

2배체와 3배체 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)의 생식소 발달

김봉석 · 안철민* · 김동수

부산수산대학교 양식학과
*부산수산대학교 해양생물학과

Histological Studies on Gonad and Germ Cell Development of Diploid and Triploid Mud Loach (*Misgurnus mizolepis*)

Bong-Seok Kim, Cheul Min An* and Dong Soo Kim

Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

*Department of Marine Biology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

A Study was conducted by using a histological method to examine gonadal development in diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis*.

Shape of ovaries from both groups looked like a single mass however, size of triploid ovary was significantly smaller than that of diploid ovary. Testis of triploid was also similar that of diploid in shape, but it was smaller than that of diploid. Ovarian development and oogenesis in diploid were significantly more rapid than those process in triploid, and first matured eggs were observed 100-days after hatching (SL, 5.68 cm). Triploid ovary from hatching to 9-month-old had external appearance of undeveloped gonad and a few of oocytes of perinucleolus stage. However, normal matured eggs like those of female diploid were observed in one 5year-old triploid fish ovary examined. Although testicular development and spermatogenesis of diploid were prosperous sexually, testicular development of triploid were rather retarded compare to their male diploid counterpart in spermatogenesis.

서 론

3배체 어류의 생식소에 관한 연구는 Purdom (1972)이 plaice×flounder의 잡종 3배체 난소가 잡종 2배체 보다 매우 적은 수의 난모세포를 가지고 생식소 속도지수도 2배체보다 낮다고 보고한 이래, 3배체 어류는 정상적인 생식소 발달을 하지 않아 생식소 속도 지수가 낮고, 무정자 및 이수체 배우자를 생산하므로 기능적 불임을 나타낸다고 알려져 왔다(Yamaha and Onozato 1985 ; Allen et al. 1986). 그러나

3배체 어류들의 생식소에 관한 연구가 활발해지면서 Kawamura et al. (1995)은 3배체 어류의 생식 생물학적 특성을 배우자형성 정도에 따라 크게 세가지 부류로 나누고 있다. 첫째는 암, 수 모두 배우자를 생산하지 않는 경우로 가장 일반적인 현상이고(Suzuki et al. 1985 ; Ueno 1989), 둘째는 수컷은 정자를 생산하지만, 난자는 생산하지 않는 경우로 일부 어류에서 보고되고 있으며(Allen et al. 1986 ; Ueno 1989) 셋째는 극히 드문 현상으로 암, 수 모두 수정 능력을 가지는 경우이다(Van Eenennaam et al. 1990).

미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*는 최근 경제성이 매우 높은 고급 양식대상어종으로 각광을 받으면서 생산성 향상과 관련하여 염색체 조작(chromosome manipulation) 연구가 이루어지고 있다. Kim et al. (1994)은 미꾸라지 3배체의 성장 및 생식력 조사를 통해 부화후 9개월된 수컷의 정소 조직 내에서 정자가 형성됨을 보고한 바 있다. 아울러 김과 김(1995)은 3배체 미꾸라지의 생식생물학적 기초 조사로 행한 초기 생식세포 및 원시생식소 형성과정에 관한 연구에서 3배체가 2배체와 유사한 발달 양상을 나타냈다고 보고하고 있다. 따라서 본 연구는 3배체 미꾸라지의 생식소 발달 양상이 2배체와 비교하여 어떤 차이를 나타내는 지 조사하기 위하여 생식소 수준에서 미꾸라지 2배체 및 3배체를 대상으로 조직학적 조사를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 친 어

실험에 사용된 친어는 부산수산대학교 어류 육종학 연구실에서 사육해 온 성숙한 2년산 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*로 암컷은 체장 157.0 mm 및 165.0 mm인 2마리, 수컷은 체장 92.0 mm 및 100.0 mm인 2마리였다.

2. 산란 유도 및 수정

산란 유도 및 수정은 김과 김(1995)의 방법에 따랐다.

3. 3배체 유도 및 사육

Kim et al. (1994)의 방법에 따라 수정 5분후 수온 $2.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 60분간 저온 처리하였으며 처리가 끝난 수정난은 25°C 의 사육수에서 부화시켜, 200 l 순환여과식 수조 내에서 자연 광과 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 수온하에서 잉어용 배합사료와 실지렁이를 급이하여 사육하였다. 그리고 3배체 판정은 적혈구 세포의 크기와 염색체 수 조사를 통해 실시하였다.

4. 조직학적 분석

생식소 구분 시기부터 부화후 9개월 까지 5일 또는 10일 간격으로 매 회 10마리를 Bouin's 용액에 24시간 고정후 70% ethanol에 보존하면서 조직 분석 시료로 이용하였다. 생식소 관찰을 위해 paraffin 절편법을 사용하여, 초기에는 어체 전체를 고정·포매하였고, 생식소 분리가 육안으로 가능한 시기부터는

생식소만을 절취하여 5 μm 두께의 파라핀 연속 절편을 만들었다. 조직 표본은 Mayer's hematoxylin-eosin으로 비교 염색을 행하였다.

다년산 3배체의 생식소 발달 유무를 조사하기 위해 3배체 유도 이후 3~5년간 실내에서 사육해 온 암컷 2마리(체장 13.2~15.1 cm, 체중 20.88~24.8 g, 생식소 중량, 1.8 g)와 수컷 3마리(체장 11.2 cm, 체중 16.2 g, 생식소 중량 1.3 g)를 자연 성숙 시기인 1994년 5월에 조직 분석 시료로 이용하였다.

난소발달과정의 단계는 난소구분시기 부터 4단계로 나누어 2배체와 3배체를 비교하였으며, 정소발달과정은 정소구분시기 부터 3단계로 나누어 2배체와 3배체를 비교하였다.

5. 통계학적 분석

2배체와 3배체간 모든 자료는 유의성 검증을 위해 Student *t*-test를 행하였다.

결 과

1. 생식소의 외부 형태

2배체 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*의 배설공(cloaca)은 장관을 통하여 개구되는 돌기형의 항문(anus)과 그 직후부에 따로 개구되는 비뇨생식공(urogenital pore)으로 구성되어 있었다. 비뇨생식공은 개구부의 약 5 mm 전방에서 중신관으로부터 이어진 수뇨관과 생식소에서 이어진 생식수관이 합일되어 개구되고 있었다(Fig. 1A). 3배체 배설공의 구조와 형태는 2배체와 동일하였다.

2배체 암컷의 난소는 비뇨생식공에서 체강벽을 따라 앞쪽으로 신장하면서 하나로 융합되어 소화관을 감싸면서 발달하였으며(Fig. 1B), 2배체 수컷의 정소는 한 쌍의 간상으로 신장과 소화관사이에서 앞쪽으로 발달하고 있었다(Fig. 1C).

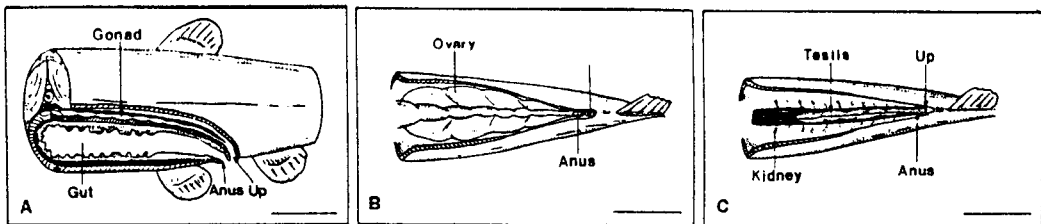


Fig. 1. Diagrammatic sketch of cloaca, and external morphology of gonads in diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis*. A: side view of urogenital pore (Up) and anus, B and C: ventral view of female (B) and male (C) of diploid. Bars of diagrammatic sketch indicate 10 mm.

3배체 암컷의 난소는 1년어에서는 얇고 투명한 나뭇잎 모양으로 나타났으나, 3년산에서는 길이 5 cm, 폭 4.5 cm 인 원통형의 난소로 나타났다. 5년산 3배체의 난소는 약 5.8 cm의 길이로, 담홍색의 난들이 난막을 통해 보여 외형상 성숙한 2배체 난소의 특징과 유사하였다. 3배체 수컷의 정소는 2배체 정소보다 크기만 작을 뿐, 외형상 2배체 정소와 같았다.

2. 난소 발달

난소로 인정되는 생식소는 2배체에서는 부화후 25일된 평균 체장 24.33 mm, 3배체에서는 부화후 30일된 평균 체장 31.12 mm인 치어에서 나타났으며, 이들의 분화 양상은 거의 동시에 난소와 정소로 구분되는 분화형 생식소 발달 과정(differentiated gonadogenesis)을 나타내었다.

2-1. 생식소 구분기 및 분열 증식기(multiplication phase)

2배체 : 부화후 25일 평균 체장이 24.3 mm인 개체들의 생식소는 한 쌍으로 결체성 섬유막에 의해 체벽에 폭넓게 발달해 있었다. 난소 내에는 빈약한 핵질을 지닌 난원세포들이 한 층으로 수질부를 점유하고 있었다(Pl. I-A). 이들 난원세포들은 난소의 성장과 더불어 난소 내에서 여러 층으로 분포하면서 분열 증식하고 있었다.

3배체 : 부화후 30일 평균 체장이 31.1 mm인 개체들의 난소 내에 난원세포들이 체세포성 섬유로 된 기질막에 싸여 있었고, 난소 내 양극단과 아래쪽에는 2배체에 비해 비교적 많은 체세포들이 분포하고 있었다(Pl. I-B). 또 다른 생식소 내에는 뚜렷하게 식별되는 소낭 내 질은 핵을 지닌 난원세포들이 발달하고 있었고(Pl. I-B, inset), 부화후 35일 이후 3배체 난소는 2배체와 같이 좌우 양 쪽이 융합되었으나, 부화후 80일 전까지 난원세포들로 머물러 있었다.

2-2. 제1차 성장기(primary growth phase)

1차 성장기 난소의 특징인 염색인기 및 주변인기 난모세포를 가진 난소는 2배체에서는 부화후 35일에서 60일된 개체들에서 관찰되었다. 그러나 3배체에서는 부화후 80일 이후의 개체들에서 1차 성장기 난소가 식별되었으나, 2배체에서 성숙기에 도달한 실험 종료시(부화후 270일)까지도 제1차 성장기 상태를 유지하고 있었다.

2배체 : 평균 체장이 29.4 mm인 부화후 35일된 치어들의 난소는 좌, 우가 부분적으로 융합되어 나타났다. 난소 내 수질부에는 염색인기의 난모세포들이 2~3층으로 발달하고 있었다. 이들 염색인기 난모세포의 핵 중앙에 직경 2 μm 내외의 단일인이 있으며, 핵질에는 염색사들이 실날같이 퍼져 있었고 세포질은 hematoxylin에 농염되는 특징을 갖고 있었다(Pl. I-C, inset). 평균 체장 31.8 mm인 부화후 45일된 개체들의 난소는 이미 좌,우 난소가 융합되었고, 높이가 비후되었으며, 그 속에 난모세포들은 직경이 약 50.2 μm 로 성장하고 있었다. 이들 난모세포의 세포질은 hematoxylin에 농염되어 있었다(Pl. I-C).

부화후 60일된 치어들의 융합된 난소는 복강으로 내려오는 말발굽 형태를 나타냈다(Pl. I-E, inset). 난모세포들은 핵 내에 호염기성의 염색인들이 핵막을 향해 이동하는 것과 이미 핵막을 따라 일정하게 배열되어 있는 전형적인 주변인기 난모세포들로서 난소의 내부 전반에 걸쳐 3~4층으로 구성되어 있었다. 난경 119 μm 으로 성장한 난모세포들은 세포질이 hematoxylin에 농염되어 나타났고, 세포질 내에는 직경 11 μm 인 구형의 호염기성 난황핵이 핵막 주변에서 식별되고 있었다(Pl. I-E).

3배체 : 부화후 80일된 평균 체장 63.2 mm 개체들의 융합된 난소에서는 난소강이 뚜렷하게 식별되었고 난소강 위쪽으로 생식세포층, 아래쪽으로는 체세포층으로 구분되었다. 염색인기 난모세포는 난소강 위쪽의 난소 수질부를 따라 부분적으로 식별되었으나, 그 수는 2배체에 비해 매우 적었다. 이들 난모세포들의 핵질은 빈약하였으나, 세포질은 hematoxylin에 짙게 염색되어 나타났다. 그러나, 난소의 위쪽 피질부에는 대부분 난원세포들로 채워져 있었다(Pl. I-D).

평균 체장 73.8 mm의 부화후 100일된 치어들의 난소는 구분이 불분명한 소낭내에 구형의 비교적

큰 핵을 지닌 난원세포들과 많은 체세포들로 구성되어 있었다. 극히 일부의 난모세포들이 주변인기 난모세포로 발달하였으나(Pl. I-F), 실험 종료시기 까지 직경 150 μm 내외로 성장한 난모세포가 식별될 뿐, 더 이상 발달한 난모세포는 관찰할 수 없었다.

2-3. 제2차 성장기(secondary growth phase)

2배체에서 부화 후 80일부터 90일의 비교적 짧은 시기에 난황포기의 난모세포들이 관찰되었다.

평균 체장 53.8 mm 인 부화후 80일된 개체들의 난소 내에는 직경 200 μm 전후로 성장한 난모세포들이 대부분을 차지하고 있었고 이들의 세포질 내에는 난황포들이 나타났다. 난황포들은 초기에 세포질의 피질부에서 소포상으로 나타났으나, 난모세포가 성장하는 동안 세포질 내의 난황포들은 점차 그 수가 증가하여 피질부로부터 세포의 내질로 확산되어 갔다. 이들 난모세포의 피질부에는 직경 40 μm 내외의 난황핵이 나타났으며 주변에는 초기 성장중인 주변인기 난모세포들이 분포하고 있었다(Pl. I-G).

2배체에서 부화후 90일~100일사이에 난황형성기의 난모세포들이 관찰되었다.

평균 체장이 55.76 mm 인 부화후 90일된 개체들의 난소내 난모세포는 세 단계로 구분되는 비동시성 발달 단계를 나타냈다. 첫번째 난모세포 군은 난경이 340~400 μm 전후로 이들 세포질의 염색성은 약한 호산성으로 변하고 있었다. 이 시기에는 호산성 반응을 보이는 작은 난황과립들이 핵막 주변의 내질층에서부터 출현하여 피질층으로 확산되어 갔다. 따라서, 이 시기의 난모세포 세포질은 핵 주변의 염기성 세포질, 수질부의 난황과립층 그리고 피질층에 나타나는 한 두 층의 난황포층으로 구분되고 있었다. 그리고, 이들 난모세포 외부에 방사대(zona radiata)가 나타났으며 2~3층의 여포층이 방사대 외측에 발달하였다. 두번째 난모세포 군은 난경이 130 μm 내외로 난황핵이 세포질의 핵막 주위에 나타나고 있는 주변인기 및 난황포기의 난모세포들로 이들은 생식소의 가장자리에 위치하고 있었다. 세번째 난모세포 군은 난경이 52~60 μm 로 염색인기의 난모세포가 주류를 이루고 있고, 이들은 융합된 난소의 양 극단과 첫번째 난모세포군들 사이에 위치하고 있었다.

2-4. 성숙기(maturation phase)

2배체 : 평균 체장 58.7 mm 인 부화후 100일된 개체들의 난소 내에는 핵막 가까이 까지 호산성의 난황구들로 가득 차 있었고, 방사대는 더욱 비후된 성숙 난모세포들이 대부분 차지하고 있었다. 또 다른 개체의 난소 내 난모세포는 난황축적이 완료됨으로써, 난황구들이 융합하여 균질상을 이루고 있었다. 부화후 120일된 개체들의 난소에서는 성숙한 난모세포들이 관찰되었는데 난모세포는 세포질 중앙에 있던 거치화된 핵이 동물극 쪽으로 이동하고 있는 배포이동기(germinal vesicle migration stage)의 특징을 나타내고 있었다(Pl. I-I). 부화후 150~270일 사이의 개체들의 난소 내 난모세포들은 핵이 동물극으로 이동중인 것과 이동이 완료된 후 배포 파열이 일어나 핵질과 세포질의 구분이 어려운 완숙한 난모세포들로 이루어졌다.

2-5. 다년산 3배체 암컷의 난소 성숙

3년산 3배체 난소의 횡단면은 근섬유 외막의 상부 생식 상피를 따라 피질부에서 수질부로 발달하는 소낭속에 비교적 큰 핵을 지닌 난원세포들이 점유하고 있었다. 그러나 융합된 타원형의 난소 중앙과 아래쪽에는 호산성 및 호염기성 염색 물질에 매우 약하게 반응하는 폐쇄난모세포(직경 250 μm 내외의 물질 덩이)들로 구성되어 있었으나, 이들 물질의 핵 구분은 매우 어려웠다(Pl. I-H)

5년산의 3배체 난소는 최대 직경 660 μm 내외인 난모세포 내에 난황 축적이 완료되어 난황구가 균질화되어 있는 성숙난을 비롯하여 직경 220~270 μm 의 난황포기 난모세포군, 그리고 직경 120~150

µm의 제1차 성장 난모세포들이 고루 발달하고 있어 2배체와 유사한 비동시(asynchronous) 난 발달상을 보였다(Pl. I-J)

3. 정소 발달

부화일수에 따라 정소 구분기 부터 정소 발달과정을 분열증식기, 성숙분열기 및 변태기에서 비교한 결과는 다음과 같다.

3-1. 분열증식기

2배체 : 평균 체장 24.3 mm인 부화후 25일된 치어들에서 조사된 10마리중 5마리가 수컷으로 구분되었다. 소엽구조가 발달한 초기 정소에서 정원세포들이 하나의 소엽 내에 2~3개씩 발달하고 있었다(Pl. II-A).

3배체 : 평균 체장 31.1 mm인 부화후 30일된 개체들의 정소 내에 여러 개의 소엽으로 구성된 소엽 구조가 발달하고 있어 정소로의 발달이 식별되었다. 정소 소엽은 빈약한 핵질을 지닌 분열 증식중인 3~4개의 정원세포들로 이루어져 있었다(Pl. II-B).

3-2. 성숙분열기

2배체 : 부화후 30일 이후 정소는 크기와 소엽의 수가 증가하였고 소엽 내에는 정모세포가 주류를 이루고 있었다(Pl. II-C). 평균 체장 38.5 mm인 부화후 60일된 개체들의 정소는 각 부위에 따라 다른 발달 단계를 나타내 보였다. 그러나 일반적인 발달 양상을 나타내보이는 생식소의 중앙부는 핵질이 응축되어 정세포들이 분포하고 있었다(Pl. II-E).

3배체 : 평균 체장 42.0 mm인 부화후 50일 된 치어들의 정소 내에 정모세포들이 발달하고 있었다. 정모세포들이 발달한 소엽들의 외부를 체세포와 결체성 섬유조직들이 감싸고 있었다(Pl. II-D). 평균 체장 45.7 mm인 부화후 60일된 개체들의 정소는 정모세포가 대부분의 소엽을 점유하고 있었으며 세포질이 약한 호염기성을 나타내었다. 정소가 복강으로 발달하는 앞쪽의 일부 소엽에서는 핵과 세포질의 크기가 감소하며 hematoxylin에 짙게 염색되는 정세포가 나타나 정세포기로 이행되는 구조를 나타내 보이고 있었다(Pl. II-F). 평균 체장 55.2 mm인 부화후 70일된 개체들의 정소는 대부분 정세포로 발달해 있었다. 이 시기에는 정원세포, 정모세포 그리고 정세포가 균일하게 관찰되는 다양한 발달 단계의 생식세포군들이 뚜렷하게 식별되었다. 정세포는 2배체의 정세포에 비해 비교적 많은 세포질을 갖고 있으나, 세포질과 핵질이 응축되어 핵이 hematoxylin에 농염된 과립상으로 나타나는 정세포의 특징을 나타내고 있었다.

3-3. 변태기

2배체 : 정자는 부화후 80일된 개체들의 정소내부에서 정모세포와 정세포와 함께 식별되었고, 부화 90일이후에는 정자 형성이 매우 급격하게 이루어지고 있었다. 부화후 90일된 정소 내에는 응축된 정자 두부가 밀집된 정자괴, 변태과정 중의 정세포군, 핵 내 염색질이 고루 퍼져 성숙 분열중인 정모세포군 그리고 핵질과 세포질이 빈약한 정원세포군이 다양하게 식별되고 있었으며, 매우 치밀한 구조를 보이고 있었다(Pl. II-G). 성숙한 정소 소엽들 사이에는 타원형 내지 다각형의 간질 세포들이 나타났고, 소엽 기부에는 cyst cell이 분포하고 있었다(Pl. II-I). 부화후 120~210일된 개체들의 정소 내에는 대부분이 변태를 완료한 정자로 채워져 있었다.

3배체 : 부화후 150일의 정소에는 2배체와 동일하게 성숙 정자들이 식별되었다(Pl. II-H). 또한 타원형 내지 다각형의 소엽간 간질세포들이 발달하고 있었고 소엽기부에는 cyst cell이 분포하고 있어 이들은 형태나 구조적인 면에서 2배체와 유사한 특징의 활성을 보이고 있었다(Pl. II-J).

3-4. 실내 사육한 다년산 3배체 수컷의 정소

다년산 3배체 정소 역시 소엽내에 성숙 정자들이 식별되었다. 그러나, 정자의 크기가 2.35 μ m 내외로서 2배체에 비해 매우 컸으며, 크기의 변화 폭 역시 2배체에 비해크게 나타났다(Pl. II-J).

4. 생식소 발달에 따른 생식 세포의 크기 변화

4-1. 난소 발달에 따른 생식 세포의 크기 변화

난소 발달에 따른 2배체와 3배체간 생식세포의 크기 변화는 Table 1과 같다. 2배체의 난원세포와 핵의 직경은 약 13.31 μ m 및 10.35 μ m, 3배체에서는 약 18.03 μ m 및 11.27 μ m 였다. 그러나, 2배체의 염색인기 난모세포들의 세포와 핵의 직경은 49.08 μ m 및 22.41 μ m로 3배체의 27.55 μ m 및 15.46 μ m보다 크게 나타나기 시작했다. 2배체 소형군의 주변인기 난모세포와 핵의 직경은 90.09 μ m 및 49.82 μ m, 3배체 난모세포의 76.06 μ m 및 38.08 μ m였고, 대형군은 각각 202.91 μ m, 105.49 μ m였다. 2배체의 난황포기 난모세포와 핵의 직경은 각각 246.99 μ m, 93.70 μ m크기였으며, 난황구기 난모 세포와 핵의 직경은 각각 426.40 μ m, 108.90 μ m이었다. 성숙한 난모세포들의 직경은 자연에서 성숙한 개체의 성숙 난경인 평균 657.75 μ m에 근접한 653.90 μ m였다.

Table 1. Size comparisons of germ cells between diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis* according to ovarian development

Stage	Diploid		Triploid	
	Cell (μ m)	Nucleus (μ m)	Cell (μ m)	Nucleus (μ m)
Oogonia	13.31 \pm 10.35	10.35 \pm 0.65	18.03 \pm 2.01**	11.27 \pm 1.84
Chromatin-nucleolus oocyte	49.08 \pm 14.24**	22.41 \pm 4.42**	27.55 \pm 5.46	15.46 \pm 3.64
Perinucleolus oocyte***	90.09 \pm 35.31	49.82 \pm 20.39	76.06 \pm 48.96	38.08 \pm 19.62
	202.91 \pm 24.99**	105.49 \pm 13.62**		
Yolk vesicle oocyte	246.99 \pm 39.06	93.70 \pm 28.93	—	—
Yolk granule oocyte	426.40 \pm 62.31	108.92 \pm 15.77	—	—
Mature oocyte	653.90 \pm 44.21	97.64 \pm 57.58	—	—

*Means \pm s.d. ; **Means differ at P < 0.05 ; ***Data in diploid from large size group and small size group.

4-2. 정소 발달에 따른 생식 세포의 크기 변화

정소 발달에 따른 생식 세포 핵의 크기 변화는 Fig. 2와 같다. 정원세포 핵의 크기는 2배체에서 4.40 μ m, 3배체에서 5.48 μ m이었다. 정소 소엽내 제1차 정모세포와 제2정모세포 핵의 크기는 2 배체에서 3.88 μ m 및 3.58 μ m, 3배체에서는 5.35 μ m 및 4.30 μ m이었으며, 정세포 핵의 크기는 2배체에서 1.71 μ m, 3배체에서 3.50 μ m이었다. 정소내 정자 두부의 직경은 2배체에서 1.51 μ m이었고, 3배체에서는 약 2.35 μ m으로 나타나 2배체와 3배체간 수컷 생식세포 크기는 전반적으로 유의한 차를 보였다(P < 0.05).

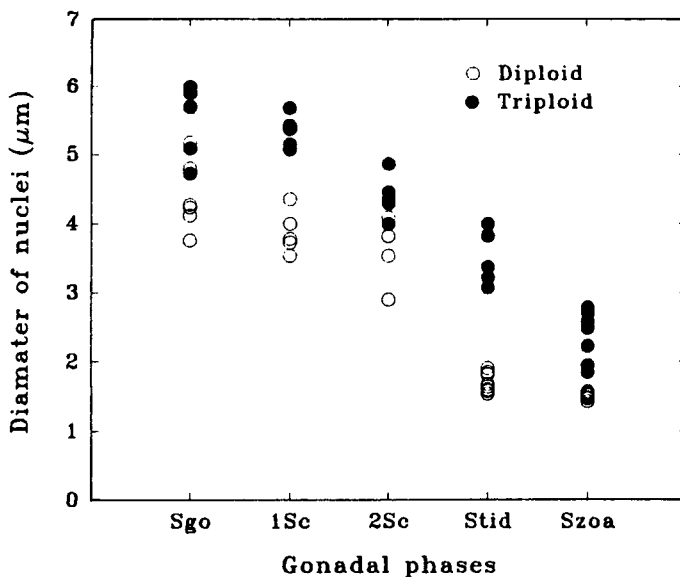


Fig. 2. Nuclear size comparison of germ cell in diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis* according to spermatogenesis. Abbreviations, Sgo : Spermatogonia, 1Sc : Primary spermatocyte, 2Sc : Secondary spermatocyte, Stid : Spermatid, Szoa : Spermatozoa.

고 찰

어류의 성분화는 성적 미분화 상태에서 개체 발생이 진행됨에 따라 정소 또는 난소의 형태적 특징을 갖추는데, 이들 중 초기 생식소의 형태 차이에 의한 암, 수 구별은 잉어과의 초어, *Ctenopharyngodon idella*를 위시한 난소가 정소보다 복막에 부착부위가 넓은 형(Jensen and Shelton 1983)과 드물게 나타났지만 yellow perch, *Perca flavescens* 와 같이 정소는 2엽으로 분화되고 난소는 융합되는 형(Malison et al. 1986)으로 대별된다. 본 연구에서의 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*의 경우 양 성이 구분되면서 좌, 우 한 쌍의 생식소가 결체성 섬유 조직에 의해 융합되어 나타나는 난소는 체벽에 관상으로 메달려 있으면서 소엽구조를 보이는 정소에 비해, 복막의 부착 범위가 넓고, 난원세포가 난소의 수질부를 따라 배열하고 그 하부에 난소강이 형성되는 것으로 정소와 구분이 가능하였다. 3배체 미꾸라지의 난소는 2배체의 난소처럼 비록 충분히 발달되지는 않았으나, 형태적으로 2배체 난소와 유사하였는데, 난소가 융합되어 단일 기관으로 나타나는 난소의 특징은 *Cobitis* 속 어류의 특징으로 보고되고 있다.

3배체 미꾸라지의 생식소 발달 결과는 김과 김(1995)의 초기발달과 종합해 보면 전반적으로 Fig. 3로 요약될 수 있다.

2배체 미꾸라지는 부화이후 빠른 생식소 발달을 보여 난소는 부화후 100일 경에 대부분 성숙되고 있었다. 이에 비해 3배체는 부화후 9개월까지 수질부에 대부분 난원세포들로 구성되어 있었고, 난소 내 체세포는 3배체에서 2배체보다 비교적 많은 양이 분포하는 특징을 나타냈다. 다만, 드물게 주변인기

난모세포들을 관찰할 수 있었지만 이들은 빈약한 세포질을 가지고 있었고 난소 소낭의 구분이 불분명한 구조를 나타내고 있어 3배체 난소는 더 이상 발달되지 못하고 억제되는 불임 난소로 생각된다. 이와 같은 3배체 난소의 불임 보고는 Purdom (1972)이 3배체 plaice의 난소는 부화후 6개월이면 2배체의 난소와 다른 퇴화 구조를 보여 불임이 용이하게 식별된다고 보고하였다. 그리고, 3배체 붕어의 난소 역시 염색인기 난모세포에서 발달이 멈추고, 3배체 미꾸리 암컷은 주변인기 난모세포들을 가지고 있었으나 난황 형성 단계에 이르지 못한 초기 단계에 머물고 있다고 보고되고 있다(Suzuki et al. 1985 ; Yamaha and Onozato 1985).

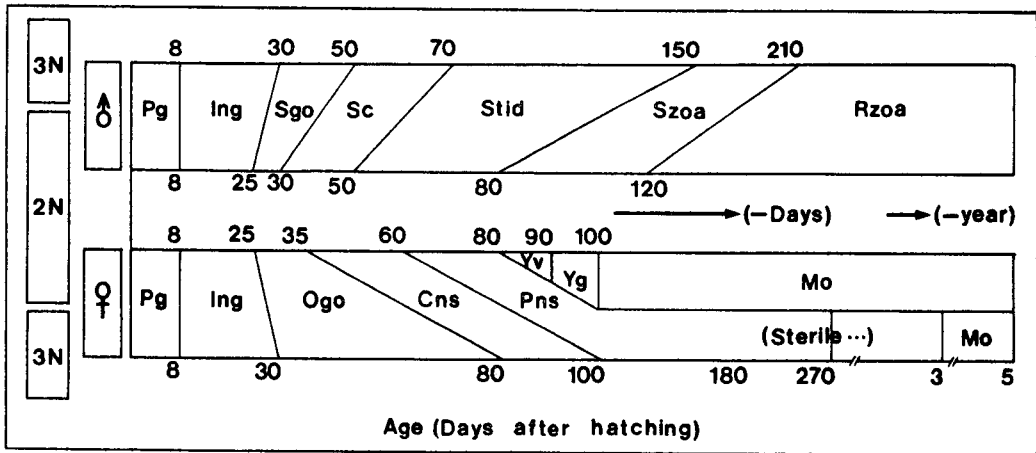


Fig. 3. Comparison of gonadal development between diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis*. Abbreviations, Cns ; Chromatin-nucleolus stage, Ing ; Indifferentiated gonadal stage, Mo ; Mature oocyte stage, Ogo ; Oogonia stage, Pns ; perinucleolus stage, Pg ; Primitive gonad, Rzoa ; Ripen spermatozoa stage, Sc ; spermatocytic stage, Sgo ; Spermatogonial stage, Stid ; Spermatid stage, Szoa ; Spermatozoa stage, Yg ; Yolk granule stage, Yv ; Yolk vesicle stage.

그러나 실내에서 사육된 다년산 3배체 미꾸라지 암컷의 난소는 특이한 특징을 나타내어 원통형의 난소로 그 수질부에는 hematoxylin과 eosin에 염색 반응을 보이지않는 폐쇄난모세포로 보이는 원형의 물질덩이로 구성되어 있었다. 더욱이, 비록 1마리이지만 5년산에서는 난소 내부에 완숙난근과 제2차 성장 난모세포군 그리고 제1차 성장 난모세포군이 함께 발달하고 있어 2배체 난소에서 볼 수 있는 비동시발달형의 성숙 난소 특징을 나타내었다. 이는 Johnson et al. (1986)이 3배체 암컷은 생식소 발달과 난모세포의 성숙이 거의 완전하게 방해받아 성숙에 이르지 못한다고 한 보고와는 상반되는 결과로, 향후 많은 다년산 3배체를 통해 난소의 생식생물학적 연구가 수행되어 그 원인이 유전적인 것인지 아니면 환경적인 영향에 의한 것인지 구명하여야 할 것이다.

2배체 미꾸라지의 정소 발달 역시 부화후 빠른 정자 형성 과정을 보여 부화후 80일 이후 변태를 마친 정자들이 출현하고, 부화후 120일이면 성숙 정소로의 발달을 나타내보였다. 3배체의 정소 발달 양상은

2배체와 동일하게 진행되었으나, 부화후 70일 부터 부화후 150일 사이의 비교적 장시간의 정세포기를 거친 후 성숙 정소로 발달하였다. 이와는 상반되게 미꾸라지와 같은 속에 속하는 미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus*의 경우 Suzuki et al. (1985)은 3배체 수컷은 생식소 불임을 나타낸다고 보고하였다. 그러나, Lincoln (1981)은 3배체 plaice와 초어의 수컷(Allen et al. 1986)이 비정상적이긴 하지만 정자를 함유한 정액을 생산하였다고 보고하고 있고, 최근에는 진주담치 등 3배체 이매패류에서도 수컷의 배우자 생산이 보고되고 있다(Komaru and Wada 1990).

특히, 본 연구에서 3배체 수컷의 성장기와 성숙기 정소 내에서도 소엽간 간질 세포들이 2배체에서와 동일한 특징을 나타냈고, 정자 변태에 관여하는 cyst cell도 2배체와 같이 관찰되었다. Chung and Lee (1994)는 2배체 쥐노래미, *Hexagrammos agrammus*의 성숙 정소 소엽 내에 나타나는 cyst cell (sertoli cell)은 영양과 분비 그리고 성호르몬 분비에 관여하고, 아울러 간질세포 (interstitial cell) 역시 성숙 정소에 나타나 호르몬 분비 작용으로 정소내에서 생식세포를 성숙 분열시키는 기능을 수행한다고 보고하고 있다. 따라서 본 연구에서의 3배체 수컷의 정소내 활성을 나타내보이는 이들 간질 세포와 cyst cell들이 직·간접적으로 3배체의 정자 형성에 관여하는 것으로 생각된다.

김과 김(1995)은 2배체와 3배체 미꾸라지의 원시생식소가 형성되는 미분화기에 2배체와 3배체의 시원생식세포 크기는 유의한 차이가 나타나지 않았다고 보고하고 있다. 그러나, 난자형성과정에 따른 3배체의 난모세포 크기는 급격한 체적 증가를 나타내는 2배체의 초기 성장 난모세포와 달리 초기 성장 및 성숙에 실패하고 있다. 반면 수컷인 경우, 정자 형성 과정이 진행됨에 따라 정모세포, 정세포 그리고 정자 두부의 세포 핵의 크기는 3배체가 2배체의 그것에 비해 크게 나타났다($p < 0.05$). Yamaha and Onozato (1985)는 3배체 잉어의 난원세포의 핵경이 2배체의 핵경보다 크게 나타났으며, 정자 형성 과정 동안의 정원세포와 제 1, 2차 정모세포 그리고 정세포 역시 2배체의 것에 비해 큰 특징을 가진다고 보고하고 있어 본 연구와 일치하였다. 특히, 3배체의 성숙 정소내 정자들의 크기 변화의 폭이 2배체의 정자들에 비해 큰 점은 앞으로 DNA함량 조사를 통해 그 원인을 찾아보아야 할 것으로 사료된다.

요 약

유도된 3배체 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*를 재료로 생식소 발달을 조사하여 2배체와 비교하였다. 난소 외부 형태는 융합된 하나의 낭상으로 복강을 향해 horseshoe shape으로 발달하며 짧은 수란관을 통해 비뇨생식공(urogenital pore)으로 개구되는 구조였다. 3배체 난소는 얇은 나뭇잎 모양으로 2배체에 비해 작고, 미발달되었으며, 정소는 2배체보다 다소 작지만, 외형상 2배체와 유사하였다. 난소 발달 및 난자형성과정은 2배체에서 부화후 100일에 성숙 난소 및 성숙 난모세포가 출현하는 비교적 빠른 발달을 보인 반면, 3배체에서는 부화후 9개월까지 제1차 성장기의 난모세포가 나타났을 뿐 더이상 발달하지 않았다. 다만, 조사된 1마리의 5년산 3배체에서는 난소내 성숙 난모세포들이 관찰되었다. 비록 정소 발달 및 정자형성과정은 3배체 수컷 역시 2배체와 동일하게 진행되었지만 3배체가 2배체에 비해 각 단계별 발달 시기는 지연되었고, 생식세포 핵의 크기는 크게 나타났다.

감사의 글

본 연구를 위해 아낌없이 지도 편달해주신 故 이택열 교수님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Allen, S. K., Jr., R. G. Thiery, and N. T. Hagstrom, 1986. Cytological evaluation of the likelihood that triploid grass carp will reproduce. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115 : 841-848.
- Chung, E.-Y. and K. Y. Lee, 1994. A fine structural and histochemical changes in the cyst cell and the interstitial cell in the testis of the teleost, *Hexagrammos agrammus* with the reproductive cycle. *Kor. J. Ichthyol.* 6 : 193-205.
- Jensen, G. L. and W. L. Shelton, 1983. Gonadal differentiation in relation to sex control of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Pisces : cyprinidae). *Copeia* 1983 : 749-755.
- Johnson, O. W., W. W. Dickhoff, and F. M. Utter, 1986. Comparative growth and development of diploid and triploid coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture* 57 : 329-336.
- Kim D. S., J.-Y. Jo, and T.-Y. Lee, 1994. Induction of triploidy in mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and its effect on gonad development and growth. *Aquaculture* 120 : 263-270.
- Kawamura, K., K. Hosoya, and K. Fukusho, 1995. Spermatozoa of artificially induced triploid red sea bream, *Pagrus major* (Temminck and Schlegel). *Fish. Sci.* 61 : 355-356.
- Komaru, A. and K. T. Wada, 1990. Gametogenesis of triploid Japanese pearl oysters *Pinctada fucata martensii*. In : M. Hoshi and O. Yamashita (Editors), *Advanced in Invertebrate Reproduction* 5. Elsevier, Amsterdam 469-474 pp.
- Lincoln, R. F., 1981. Sexual maturation in triploid male plaice (*Pleuronectes platessa*) and plaice \times flounder (*Platichthys flesus*) hybrids. *J. Fish Biol.* 19 : 415-426.
- Malison, J. A., C. D. Best, T. B. Kayes, and C. H. Amundson, 1986. Sex Differentiation and use of hormones to control sex in yellow perch, *Perca flavescens*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43 : 26-35.
- Purdom, C. E., 1972. Induced polyploidy in plaice (*Platichthys flesus*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity* 29 : 11-24.
- Suzuki, R., T. Oshiro, and T. Nakanishi, 1985. Survival, growth and fertility of gynogenetic diploids induced in cyprinid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* 48 : 45-55.
- Van Eenennaam, J. P., R. G. Thiery, N. T. Hagstrom, and S. I. Doroshov, 1990. Egg fertility, early development and survival from crosses of diploid female \times triploid male grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture* 86 : 111-125.
- Yamaha, E. and H. Onozato, 1985. Histological investigation on the gonads of artificially induced triploid crucian carp, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 36 : 170-176.
- Ueno, K., 1989. In : R. Suzuki (Editors), *Chromosome manipulation and its application for aquaculture*. Vol. 75, Koseisha Koseikaku, Tokyo, 70-81 pp.
- 김봉석 · 김동수, 1995. 2배체와 3배체 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)의 원시생식소 형성과정. *한국양식학회지* 8 : 231-240.

PLATE I

Plate I. Cross sections of the ovaries in diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis* according to ovarian development.

- A, Section of the diploid fry, twenty five days after hatching, showing a pair of ovary (arrow).
- B, Section of the triploid fry, thirty days of age, showing the oogonial stage (arrow). Inset, showing ovary consist of ovarian sac and a lot of somatic cells.
- C, Section of the diploid fry, forty five days after hatching, showing multi-layer developing oocytes (inset). N ; nucleus, Pns ; peri nucleolus stage.
- D, Section of the triploid, eight days after hatching, showing oogonia (Ogo, arrow) and oocyte of chromatin-nucleolus stage (Cns, arrow).
- E, Section of the diploid, sixty days after hatching, showing many nucleolus (Ne, arrow) distributed near the nuclear (N, arrow) membrane. Inset, low power view of Fig. E.
- F, Section of triploid, one hundred days after hatching, showing oocyte of peri-nucleolus stage (Pns, arrow).
- G, Section of diploid, eighty days after hatching, showing oocytes of yolk vesicle (Yv, arrow) stage.
- H, Section of diploid, 3-years-old, showing mostly oogonia (Ogo, arrow) in cortex of ovary and undetected material masses (arrows) in center of ovary.
- I, Section of diploid, one hundred twenty days after hatching, showing mature oocytes (arrow). N ; nucleus, Fc ; follicle cell.
- J, Section of diploid, 5-years-old, showing mature oocytes (Mo) similar to those of ovaries in diploid.

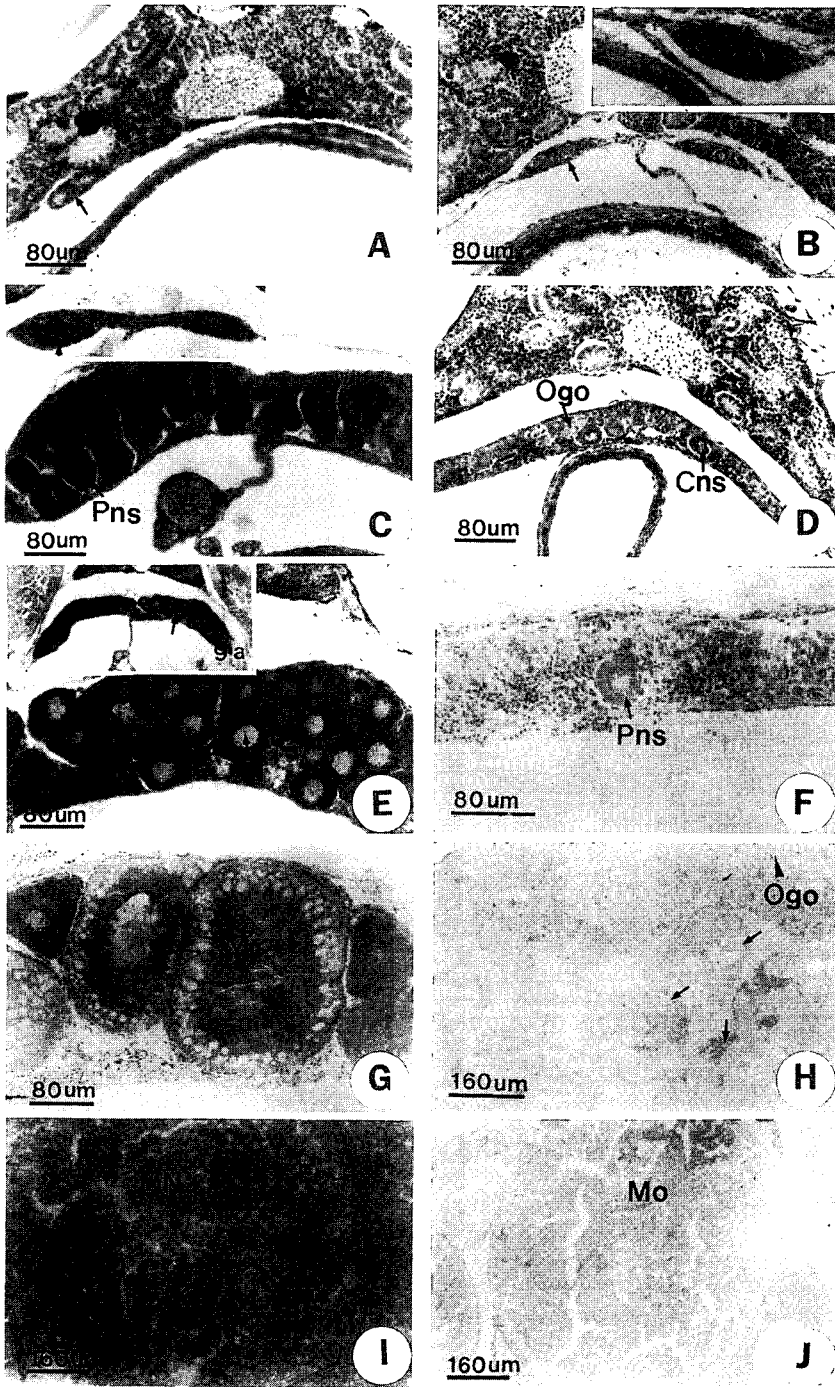


PLATE II

Plate II. Cross sections of the testes in diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis* according to testicular development.

- A, Section of the diploid fry, twenty five days after hatching, showing characteristics of the testis with lobule.
- B, Section of the triploid fry, thirty days after hatching, showing characteristics of testis.
- C, Section of the diploid fry, thirty days after hatching, showing spermatocytes.
- D, Section of the triploid fry, fifty days after hatching, showing spermatocytes.
- E, Section of the diploid fry, forty days after hatching, showing active mitotic sign of the spermatocytes (Sc, large arrow) and spermatids (small arrow).
- F, Section of triploid, sixty days after hatching, showing mostly spermatocytes and spermatids (arrow) in lobules.
- G, Section of diploid, ninety days after hatching, showing mostly spermatozoa (Szoa, arrow) in lobuli.
- H, Section of the triploid, one hundred fifty days after hatching, showing mature spermatozoa (Szoa, arrow) in the testis.
- I, Section of the diploid, one hundred twenty days after hatching, containing mostly spermatozoa (Szoa, arrow) in lobuli and interstitial cells (Ic, arrow) appeared steroid activity.
- J, Section of the triploid, one hundred fifty days after hatching, showing the testis possessing spermatozoa (large arrow), active interstitial cells (Ic, short arrows), and cyst cells (Cc, short arrow). This histological section was same that of testis in triploid of 4~5 years old.

