

## 영상분석기를 이용한 한국산 꿩의 정자발생세포들의 형태학적 계측

박영석 · 양홍현\* · 김인식\*  
공주문화대학 애완동물과

### Morphological Measurement of the Spermatogenic Cells in the Korean Native Pheasant(*Phasianus colchicus korpowi*) with Image Analyser

Park, Y. S., H. H. Yang\* and I. S. Kim

Department of Companion Animal, Kongju National Culture College

#### SUMMARY

The image analyser was used for the measurement of the morphological changes of the spermatogenic cells and seminiferous tubules in the pheasant during the breeding and non breeding season.

1. The seminiferous tubules were enlarged 2.57 times during the breeding season than during the non breeding season. Only Sertoli cells and spermatogonia in the seminiferous tubules can be found during the non breeding season.
2. There is no significantly difference in the ratio of nucleus area against that of cell size in the spermatogonium between breeding and non breeding season. The ratio of area was 28.71% and 29.11%, respectively. However, the enlargement of spermatogonium was noticed during the non breeding season.
3. The highest value of the ratio of the nucleus area against that of cell size among the germ cells was measured 37.40% in the pachytene phase of the spermatocyte during the breeding season.
4. The ratio of nucleus area against that of cell size in the spermatid was 22.53%.

(Key word : Pheasant, Measurement, Image analyser, Spermatogenic cell)

#### I. 서 론

번식에 있어 중요한 역할을 하는 고환의 형태계측학적 연구는 주로 실험동물과 포유류에서 이루어졌다. Clermont와 Perey(1957)는 미성숙쥐의 주령별 및 정자발생 주기별로 각 정자형성세포들의 출현, 세정관

의 크기, 지지세포의 출현숫자 및 A형 정조세포의 핵 직경 등이 발표된 이래, 개를 대상으로 성 성숙과정에서 각 정자형성세포들의 핵 크기와 세정관의 직경 등의 형태학적 계측 결과가 보고되었다(Foote 등, 1972; Kawakami 등, 1990; 박과 이, 1992). 이 등(1986)은 재래종인 한우를 대상으로 세정관내 정조세포의 비율을 정자발생주기별로 연구하였고, Franca

\* 전북대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University)

등(1993)과 Hikim(1989, 1988a,b) 등은 쥐와 햄스터 고환에서 발육하는 정자형성세포들에 대한 세르톨리 세포의 표면과 부피를 계측하여 상관관계성을 보고한 바 있다.

조류의 고환을 대상으로 한 연구는 guinea-fowl에서 고환그물의 형태학적 연구(Aire 등, 1979b)와 메추리 및 조류의 부고환관의 형태학적 계측 결과가 발표(Aire, 1979, 1982)된 바 있으며, Brillard(1986)는 guinea fowl을 대상으로 주령별 정자형성세포들과 세르톨리세포의 변화상을 보고하였다. 또한 김과 박(1989)은 메추리의 체중과 고환의 상관관계 및 세정관 크기와 변화에 대해, 이와 박(1989)은 오리를 대상으로 주령에 따른 고환의 크기와 세정관의 변화상을 발표한 바 있지만, 조류에 있어서 각 정자형성세포들의 형태계측학적 자료는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구자들은 계절번식 조류인 꿩을 대상으로 번식기와 비번식기에 따른 세정관과 각종 정자형성 세포들의 직경, 길이, 면적 등의 변화상을 영상분석기(Leica, Q500MC)를 이용하여 계측하고, t-test로 통계 처리하여 그 결과를 보고한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

부후후 1년에서 2년생(체중 1,200-1400g)인 성 성숙한 한국산 숫꿩(Korean native pheasant, *Phasianus colchicus korpowi*)을 번식기인 5월 초에 10마리와 비번식기인 11월에 10마리씩, 총 20마리를 전주 근교에 있는 꿩 농장에서 구입하여 실험에 사용하였다.

### 2. 조직의 채취

실험에 사용된 총 20마리의 꿩은 경추후두탈구법으로 희생시킨 다음 복강을 절개하고 고환동맥을 통하여 3% glutaraldehyde (0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)로 1차 관류 고정된 후, 1차 고정된 고환을 적출하고 1mm<sup>3</sup>로 세절한 후 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 2차 고정을 하였다.

### 3. 조직표본의 제작

고정된 고환 조직은 탈수 등 투과 전자현미경 시료

제작 과정을 거쳐 Epon 812로 포매한 후, 초박절기(ultramicrotome)를 이용하여 약 1 $\mu$ m 두께의 박절편을 제작하였다. 박절편들은 basic fuchsin-methylene blue(Agnese와 Jensen, 1984)로 염색하였다.

### 4. 형태학적 계측

염색된 조직표본은 영상분석기(Leica, Q500MC software)와 연결된 광학현미경에서 번식기와 비번식기의 원형에 가까운 세정관을 100개씩 선정된 후 세정관 직경을 계측하였다. 번식기 고환에서 각종 정자형성세포들의 계측과 면적대비 비율을 측정하기 위해서, 무작위로 선정된 100개의 곡세정관을 선정하고 각종 정자형성세포들을 분류한 후, Q500MC 프로그램으로 형태학적인 계측을 하고 t-test로 통계처리하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 번식기와 비번식기에서 곡세정관의 크기 변화

성 성숙한 한국산 숫꿩 꿩 고환내 곡세정관은 번식기와 비번식기로 나누어 관찰하였다. 번식기의 곡세정관에서 각종 정자형성세포들을 분류하였으며, 분류된 각 정자형성세포는 모식도(Fig. 3)로 나타냈다. 번식기 곡세정관은 분류된 각종 정자형성세포들이 존재하며 정자형성과정에서 이루어지는 형태를 관찰할 수 있었지만, 비번식기의 곡세정관은 세르톨리세포와 정조세포만이 출현하였다(Fig. 1).

꿩 곡세정관의 직경은 번식기(5월)에서 267.86 $\pm$ 15.60 $\mu$ m이고, 비번식기(11월)에서는 104.31 $\pm$ 14.37 $\mu$ m로서, 번식기(Fig. 2)에 대한 비번식기 곡세정관(Fig. 1)은 2.57 : 1 (38.94%)로 매우 위축되었다. 곡세정관 직경에 대한 계측은 여러 연구자에 의해 보고되었다. 포유류인 성성숙한 개의 고환내 곡세정관은 정자형성계의 단계에 따라서 변화된 직경을 나타냈으며(Foote 등, 1972), 평균적인 곡세정관의 직경은 28주령의 비글종에서 180 $\mu$ m(Kawakami 등, 1990), 44주령의 한국재래종 개에서 195.4 $\mu$ m(이동, 1991)를 나타냈고, 성성숙한 26주령의 쥐에서는 144 $\mu$ m(Clermont와 Perey, 1957)로 보고되었다. 조류인 성 성숙한 8주령의 메추리에서는 189 $\mu$ m(김과 박, 1989), 22주령 오리에서는 232 $\mu$ m(이와 박, 1989)로 보고되어, 본 연구에서 사용한 꿩의 곡세정관이 다른 동물보다도

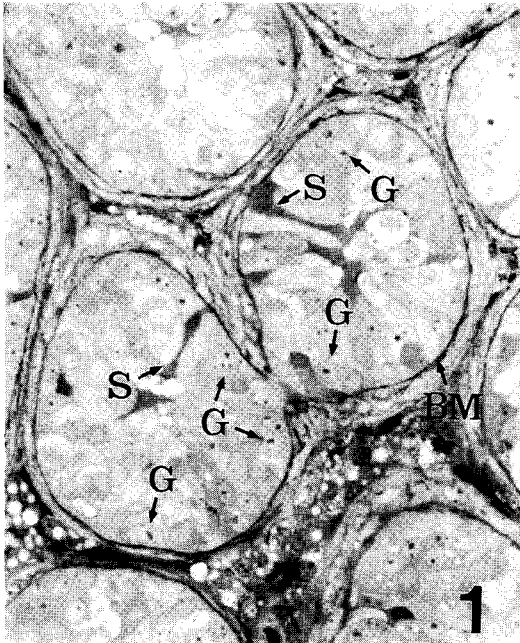


Fig. 1. Light micrograph of seminiferous tubule of the pheasant during the non breeding season. Sertoli cell(S) and spermatogonium(G) can be found only. BM, basement membrane of seminiferous tubule.

큰 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 성 성숙한 주령에 따른 차이도 있겠지만, 연구에 사용된 동물의 곡세정관 특징으로 여겨진다.

계절번식을 하는 동물을 대상으로 곡세정관의 세포활성과 비활성을 비교한 연구는 주로 약물을 사용하거나(France 등, 1993; Aire, 1997), 빛 조사량을 조절하는 방법(Hikim, 1988a, b)등의 인위적인 사육환경을 설정하여 이루어진 연구는 보고되었지만, 자연상태 하에서 번식기와 비번식기의 연구는 희소하였다. Hikim 등(1989)은 계절번식을 하는 골든햄스터 고환의 비활성상태는 활성상태에 비해 고환의 용적과 세정관 부피가 90% 감소되었다고 보고하였는데, 이러한 결과는 본 연구의 비번식기가 번식기에 비해 세정관 직경이 1/2.56으로 위축되어, 비번식기에서는 고환과 세정관의 부피와 면적이 감소되어 기존 연구결과와 일치하였다.

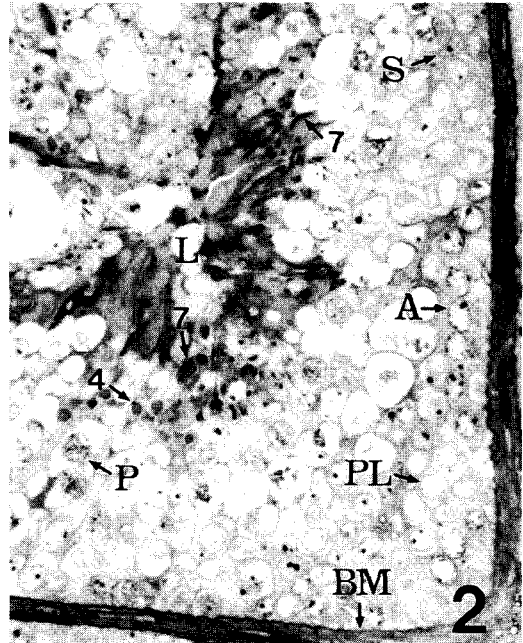


Fig. 2. Light micrograph of seminiferous tubule of the pheasant during the breeding season. All spermatogenic cells can be found. L, lumen; S, Sertoli cell; A, type spermatogonium; PL, preleptotene; P, pachytene; 4, step 4 spermatid; 7, step 7 spermatid; BM, basement membrane.

## 2. 번식기 곡세정관내 각정세포의 형태 계측

번식기에서 정조세포는 A형, IN형과 B형 정조세포로 구분하여(Fig. 1-A, IN, B) 계측한 결과, 핵의 크기(장경)는 A형, IN형과 B형 정조세포에서 각각 7.11 $\mu$ m, 7.46 $\mu$ m과 6.98 $\mu$ m이었으며, 평균장경은 7.14 $\mu$ m였다(Table 1). 이러한 계측치는 진도건에서 9 $\mu$ m $\times$ 7.5 $\mu$ m, 7.5 $\mu$ m $\times$ 6 $\mu$ m 및 7 $\mu$ m(박과 이, 1992), 햄스터에서는 9~15 $\mu$ m, 7~11 $\mu$ m 및 6~8 $\mu$ m(Oud와 Rooji, 1977)이며, 조류인 메추리에서는 A형 정조세포핵 크기가 5~6 $\mu$ m(이와 박, 1989), Ap형과 Ad형으로 나눈 오리의 정조세포는 5~6 $\mu$ m(이와 박, 1989)로 보고되었는데, 이러한 결과들은 연구자의 세포 분류방법에 따라 계측치가 다르며, 실험동물에 따라 다양하였으나, 정조세포가 분화되어가는 단계에 따라 직경이 감소되는 결과와 일치하였다.

본 연구에서는 세정관을 무작위로 선택하여 각 정자형성세포들의 면적과 둘레길이를 영상분석기로 분석한 결과, 정조세포핵의 면적은 A형 정조세포가 가장 넓었으며, 둘레길이는 B형 정조세포가 길었다. 세포질의 계측에서는 A형 정조세포가 면적, 길이(장경) 및 둘레길이 모두에서 B형이나 IN형 정조세포보다도 큰 값을 나타냈다. 또한 번식기 전체 정조세포의 핵과 세포질의 면적은  $30.06 \pm 0.73 \mu\text{m}^2$ 와  $74.63 \pm 2.63 \mu\text{m}^2$ 으로 계측되어 세포 전체 면적에 대한 핵의 면적 비율은 28.71%이었으며, 비번식기 정조세포에서 핵과 세포의 비율은  $36.68 \pm 0.93 \mu\text{m}^2$ 와  $89.34 \pm 3.21 \mu\text{m}^2$ 으로 계측되어 세포면적에 대한 핵의 비율은 29.11%로 번식기와 비번식기 사이의 핵면적에 대한 유의성( $P > 0.05$ )은 없었다. 하지만 3형의 정조세포에 대한 전체 평균치는 비번식기가 번식기의 평균치보다도 큰 값을 나타냈다(Table 1).

펍 번식기의 정모세포는 세사기(전세사기 포함), 접합기, 태사기(이동기 포함)의 3형으로 구분하여(Fig. 1-PL, L, Z, P, D) 계측한 결과, 핵의 장경은  $7.3 \mu\text{m}$ ,  $8 \mu\text{m}$  및  $8.4 \mu\text{m}$ 로 정모세포의 순차적인 분화과정에 따라 점진적으로 커지는 경향을 나타냈는데, 이

는 메추리(김과 박, 1989), 오리(이와 박, 1989), 진도견(박과 이, 1992), 찢소(Curtis와 Amann, 1981) 정모세포들의 변화양상과 일치하였다. 또한 본 연구에서 펍 정모세포 핵의 면적과 둘레도 핵 장경과 같이 점진적으로 증가되는 경향을 나타냈다. 하지만 세포질에 대한 계측 결과는 접합기 정모세포의 면적과 길이가 세사기와 태사기 정모세포보다도 큰 값을 나타냈다(Table 2). 번식기 정모세포 중에서 가장 많이 관찰되는 태사기의 핵 면적은  $48.46 \pm 0.93 \mu\text{m}^2$ 이었으며, 세포전체 면적은  $81.10 \pm 3.30 \mu\text{m}^2$ 로 측정되었으며, 세포면적에 대한 핵 면적 비율은 37.40%로 각 정자형성세포 중에서 가장 높았다.

펍 번식기의 변태과정에 있는 정자세포는 원형을 유지하고 있는 1과 2단계 정자세포(Fig. 3-1, 2)를 I형 정자세포로, 핵질이 농축되고 약간 작아지는 3과 4단계 정자세포(Fig. 3-3, 4)를 II형 정자세포로 구분하여 계측하였다. I형과 II형 정자세포 핵의 직경은 각각  $4.75 \mu\text{m}$ 와  $4.45 \mu\text{m}$ 로 계측되었다. 메추리와 오리의 정자세포는 각각  $4 \mu\text{m}$ ,  $4.5 \mu\text{m}$ (김과 박, 1989; 이와 박, 1989), 개에서는  $5 \sim 6 \mu\text{m}$ (Foote, 1972; 박과 이, 1992), 찢소에서는  $6.9 \mu\text{m}$ (Curtis와 Amann, 1981)

**Table 1. Average cell measurement of spermatogonia in the Korean native pheasant (*Phasianus colchicus korpowi*) (Unit ; Area,  $\mu\text{m}^2$ ; Length and Perimeter,  $\mu\text{m}$ ; M $\pm$ SE)**

Breeding time	Type of spermatogonia	Nucleus			Cell		
		Area	Length	Perimeter	Area	Length	Perimeter
Breeding	Type A	$30.27 \pm 1.06$	$7.11 \pm 0.12$	$21.06 \pm 0.33$	$78.57 \pm 3.96$	$14.83 \pm 0.38$	$62.95 \pm 1.19$
	Type IN	$29.95 \pm 2.09$	$7.46 \pm 0.18$	$21.05 \pm 0.68$	$59.64 \pm 5.98$	$13.19 \pm 0.48$	$56.57 \pm 2.05$
	Type B	$31.32 \pm 1.08$	$6.98 \pm 0.14$	$21.27 \pm 0.36$	$66.64 \pm 3.32$	$13.63 \pm 0.39$	$60.86 \pm 1.20$
	Mean	$30.06 \pm 0.73$	$7.14 \pm 0.08$	$21.19 \pm 0.23$	$74.63 \pm 2.63$	$14.35 \pm 0.26$	$62.08 \pm 0.81$
Non breeding		$36.68 \pm 0.93$	$7.37 \pm 0.11$	$22.91 \pm 0.30$	$89.34 \pm 3.21$	$15.41 \pm 0.37$	$66.81 \pm 1.00$

**Table 2. Average cell measurement of spermatocyte in the Korean native pheasant (*Phasianus colchicus korpowi*) during the breeding season (Unit ; Area,  $\mu\text{m}^2$ ; Length and Perimeter,  $\mu\text{m}$ ; M $\pm$ SE)**

Type of spermatocyte	Nucleus			Cell		
	Area	Length	Perimeter	Area	Length	Perimeter
Leptotene	$36.26 \pm 0.99$	$7.30 \pm 0.10$	$22.77 \pm 0.31$	$76.02 \pm 3.09$	$13.79 \pm 0.24$	$62.80 \pm 0.79$
Zygotene	$44.02 \pm 0.94$	$8.04 \pm 0.12$	$25.13 \pm 0.28$	$85.03 \pm 3.00$	$15.04 \pm 0.29$	$68.40 \pm 0.67$
Pachytene	$48.46 \pm 0.93$	$8.40 \pm 0.11$	$26.12 \pm 0.27$	$81.10 \pm 3.30$	$14.77 \pm 0.23$	$68.58 \pm 0.71$

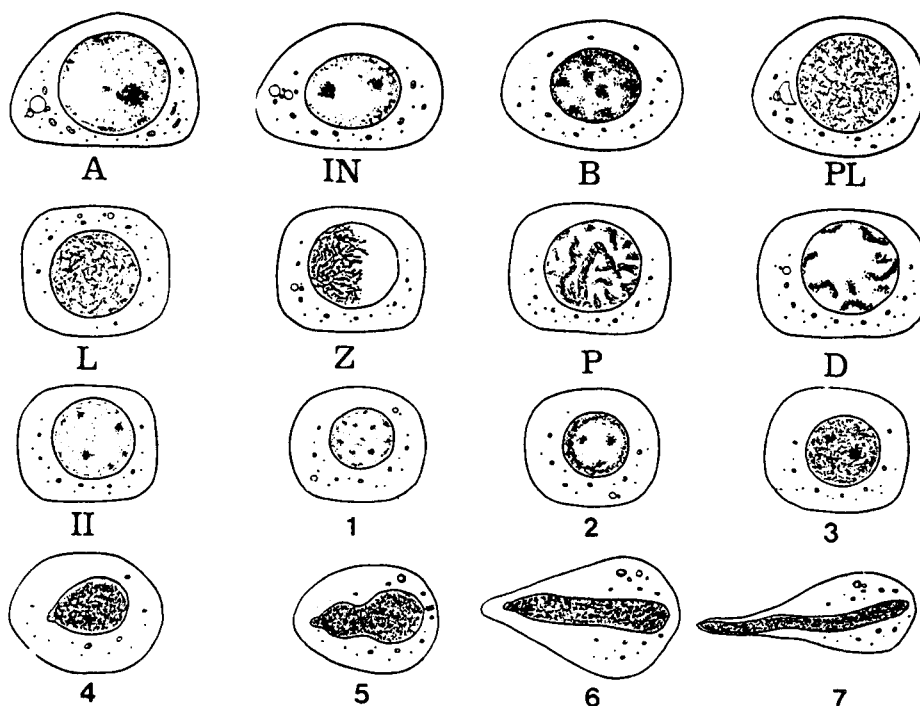


Fig. 3. Drawing illustration of the steps of spermatogenesis in Korean native pheasant. Type A (A), intermediate(IN) and B(B) spermatogonia; PL(preleptotene), L(leptotene), Z(zygotene), P(pachytene) and D(diakinesis) primary spermatocytes; II, secondary spermatocyte; 1-7, step of spermatids.

Table 3. Average cell measurement of spermatid in the Korean native pheasant (*Phasianus colchicus korpowi*) during the breeding season

(Unit ; Area,  $\mu\text{m}^2$ ; Length and Perimeter,  $\mu\text{m}$ ; M $\pm$ SE)

Type of spermatid	Nucleus			Cell		
	Area	Length	Perimeter	Area	Length	Perimeter
Type I	15.07 $\pm$ 0.56	4.75 $\pm$ 0.08	14.75 $\pm$ 0.26	51.83 $\pm$ 3.36	10.46 $\pm$ 0.32	45.10 $\pm$ 1.04
Type II	13.04 $\pm$ 0.85	4.45 $\pm$ 0.11	13.58 $\pm$ 0.42	47.53 $\pm$ 2.59	10.19 $\pm$ 0.23	43.13 $\pm$ 0.99
Mean	13.65 $\pm$ 0.53	4.65 $\pm$ 0.53	13.97 $\pm$ 0.26	50.10 $\pm$ 2.15	10.33 $\pm$ 0.20	43.90 $\pm$ 0.73

로 나타나 꿩의 정자세포는 조류인 메추리와 오리의 정자세포의 크기가 같은 반면 일부 포유류보다는 작았다. I형 핵의 면적과 세포질의 면적은  $15.07 \pm 0.56 \mu\text{m}^2$ ,  $51.83 \pm 3.36 \mu\text{m}^2$ 로 계속되어 세포의 면적에 대한 핵의 면적비는 22.53%이었다(Table 3).

본 실험에서 영상분석기를 이용하여 시도한 각 정세

포의 면적과 둘레길이 및 비율 측정치는 기존에 보고된 연구결과들에서 보고된 바 없어 본 연구결과와는 비교 고찰이 불가능하였다. 하지만 세정관내 각종 정세포들에 대한 형태학적이고 정량적인 계측치 산출을 위해서는 영상분석기를 이용함으로써 유용한 자료를 얻으리라 사료된다.

#### IV. 적 요

계절번식 조류인 꿩을 대상으로 번식기와 비번식기에 따른 세정관과 각 정자형성세포들의 직경, 길이와 면적 등의 변화상을 영상분석기를 이용하여 계측하였다. 그 결과는 다음과 같다.

1. 비번식기 곡세정관은 번식기보다도 약 2.56배 (38.94%) 위축되었다. 비번식기 세정관내에는 세르톨리세포와 정조세포만이 출현하였다.
2. 번식기 정조세포 핵과 세포질의 면적비는 28.71%이었으며, 비번식기의 면적비는 29.11%로 유의성은 없었다. 하지만 비번식기의 정조세포 핵과 세포질 면적, 직경 및 둘레는 번식기보다는 증가했다.
3. 번식기 정모세포의 발달과정 중에서 태사기 상태에서 세포면적에 대한 핵의 면적비는 37.40%로 각 정자형성세포들 중에서 가장 높았다.
4. 원형에 가까운 정자세포의 세포면적에 대한 핵 면적비는 22.53%이었다.

#### V. 인용문헌

1. Agnese, P.A.D.S. and K.L.M. Jensen. 1984. Dibasic staining of large epoxy tissue section and application to surgical pathology. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 81:25-29.
2. Aire, T.A. 1979. Micro-stereological study of the avian epididymal region. *J. Anat.*, 129 (4):703-706.
3. Aire, T.A. 1982b. The rete testis of birds. *J. Anat.*, 135(1):97-110.
4. Aire, T.A. 1997c. The structure of the interstitial of the active and resting avian testis. *Onderstepoort. J. Vet. Res.*, 64(4):291-299.
5. Aire, T.A., J.S. Ayeni and O.O. Mo. 1979b. The structure of the excurrent ducts of the testis of the guinea fowl (*Numbia meleagris*). *J. Anat.*, 129(3):633-643.
6. Brillard, J.P. 1986. Age-related variations in seminiferous tubule dimensions and germinal and Sertoli cell numbers in guinea fowl raised under a 14L:10D photoperiod. *Poult. Sci.*, 65(2):369-374.
7. Clermont, Y and B. Perey. 1957. Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.*, 100:241-260.
8. Curtis, S.K. and R.P. Amann. Testicular development and establishment of spermatogenesis in holstein bulls. *Anim. Sci.*, 53: 1645-1657.
9. Foote, R.H., E.E. Swierstra and W.L. Hunt. 1972. Spermatogenesis in the dog. *Anat. Rec.*, 173:341-352.
10. Franca, L.R., S. Ghosh, S.J. Ye and L.D. Russell. 1993. Surface and surface-to-volume relationships of the Sertoli cell during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Biol. Reprod.*, 49(6):1215-1228.
11. Hikim A.P., A. Bartke and L.D. Russell. 1988a. Morphometric studies on hamster testes in gonadally active and inactive states: light microscope findings. *Biol. Reprod.*, 39 (5):1225-1237.
12. Hikim A.P., A. Bartke and L.D. Russell. 1988b. The seasonal breeding hamster as a model to study structure-function relationships in the testis. *Tissue Cell*, 20(1):63-78.
13. Hikim, A.P., A.G. Amador, H.G. Klemcke, A. Bartke and L.D. Russell. 1989. Correlative morphology and endocrinology of Sertoli cells in hamster testes in active and inactive states of spermatogenesis. *Endocrinology*, 125(4):1829-1843.
14. Kawakami, E., T. Tsutsui and A. Ogasa. 1990. Histological observations of the reproductive organs of the male dog from birth to sexual maturity. *J. Vet. Sci.*, 53(2):241-248.
15. Oud, J.L. and D.G. Rooji. 1977. Spermatogenesis in the Chinese hamster. *Anat.*, 187: 114-124.

16. 김재홍, 박영석. 1989. 메추리(*Coturnix coturnix*)의 정자발생에 관한 연구. 한국가금학회지, 16(2):91-103.
17. 박영석, 이재홍. 1992. 진도견의 정자형성과 Sertoli 세포 특수 연결부의 미세구조: I. 진도견의 정자형성에 관한 연구. 대한수의학회지, 32(3):281-293.
18. 이재홍, 박영석. 1989. 오리의 정소발육과 정자발생에 관한 연구. 대한수의학회지, 29(4):417-424.
19. 이재홍, 박영석, 이성호. 1991. 개의 정소발육과 정자발생에 관한 연구. 대한수의학회지, 31(4):355-365.
20. 이재홍, 이성호, 박영석. 1986. 한우의 정자발생에 관한 연구. 대한수의학회지, 26(2): 201-210.  
(접수일자 : 1999. 1. 25. / 채택일자 : 1999. 2. 26.)