo 등 (1979), Liao 등 (1979) 이 milkfish (*Chanos chanos*), Hunter 등 (1981/1982), Sower 등 (1982) 이 은연어 (*Oncorhynchus kisutch*), Ueda 등 (1983) 이 Amago Salmon (*Oncorhynchus rhodurus*), Epler 등 (1979), Courtois 등 (1986) 이 잉어 (*Cyprinus carpio*) 와 같은 어종의 경우 성성숙 및 배란이 호르몬 처리에 의하여 인위적으로 조절할 수 있는지를 조사하기 위해

서 여러 차례의 연구가 실시되었으며, Hirose 등(1977), Davis (1977), Bieniarz 등(1979), Foucher 등(1980), Ueda 등(1983), Aida(1983), Howell(1983)이 성선의 현미경적 형태(appearance)의 변화에 의한 oogenesis의 여러 과정을 조직학적으로 조사하였다. 이 결과는 성선자극호르몬과 steroid 성 호르몬이 성성숙 및 배란을 야기시키는 데에 효과가 있다는 것을 제시해 주고 있으며, 이 과정은 뇌하수체-난소 혹은 뇌하수체-interrenal-난소축에 의해 조절되는 것을 보여주고 있다.

본 연구는 HCG와 송어의 뇌하수체가 한국산 미꾸라지의 성성숙 및 배란에 주는 영향과 그에 따른 난소의 조직학적인 변화와 무게의 변화 그리고 난소내의 수분증가율을 규명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

본 연구에서는 체중이 8~15g(평균 10g)인 성성숙된 한국산 미꾸라지 암컷(22마리) 및 수컷(6마리)이 사용되었다. 1987년 5월 2일에 미꾸라지를 남대문 시장에서 구입하여 건국대학교 축산대학 어류 유전 육종학 연구실로 옮긴다음 수온이 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 인 하나의 수족관에 6개의 그물망으로 만든 각 실험군에 3~7마리씩 옮겨 넣은후 aeration을 충분히 시켜서 2주일동안 적응시킨다음 1987년 5월 16일부터 5월 26일까지 본실험을 실시하였다. HCG (Sigma Co. Ltd), 송어의 뇌하수체(trout gonadotropin extracts, TGE, Homogenizer(Kinematia GmbH Co., Swiss))를 이용하여 extract mixture를 제조하였다. 그리고 0.85% 생리식염수를 각각 1ml씩 근육내에 주사하였고 처리한지 2 혹은 4일후에 체중을 측정하고 다음 도살하였다. HCG를 처리한 군에서는 125, 250 혹은 500IU를 주입하였으며, 초회 주사(first injection)를 실시한지 2일후 복부에 부드럽게 압력을 가하여 배란여부를 확인하였고 배란된 물고기의 성선을 적출하였다. 배란이 안된 물고기에는 제 2차주사를 실시하였으며, 각각 50(초회 주사시 125IU), 125(250 IU) 혹은 250 IU(500 IU)의 HCG를 주입하였고 두번째 주사한지 2일후에 나머지 물고기의 무게를 측정하고 다음 도살하였다. 난소 및 정소를 적출하여 무게를 측정하였다. 송어의 뇌하수체 처리된 군에는 0.5, 혹은 1mg의 trout pituitary extract(TPE)를 주입하였으며, HCG 처리

군과 마찬가지로 초회주사를 실시한지 2일후에 도살시켰다.

난소내의 수분함량을 알아보기 위해서 난소조직 1g을 잘라서 24시간 동안 100°C 로 건조시킨후, 건조전과 건조후의 무게를 측정하였고, 체중의 손실차를 수분의 비율로써 나타내었으며, 조직학적 검사로는 H-E staining으로 X 100, 200, 400 그리고 600로 경검하여 chromatin condensation의 정도, 크기와 염색 특징(acidophilic, basophilic), nucleoli의 수와 germinal vesicle(GV=nucleus)의 위치(germinal vesicle breakdown, GVBD) (Liao 등, 1979; Bieniarz 등, 1979; Hunter 등, 1981/1982) 그리고 cytoplasm과 oocytes의 morphological appearance에 따라 oocytes의 maturation phase를 분류 결정하였으며 (Hirose 등, 1976; Hirose 등, 1977; Davis, 1977; Howell, 1983), inner structure가 붕괴되는 특징을 나타내는 oocytes를 resorbing oocytes (Liao 등, 1979)로 구분시켰다. Weight와 $G.S.I. < \text{성성숙 지수, gonadosomatic index, gonad weight(g)} * 100 / \text{body weight (g)} >$ 사이에 대해서는 correlation analysis를 이용하여 비교 분석하였다 (Hirose 등, 1976).

III. 결 과

배란, 체중과 난소의 무게, GSI 그리고 난소내 수분에 대한 HCG 혹은 송어의 뇌하수체 효과는 Table 1에 나타난 바와 같고, 125+50 IU HCG가 주입된 군에서는 2마리중 한마리도 배란이 일어나지 않았으나, 250+125 IU HCG 군에서는 3마리 모두 배란이 일어났다. TPE로 처리한 군에서는 0.5, mg인 경우 체중의 증가율이 8.88%이고 1.0mg인 경우에는 3.82%로 나타났으나, GSI는 0.5, 1.0mg 처리군에서 각각 2.01, 1.31을 나타냈으며 이는 HCG 처리군(125+50, 250+125 그리고 500+250 IU HCG/체중)에 대하여 각각 4.92, 5.49 그리고 4.98보다 일반적으로 작게 나타났다. HCG나 송어의 뇌하수체로 처리된 물고기의 경우 주사후 4~9% 정도로 체중이 증가하였고, 250+125 IU HCG 군의 경우 GSI 및 난소내 수분함량은 각각 5.49, 95.62로 이 값은 다른 군에 비하여 상대적으로 가장 크게 나타났으며, Fig. 1에 나타난 바와 같이 GSI와 체중의 증가 사이에는 양의 상관관계 ($r =$

Table 1. Effect of HCG or TPE on body and ovary weight, GSI, Ovarian water content in the loach

Group	No. of ovulated fish, after injection			Body weight		Total** gonad weight (g)	GSI	Water in ovary (%)
	No.	1st	2nd	Initial** (g)	Change (%/2days)			
Saline control	3	2	1	9.73±4.21,	5.22	1.66±0.59	4.41	51.66
HCG 125+50 IU	4	2	-*	11.67±4.19,	5.60	1.96±0.23	4.92	56.50
HCG 250+125 IU	3	2	1	12.03±1.57,	8.02	2.12±0.69	5.49	95.62
HCG 500+250 IU	7	2	5	8.91±3.32,	7.31	3.13±0.67	4.98	56.79
TPE 0.5mg	5	1	3	8.25±1.39,	8.88	0.48±0.18	2.01***	—
TPE 1.0mg	6	2	4	10.51±3.42,	3.82	0.99±0.12	1.31***	—

*:mortality

** :mean + standard deviation

***:including the weight of ♂ individuals

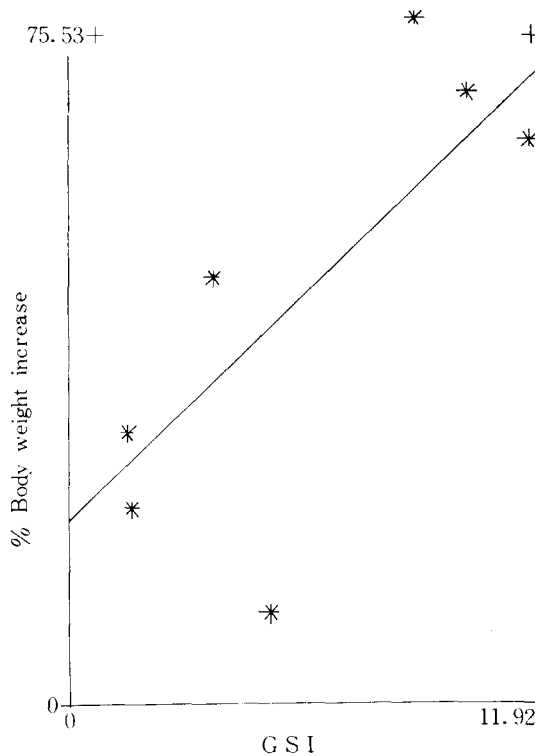


Fig. 1. Relationship between percent of body weight increase and GSI in the Korean loach treated with HCG OR TPE

0.72)가 있다.

Hirose 등(1977)은 Oogenesis를 4 단계로, Davis (1977)는 9 단계로 나누었고, Howell(1983)은 7 단계로 나누었으며, 본 연구에서는 세포의 세포학적 특징 (cytological characteristics)을 기초로 하여 8

단계로 나누었다. teleost oocytes가 거치는 발달 단계는 종과 종에 있어서 아주 유사하나 그 명칭이 다소 다르게 표현되고 있으며, 여기에서 사용되는 용어는 Bieniarz(1979), Epler(1979) 그리고 Howell(1983)이 사용했던 용어를 이용하였다.

여러가지 농도의 HCG와 TPE에 의해 나타난 발달 단계는 다음과 같다.

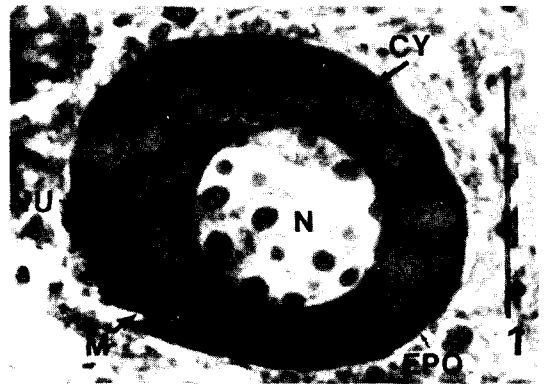


Fig. 2. Early perinucleolus stage, X600 CY: cytoplasm, EPO: early perinucleolus oocyte, LPO: late perinucleolus oocyte, M: mycropyle, N: nucleus, NU: nucleolus, RO: resting oocyte.

Stage I-Early perinucleolus(Fig. 2).:60-130 μ m, 핵의 형태는 타원형이고 크며, 염색질이 실처럼 가늘게 나타났다. 그리고 염색시 핵질은 호염기성을 띠고 있다.

Stage II-Resting(Fig. 3).:핵의 형태는 아직도 타원형이고 둥글며 그 크기는 40-70 μ m이다. 염색질은 과립의 형태를 나타내기 시작하며 염색시 약

한 호염기성을 띠고 있다.

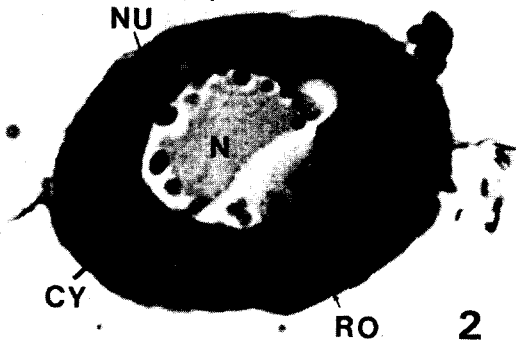


Fig. 3. Resting oocyte stage, X600. NU: nucleus, CY: cytoplasm.

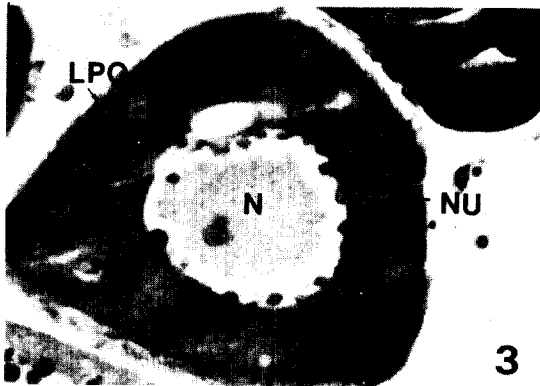


Fig. 4. Late perinucleolus stage, X600. M: mycopyle.

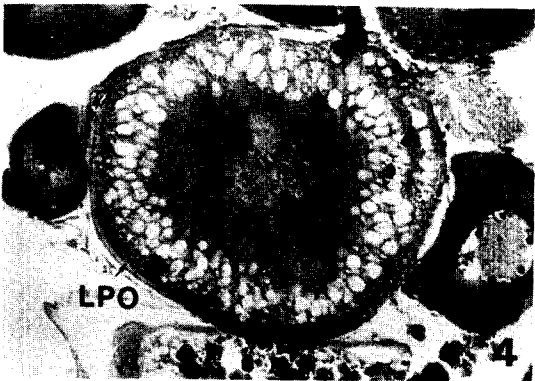


Fig. 5. Late perinucleolus stage, X600.

Stage III-Late perinucleolus (Fig. 4, 5): 핵의 형태는 둥글고 크며, 염색시 세포질은 2 가지 띠 (zones)를 띠고 있는데, 내측은 진한 호염기성을 띠고 치밀하며, 외측은 약한 호염기성을 나타내고 그렇

게 치밀하지 못하다. 2 가지 띠의 경계는 일반적으로 명확하게 구분되어 있지 않다.

Stage IV-Early maturing (Fig. 6, 7): 그 크기는 660-760 μ m으로써 중간형태를 나타내며 핵의 형태는 타원형이고 그 크기는 120-140 μ m이다. 핵막 바로 인접해서 호염기성을 띠고 있는 핵인이 위치해 있다. 세포질에는 yolk vesicle (Fig. 6) 즉 yolk globules (Fig. 7) 이 있다.

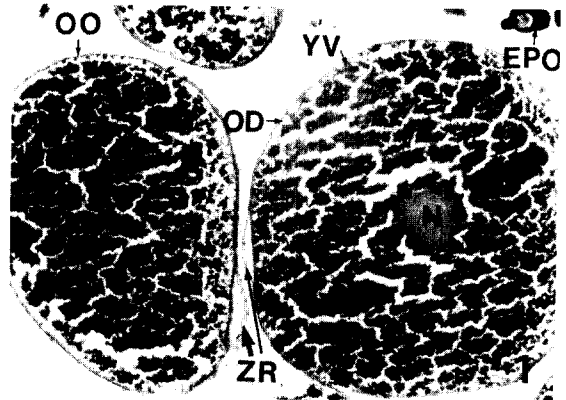


Fig. 6. Early maturing stage of the Korean loach with yolk vesicles or globules, X100. EPO: early perinucleolus oocyte, N: nucleus, OD: oil droplets, RO: ripe oocytes, YG: yolk granules or globules, YV: yolk vesicles, ZR: zona radiata.

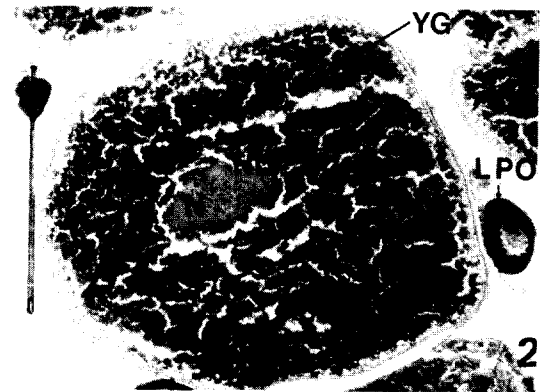


Fig. 7. Early maturing stage acquiring yolk, X100. LPO: late perinucleolus oocyte, N: nucleus, NU: nucleolus, YG: yolk vesicles.

Stage V-Late maturing (Fig. 8, 9, 10): 이 단계는 그 크기가 720-870 μ m로서 전단계보다 크고, 핵막은 명료하게 관찰되지 않으며, 염색시 핵질은 약

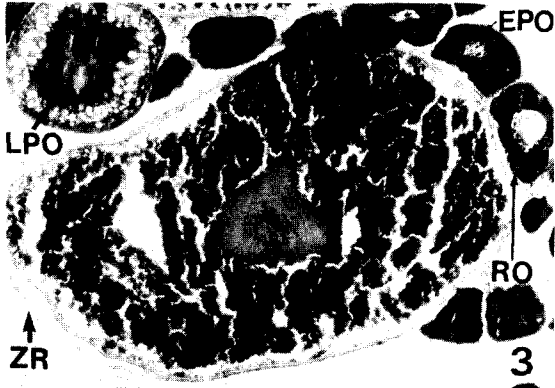


Fig. 8. Late maturing stage, X100. EPO: early perinucleolus oocyte, LPO: late perinucleolus oocyte, RO: resting oocyte, ZR: zona radiata.

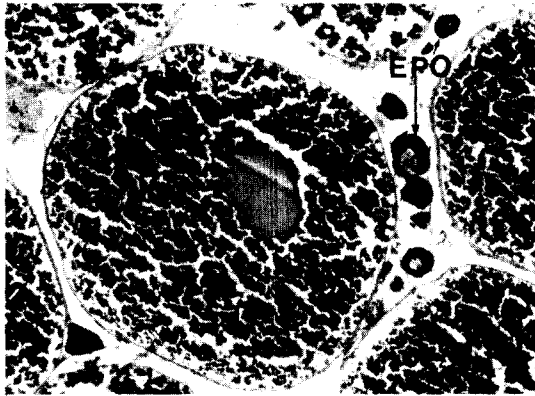


Fig. 9. Late maturing stage, X100. EPO: early perinucleolus oocyte.

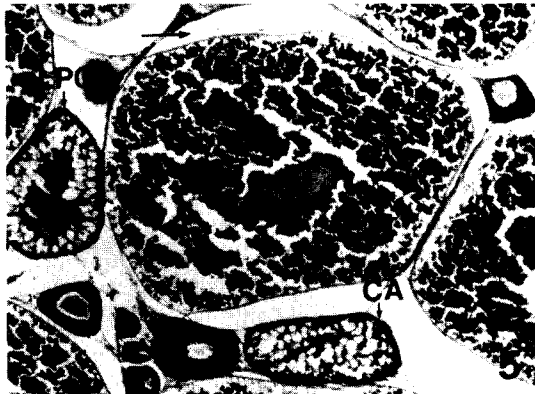


Fig. 10. Late maturing with hydrated, X100. arrowed: fluid-filled space, BM: basement membrane, CA: corpora atretica.

한 호산성을 띠고 핵 주위에 다수의 핵인이 위치해 있다. 핵의 크기는 30-220 μ m이며, yolk globules 이

세포질 내부를 가득히 채우고 있다.

Stage VI-migratory nucleus stage (Fig. 11) : 크기는 약 1mm이고, 이 단계의 핵은 세포질의 외측 (periphery) 부근에 위치해 있으며, 이 단계의 초기에 난황은 유착상태로 있게 된다.

Stage VII-Ripe (Fig. 12) : 크기는 약 1.2mm이며, 작은 oil globules 이 세포질에 일정하게 분포되어 있다. Germinal vesicle breakdown 이 발생하였으며, 바로 이 단계가 정상적으로 배란이 일어난 상태이다.

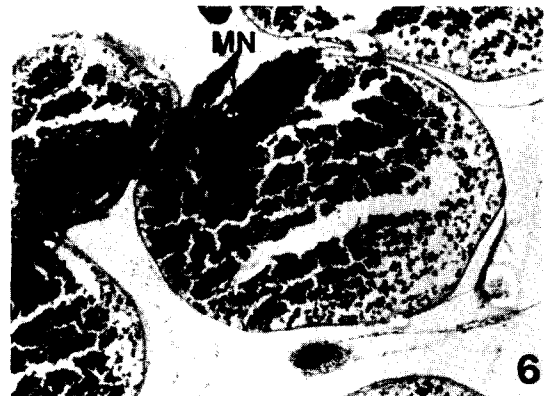


Fig. 11. Migratory nucleus stage of oocyte, X100, (migrating nucleus of late maturing oocyte or peripheral GV stage), MN: migratory nucleus.

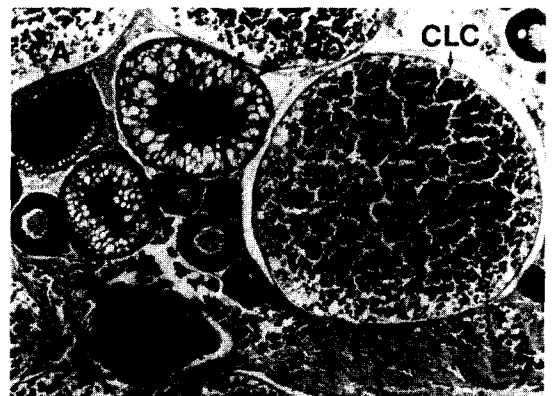


Fig. 12. Ripe stage, X100, (ovulated oocyte). CA: corpora atretica in a ripening loach, CLC: cortical layer of cytoplasm, LPO: late perinucleolus oocyte, OO: ovulated oocyte (ripe oocyte).

Stage VIII-Over-ripe (Fig. 13) : 이 단계에서는

oil globules 이 크며, 세포질의 degeneration과 shrinkage 가 발생하게 된다.

위 8 가지 발달단계 이외에 2 가지 형태의 regressing oocytes 가 있다.

Type I-Corpora atretica (Fig. 14) : 크고 불규칙한 형태를 나타내며, 그 크기는 일반적으로 170-260 μ m 이다. zona radiata 가 붕괴된 것을 제외하고 그 특징이 early maturing 혹은 late maturing oocytes 와 유사하다. Follicle cells 이 hypertrophy 하며, 염색시 약한 호염기성을 나타내고 있다. 비교적 적은 수의 yolk globules 이 존재하며 거의 없는 세포도 나타났다. 이 단계의 난모세포는 prespawning fish 에서 주로 발견되었다.

Type II-Resorbing (Fig. 15) : late maturing oocytes 와 그 특징이 유사하며 postspawning fish 에

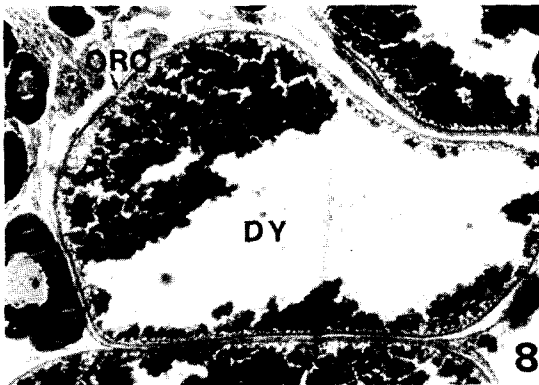


Fig. 13. Over-ripe stage, X100, (aggregation of oil globules). DY: degenerating yolk oil droplets, ORO: over-ripe oocyte.

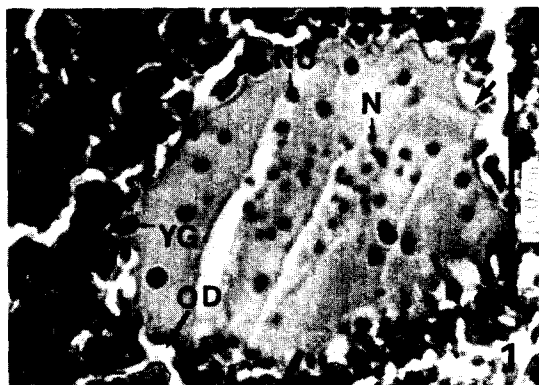


Fig. 14. The amplification of germinal vesicle, X600, GV: germinal vesicle, N: nucleus (small), NU: nucleolus (large), OD: oil droplets, YG: yolk granules or globules.

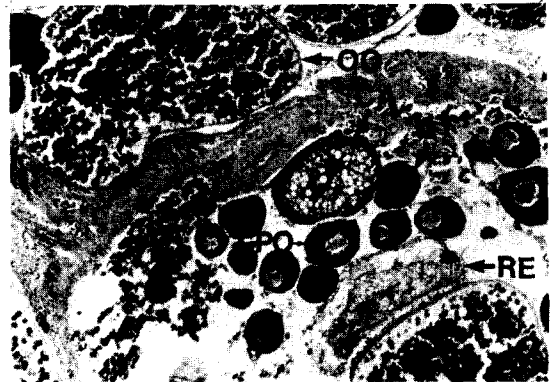


Fig. 15. The stage of vacuolation, X100. CA: corpora atretica, HY: hyaline oocyte, LPO: late perinucleolus oocyte, RE: resorbing oocyte, OO: ripe oocyte (ovulated oocyte).

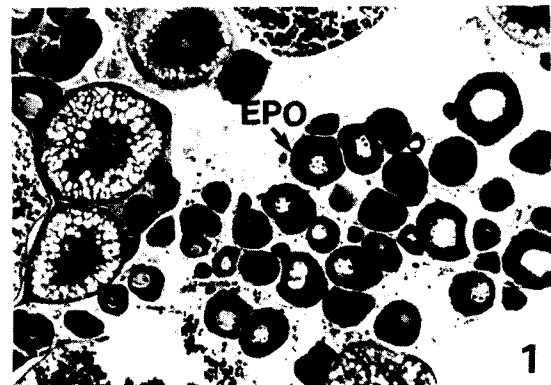


Fig. 16. Immature state, X100. The stage is filled with large amount of early perinucleolus oocytes. EPO: early perinucleolus oocyte.

서 주로 발견되었고 그 크기는 250-370 μ m 이다.

일부 oocytes 의 평균 직경은 HCG 와 TPE 의 주입량에 따라 다르게 나타났다 (Fig. 16, 17, 18, 19). o-ogonia 는 각 단계에서 항상 존재하나, 그 수량은 적은 경향을 나타내고 있다 (Fig. 16, 17, 18, 19). Early perinucleolus oocytes 는 모든 samples 에서 존재하나 125+50, 250+125, 500+250 IU HCG/체중, 0.5, 1.0mg TPE/체중에서 가장 풍부하게 나타났다 (Fig. 16). 대부분의 early perinucleolus oocytes 는 직경이 약 110 μ m 이며, 250+125 IU HCG 군에서는 그 크기가 140 μ m 이다. central germinal vesicle stage 에 있는 immature oocytes 는 resorbing oocytes 와 함께 있다 (Fig. 17, 18).

cytoplasmic zones 사이의 경계 (boundary) 는 확실

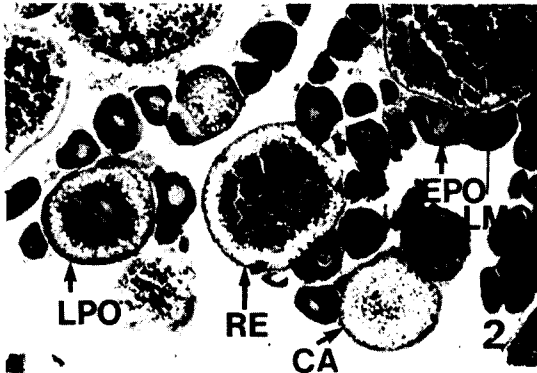


Fig. 17. This stage contain a variety of germ cells including EPO, LPO, LMO, X100. EPO: early perinucleolus oocyte, LPO: late perinucleolus oocyte, LMO: late maturing oocyte, CA: corpora atretica filled with large amount of oil globules, RE: resorbing oocyte.

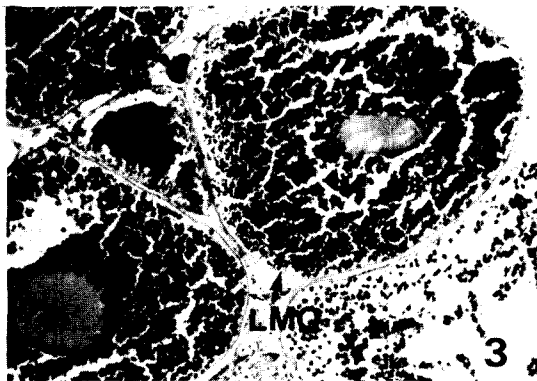


Fig. 18. Late maturing oocyte fully-filled with LMO, X100.

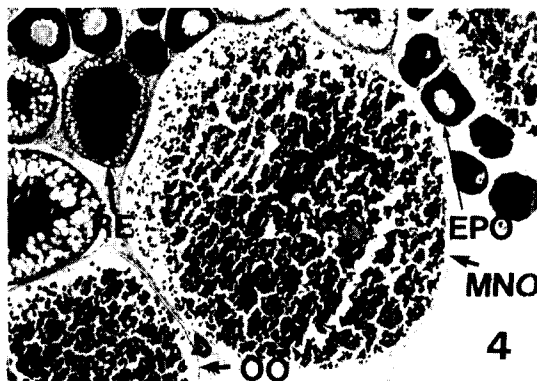


Fig. 19. OO: ovulated oocyte, X100. MNO: migrating nucleus oocyte, RE: resorbing oocyte.

하게 나타나지 않으며 나중에는 사라졌는데(Fig. 7), 이런 전이(transition)가 일어남에 따라 nucleoli의 수는 증가하였으며, 일부 oocytes에서 yolk vesicles의 peripheral ring이 cytoplasm에서 사라졌다(Fig. 13).

Early perinucleolus oocytes는 모든 군에서 관찰되었고(Fig. 16,17,18,19). 250+125 IU HCG군에서 감소되었다(Fig. 18). late perinucleolus oocytes는 follicle layer 바로 내측에 있는 cytoplasm에서 좁고 명료한 부분을 가지고 있다. early maturing oocytes는 증가하였고, resting oocytes는 250+125IU HCG군에서 감소하였다(Fig. 18). early maturing & late perinucleolus oocytes는 250+125, 500+250 IU HCG군에서도 존재하며, 125+50 IU HCG군에서는 적은 수가 존재하였다(Fig.16,17, 18,19).

Late maturing oocytes는 비교적 적은 수가 존재하고, 그 직경은 약 1mm이며, corpora atretica (Regressing Type I)는 125+50 IU HCG군에서 나타났다(Fig. 17).

IV. 고찰

본 연구에서 나타난 바와 같이 HCG와 TPE는 한국산 미꾸라지에 대하여 배란을 유지시키는데 매우 효과적이었다. 마리당 250+125 IU HCG가 처리된 경우 배란을 유지시키는데 가장 효과적으로 나타났고, 0.5mg의 송어 뇌하수체로 처리된 군에서 체중의 증가율이 250+125 IU 처리군과 거의 유사한 것으로 보아서 0.5mg의 송어 뇌하수체로 처리된 군에서 체중의 증가율이 250+125 IU 처리군과 거의 유사한 것으로 보아서 0.5mg의 송어 뇌하수체는 성숙된 미꾸라지의 배란유지에 있어서 250 IU HCG에 해당되고, 이 값은 25 IU HCG/g과 50 µg TPE/g(체중)이 효과있는 범위를 나타낸다고 사료된다. 이 수치는 Suzuki와 Yamaguchi(1977)의 10 IU HCG 경우보다 다소 높은 주사량을 나타내었다.

6-10 IU HCG/g(체중)으로 처리된 일본산 넘치, *Limanda yokohamae*, (Hirose, 1976)에서 배란이 유지되었으며, 이런 어류에서는 HCG를 적게 주입하는 경우 효과적으로 나타났다고 보고된 바 있으며, 은어, *Plecoglossus altivelis*, (Hirose 등, 1977; Hirose, 1980)의 배란 요구량에 대한 연구에서와 같이

미꾸라지, *Misgurnus anguillicaudatus*, (Suzuki 등, 1977) 는 약 20-25 IU HCG/g(체중)을 요구하였다.

송어와 같은 과에 속하는 연어 뇌하수체는 넙치 *Limanda yokohamae*, (Hirose 등, 1976)의 경우 5-10 μ g/g(체중)을 주입하였을 때 배란을 유기시키는데 효과가 있는 반면에 은연어, *Oncorhynchus kitchi*, (Hunter 등, 1981/1982) 는 33-66 μ g/g(체중)이 배란유기에 효과가 있고, 미꾸라지의 경우에는 송어의 성선자극호르몬이 50 μ g TPE/g(체중) 정도가 주입되어야 배란이 유기되었다. 이와 같이 은연어와 미꾸라지는 넙치보다 체중에 비하여 상대적으로 높은 양을 요구하고 있다.

체중의 증가는 호르몬 처리된 모든 군에서 확실하게 관찰이 되었으며, 250+125 IU HCG 처리군과 0.5 TPE로 처리된 군에서 각각 가장 크게 증가하였으며, HCG로 처리된 군의 경우 GSI와 체중 사이의 양의 상관관계($r=0.72$)가 또한 관찰되었으며, 이 수치는 K. Hirose 등(1976)의 상관계수($r=0.77$)와 아주 유사하게 나타났다. 체중의 증가는 연어의 뇌하수체가 주입된 대부분의 은어 (Hirose 등, 1974; Hirose, 1976; Hirose 등, 1977) 에서 이미 관찰된 것처럼 물의 섭취 및 흡수가 증가함으로써 난소 무게가 증가하는 것으로 사료된다. 이것은 결과적으로 물이 흡수되어 난모세포로 계속 이동하므로써 체중이 증가하는 것으로 사료된다.

한국산 미꾸라지에서 관찰된 발달단계는 대부분의 경골어류에서와 같이 매우 유사하다 (Hirose, 1976; Hirose 등, 1977; Davis, 1977; Howell, 1983) 난소의 발달은 다음 2 가지 단계로 나뉠 수 있다. 즉 첫번째, previtellogenic phase - 성장이 느리며 비교적 일부 cytoplasmic changes가 일어난다. 두번째로 vitellogenic phase로서 빠른 성장과 cytoplasm에 상당한 량의 yolk가 축적되어 있으며 (Bieniarz 등, 1979), 본 연구에서는 HCG와 TPE가 vitellogenesis를 야기시키는 것으로 사료된다 (Fig. 16, 17, 18, 19).

Previtellogenic phase는 early perinucleolus, resting, and late perinucleolus 발달단계가 포함되고 있으며, central GV와 peripheral GV 모두 vitellogenesis에 속한다. Kuo 등(1979), Howell(1983)은 cytoplasmic growth가 이루어지고 있는 early perinucleolus oocytes가 전체군에서 발견된다고 주장하

였으며, 본실험의 경우 어느 군에서나 나타났다 (Fig. 16, 17, 18, 19). Hirose 등(1977), Davis(1977), Bieniarz 등(1979), Foucher 등(1980), Ueda 등(1983), Aida(1983), Howell(1983)은 early perinucleolus oocytes가 oogenesis의 과정에서 initial stage에 나타난 바 있다고 주장하였으며, Foucher 등(1980)은 pacific hake (*Merluccius productus*)의 일부 oogonia가 배란이후 follicle cells에서 발생한다고 하였고, Howell(1983)은 sexual maturity 이전에 oogonia가 발생한다고 주장하였으며, Howell(1983)은 앞으로 oocytes로 되는 oogonia가 성숙된 물고기 난소에도 존재한다고 주장하였다. 산란이후 early perinucleolus oocytes로 빠르게 변형된다고 하였다 (Fig. 19).

Resting oocytes는 late perinucleolus oocytes로 변형되며 (Fig. I-4), nucleoli의 수가 감소하고 cytoplasm은 basophilic이 덜 된다는 것을 나타내고 있다 (Fig. 5, Fig. 6). 이런 변형 (transformation)이 일어나는 동안 cytoplasm내의 zonation은 사라지게 되며 nucleoli수는 증가하게 되고 cytoplasm은 basophilic이 적게 나타났다 (Fig. 6, 7).

Oogenesis의 vitellogenic phase는 early & late maturing types를 포함하고 있으며, late perinucleolus oocytes는 early maturing oocytes로 발달하기 시작하였다 (Fig. 5, Fig 6, 7). late perinucleolus oocytes 단계에서 vacuole-like structure가 cytoplasm의 periphery에서 관찰되었으며 (Fig. 5), 이 형태의 oocytes는 yolk vesicle, early (Lam, 1982), 혹은 primary vitellogenic (Bieniarz 등, 1979, Huat, 1980) 그리고 vacuolated (Bieniarz 등, 1979, Lam, 1982) oocytes로 설명되고 있다.

Bieniarz 등(1979), Epler 등(1979)은 이 stage에서 oocytes가 빠르게 성장하고 yolk를 축적시키게 되는 vitellogenesis의 초기 단계임을 확인하였으며, Davis(1977), Bieniarz(1979)는 vitellogenesis의 later stages의 경우 yolk vesicles은 oocytes의 periphery에 위치하고 있으며 cortical alveoli를 발생시키고 있으며, 이것은 수정후 난자의 water hardening에 기인한다고 주장하였다. zona radiata는 zona radiata 초기에 follicle cells과 cytoplasm 사이에서 볼 수 있다.

early maturing oocytes는 계속 발달하게 되며 yolk globules은 cytoplasm의 periphery 근처에 있

는 yolk vesicles로 발달되며 Huat(1980)는 이 globules이 protein, phospholipids와 fats로 구성된 yolk inclusions으로 되어 있다고 하였다. Yolk는 nucleus 쪽으로 계속 축적됨에 따라 early maturing oocytes의 평균 직경은 계속 증가하게 된다(Fig. 6, 7). late maturing oocytes는 hyaline oocytes로 변형되기 시작하며, 이 시기에 yolk globules은 yolk가 결합된 다음 파열되기 시작한다(Fig. 13). Lam(1982)은 fluid absorption(water hardening)이 일어나기 때문에 zona radiata는 얇아지기 시작한다고 주장하였다.

Howell(1983)은 일부 maturing oocytes는 fluid를 분비하게 되며(Fig. 10), ripe ovum이 배출된 이후에 나머지 follicle은 irregular mass 안에서 붕괴되어 크기가 감소하게 되며 결국 산란이후 즉시 사라지게 된다고 주장하였다.

일부 oogonia와 early perinucleolus oocytes는 계속 존재하게 되며 oogonia는 early perinucleolus oocytes로 계속해서 발달하게 된다. 적은 수의 perinucleolus와 early maturing oocytes가 또한 계속적으로 모든 군에 존재하게 된다. 적은 수의 late perinucleolus oocytes가 존재한다는 것은 early maturing oocytes로 모두 발달되는 것을 의미하지는 않는다. 적은 수의 early maturing oocytes가 이 경우에 나타난다.

2 가지 형태의 regressing oocytes는 매우 적으며, corpora atretica(Regressing Type I)은 단지 prespawning fish에서만 관찰되고 early or late maturing oocytes의 발달이 중단되기 시작할 때 형성되며 나중에 흡수된다. 본 연구에서는 검사된 oocytes의 약 2% 정도가 된다(Fig. 17). resorbing oocytes(Regressing Type II)가 그렇게 자주 나타나는 것은 아니며 단지 두 가지 형태만이 나타난다. regressing oocytes가 잘 나타나지 않는 것은 vitellogenic phase에 도달된 대다수의 oocytes가 계속해서 발달하여 spawning 기간동안에 방출된다는 것을 나타내고 있다. Howell(1983)은 산란이후 난소 내에서 발달이 더이상 진전되지 않은 oocytes는 빠르게 흡수된다고 주장하였다.

산란이후 발달이 시작된 oocytes는 oogonia, early perinucleolus, resting, and late perinucleolus developmental stages인 previtellogenic phase를 거치게 되고, vitellogenic phase 단계를 거친 oocytes는

그 이후 방출하게 된다. 이 단계는 late perinucleolus oocytes때부터 시작하게 된다. oocytes는 성숙하여 산란시기가 되면 cytoplasm내에 상당히 많은 yolk를 축적시키게 되고, late maturing stage에 도달하게 되며, 계속하여 yolk가 축적되면서 그 크기가 커지게 되어, spawning 시기에 late maturing oocytes stage를 거쳐서 그 후 산란하게 된다. Hirose(1976), Kuo등(1979) 그리고 Huat(1980)은 oocyte maturation이 GSI와 난소에 대한 macroscopic appearance의 변화와 일치하게 된다고 주장하였다.

Maturity stage II(Developing, spent)의 난소는 oogonia, early & late perinucleolus 그리고 early maturing oocytes만이 포함되어, 비교적 oocytes의 크기(60-130 μ m 직경)가 작다. Howell(1983)은 결국 이 시기의 oocytes가 maturing, hyaline oocytes로 존재하지 않고 크기가 비교적 작고 불투명하며, GSI는 매우 낮다고 주장하였다(Fig. 16, 17). Stage II(developing, maturing)의 난소는 발달된 early & late maturing oocytes가 존재하기 때문에 난소가 증대하게 되고, 노란색을 띠게 되며, granule 상태가 되고, GSI는 상당히 증가하게 된다(Fig. 18, 19). Hirose 등(1976), Kuo 등(1979), Huat(1980) 그리고 Howell(1983)은 GSI가 late maturing oocytes 시기에서 증가하게 되고, 그 크기도 커지게 되며, ripe stage IV에서는 GSI가 가장 크게 나타난다고 주장하였다.

V. 적 요

본 연구는 1987년 5월 2일부터 5월 26일까지 건국대학교 축산대학 어류 유전 육종학 연구실에서 체중 8-15g인 한국산 미꾸라지 28마리에 대하여 HCG와 TPE를 주입함으로써 발생하는 성성숙 및 배란유기 실험으로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 250+125 IU HCG가 처리된 암컷 3마리 모두가 성성숙 및 배란유기가 야기되었으며, 체중의 증가, GSI, 그리고 난소내 수분 함량은 각각 8.02%, 5.49, 95.62%로 다른 군에 비하여 가장 높은 수치를 나타냈으며, 25 IU HCG/g(체중)가 성성숙 및 배란유기에 가장 적절한 양으로 나타났다.

2. 0.5mg TPE/체중가 주입된 5마리중 4마리가 성성숙 및 배란유기가 일어났으며, 체중의 증가

을(8.88)은 1.0mg TPE/체중군의 체중증가율(3.82)보다 크게 나타났다.

3. HCG로 처리된 군의 경우 GSI, 체중의 사이에는 양의 상관관계($r=0.72$)가 있다.

4. 성성숙 및 배란유기에 있어서 50 μ g TPE/g(체중)을 주입하는 경우와 25IU HCG/g(체중)을 주입하는 경우 같은 효과를 나타내었다.

5. 미성숙된 미꾸라지에서 HCG와 TPE는 vitellogenesis를 야기시켰다.

6. 250+125 IU HCG군에서 vitellogenesis가 끝난 단계에 있는 oocytes는 resorbing oocytes(in the central germinal vesicle stage)는 감소하였으며, maturing oocytes(in the migratory germinal vesicle stage)는 증가하였다.

7. Early oocytes는 모든 군에서 관찰되었으나 250+125 IU HCG군에서는 감소되었다.

8. Early maturing oocytes와 resting oocytes는 250+125 IU HCG군에서 감소하였다.

9. early maturing과 late perinucleolus oocytes는 250+125, 500+250 IU HCG군에서 존재하였다.

10. Early perinucleolus oocytes의 염색질은 실과 같이 긴 형태를 띠고 있다가 발달 단계가 진행될수록 둥근 형태로 변화된다.

11. 핵인은 핵 주변에 흩어져 있다가 resting oocyte 단계부터 핵막 주변으로 이동하게 된다.

12. Early perinucleolus oocyte 단계에서 진한 호염기성을 지닌 세포질은 점차 옅은 색을 띠고 있다가 early maturing oocyte 단계부터는 호산성을 띠게 된다.

VI. 參考文獻

1. K.E. Sneed and H.K. Dupree, 1961. The effect of thyroidstimulating hormone combined with gonadotropic hormones on the ovulation of goldfish (*Carassius auratus*) and green sunfish (*Lepomis cyanellus*). *The progressive fish-culturist*, 179-182.
2. K. Hirose and R. Ishida. 1974. Induction of ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*, with LH-Releasing hormone (LH-RH). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 40(12): 1235-1240.
3. B. Jalabert. 1976. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*), and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 33:974-988.
4. K. Hirose, 1976. Endocrine control of ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*), and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 33:974-988.
5. K. Hirose, Y. Machida & M. Donaldson. 1976. Induction of ovulation in the Japanese flounder (*Limanda yokohamae*) with human chorionic gonadotropin and salmon gonadotropin. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 42(1): 13-20.
6. K. Hirose, R. Ishida & K. Sakai. 1977. Induced ovulation of ayu using human chorionic gonadotropin (HCG), with special reference to changes in several characteristics of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43(4): 409-416.
7. R. Suzuki and M. Yamaguchi. 1977. Effect of temperature on maturation of a cyprinid loach. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43(4): 367-373.
8. T.L. O. Davis, 1977. Reproductive biology of the freshwater catfish, *Tandanus tandanus* Mitchell, in the Gwydir River, Australia. I. Structure of the gonads. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 28: 139-158.
9. C.M. Kuo, C.E. Nash & W.O. Watanabe, 1979. Induced breeding experiments with milkfish, *Chanos chanos forskal*, in Hawaii, *Aquaculture* 18, 95-105.
10. I. Liao, J.V. Juario, S. Kumagai, H. Nakajima, M. Natividad & P. Buri. 1979. On the induced spawning and larval rearing of milkfish, *Chanos chanos* (Forsk.).

- Aquaculture, 18: 75-93.
11. K. Bieniarz, P. Epler, L. Thuy & E. Kogut. 1979. Changes in the ovaries of adult carp. Aquaculture, 17: 45-68.
 12. K. Hirose, y. Machida & E.M. Donaldson. 1979. Induced ovulation of Japanese flounder (*Limanda yokohamae*) with human chorionic gonadotropin and salmon gonadotropin, with special reference to changes in quality of eggs retained in the ovarian cavity after ovulation. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 45(1): 31-36.
 13. P. Epler, E. Marosz & K. Bieniarz. 1979. Effect of teleost pituitary gonadotropin on the in vitro maturation of carp oocytes, Aquaculture, 18: 379-382.
 14. K. Hirose. 1980. Effects of repeated injections of human chorionic gonadotropin (HCG) on ovulation and egg qualities in the ayu (*Plecoglossu altivelis*). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 4(7): 813-818.
 15. K.K. Huat. 1980. Stimulation of ovarian maturation in fish by sustained hormone preparation. Aquaculture, 29: 275-280.
 16. R.P. Foucher & R.J. Beamish. 1980. Production of nonviable oocytes by pacific hake (*Merluccius productus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci, 37: 41-48.
 17. E. M. Donaldson, G.A. Hunter & H.M. Dye. 1981/1982. Induced ovulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). I. Further studies on the salmon pituitary preparations, Aquaculture, 2: 117-127.
 18. S.A. Sower and C.B. Schreck, 1982. Hormone-induced ovulation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) held in seawater and fresh water. Can. J. Fish. Aquat. Sci, 39: 627-632.
 19. T.J. Lam. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci, 39: 111-137.
 20. T. Oshiro and T. Hibiya. 1982. Protease secretion of ovarian follicles in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, suggesting the presence of ovulation-inducing enzymes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 48(5): 623-628.
 21. H. Ueda, Y. Nagahama, F. Tashiro & L.W. Crim. 1983. Some endocrine aspects of precocious sexual maturation in the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 49(4): 587-59.
 22. K. Aida. 1983. Effect of LH-Releasing hormones on gonadal development in a salmonoid fish, the ayu. Bull. Japan Soc. Sci. Fish., 49(5): 711-718.
 23. K. Hirose, Y. Nagahama, S. Adachi & K. Wakabayashi. 1983. Changes in serum concentration of gonadotropin, 17 α -hydroxy progesterone and 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one during synthetic LH-RH-induced final oocyte maturation and ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 49(8): 1165-1169.
 24. W.H. Howell. 1983. Seasonal changes in the ovaries of adult yellowtail flounder, *Limanda feerruginea*. Fishery Bulletin, 81(2): 341-355.
 25. K. Aida, T. Kato & M. Awaji. 1984. Effects of castration on the smoltification of precocious male masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 50(4): 55-571.
 26. F. Courtois, F. Takashima & R. Billard. 1986. Stimulation of spermiation following repeated injection of carp pituitary homogenates in the carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52(6): 995-997.