

한국 특산종 눈동자개, *Pseudobagrus koreanus*의 생식소 발달과 성분화

박진석 · 이원교 · 박충국 · 허승준 · 기세운 · 최낙현[†]

전남대학교 수산해양대학 양식생물학전공

Gonadal Development and Sex Differentiation of a Korean Endemic Species, Black Bullhead *Pseudobagrus koreanus*

Jin-Seok Park, Won-Kyo Lee, Chung-Kug Park, Seung-Joon Heo, Se-Wun Ki and Nak-Hyun Choi[†]

Aquaculture Program, College of Fisheries and Ocean Sciences, Chonnam National University,
Yeosu 550-749, Korea

ABSTRACT : Sex differentiation process of the spotted Black Bullhead, *Pseudobagrus koreanus*, was investigated using fish samples of different age after hatching. The primordial germ cells appeared separately under air bladder in 1-day larva (total length: 6.63~6.95 mm). The primordial gonad with a genital ridge developed in 5-day prelarva (7.50~9.36 mm). The ovarian differentiation started in about 25-day juvenile (11.58~13.21 mm). The somatic tissues elongated in the tip of one end of undifferentiated gonad and fused each other. Thus a small ovarian cavity appeared. The testicular differentiation was initiated in 30-day juvenile (12.19~13.72 mm). The rudiment of sperm duct was appeared in the lower part of the undifferentiated gonad. In 50-day juvenile (16.28~17.06 mm), the ovary started to fill with peri-nucleolus oocytes, and the spermatogonia started to develop. In 250-day juvenile (35.49~51.12 mm), the ovary became bigger and filled with oocytes, and the number of spermatogonia started to increase. Considering these results, the spotted Black Bullhead could be a differentiated type in sex differentiation and gonochorism in sexuality.

Key words : *Pseudobagrus koreanus*, Gonadal development, Sex differentiation.

요 약 : 눈동자개, *Pseudobagrus koreanus*의 성분화 과정을 밝히기 위해 부화 직후부터 250일령까지 생식소의 분화 및 발달을 조사하였다. 원시생식세포는 부화 후 1일(전장: 6.63~6.95 mm)에 나타났으며, 부화 후 5일(7.50~9.36 mm)에 생식육기를 형성하는 원시생식소 구조를 나타내었다. 부화 후 25일(11.58~13.21 mm)에서는 생식소 후단부 한쪽 끝에서 신장된 체세포 돌기가 생식소와 융합되어 작은 난소강이 형성되었다. 부화 후 30일(12.19~13.72 mm)에는 생식소 하단부에 정소관 원기가 출현하여 정소의 분화가 시작되었다. 부화 후 50일째 자어(16.28~17.06 mm)의 난소내에서는 주변인기 난모세포로 채워지기 시작하였으며, 정소내에서는 정원세포(spermatogonia, SG)의 활발한 증식을 관찰할 수 있었다. 부화 후 250일째 자어(35.49~51.12 mm)에서는 난소의 크기가 더욱 커지고 난모세포들로 가득 채워져 있었고, 정원세포의 수가 증가하기 시작하였다. 이상의 결과 눈동자개의 성분화 양상은 자웅이체형 중 분화형이었다.

서 론

눈동자개, *Pseudobagrus koreanus*는 메기목(Siluriformes), 동자개과(Bagridae), 농갱이속(*Pseudobagrus*)에 속하는 우리나라의 고유종으로서 서해로 유입하는 하천과 남해로 유

입하는 하천 중 섬진강 중하류에 주로 분포하며, 모래와 자갈 바닥에 서식한다. 전장 30 cm까지 성장을 하며, 산란기는 늦봄에서 초여름인 6, 7월로 춘·하계 산란어종에 속한다(정, 1977; 김, 1997; 황, 1997). 특히 눈동자개는 우리나라에 서식하는 담수어류 중 크기가 비교적 커서 식용으로 선호도가 높을 뿐만 아니라 한국 특산종으로서 학술적 가치가 높은 어종이다. 또한, 본 종이 사라질 경우 지구상에서 완전히 멸종되므로 자원의 보존 가치가 매우 높은 어종이다. 그러나 최근

[†] 교신저자: 전남 여수시 둔덕동 산 96-1, 전남대학교 수산해양대학 양식생물학전공, (우) 550-749, (전) +82-61-659-3161, (팩) +82-61-659-3169, E-mail: hj7898@chonnam.ac.kr

산업화와 도시화에 의한 서식처 파괴, 수질오염으로 인한 서식환경의 악화 등으로 점차 자원이 감소하는데, 반면, 수요는 증가하고 있어 양식의 필요성이 점차 요구되고 있는 실정이다. 하지만 현재 인위적인 양식은 이루어지지 않고 있어 종묘 생산 기술개발이 절실히 요구되는 중이기도 하다. 더욱이 수컷은 암컷보다 성장이 빠르고 크기도 크기 때문에 양식이 이루어졌을 때 전 수컷집단의 생산이 이루어진다면 침체기에 빠져있는 우리나라 내수면 양식의 새로운 소득원이 될 수 있을 것이다.

어류의 성전환은 다른 척추동물에 비해 용이하게 유도되며, 자웅동체형 뿐만 아니라 자웅이체에 있어서도 인위적 성전환이 가능한 것으로 알려졌다. 어류양식에 있어서 인위적 성전환은 수온 조절, pH 조절 또는 호르몬 처리 등에 의해 전 암컷 또는 전 수컷의 경제성 높은 단성집단(monosexual population)을 생산하고자 수행되었다(Conver & Kynard, 1981; Convert & Fleisher, 1986; Rubin, 1985; Nakamura, 1975; Johnstone et al., 1979). 대부분의 종에서 인위적 성전환 유도시 발생 초기 단계인 미분화 생식소기에 성전환 유도물질을 처리하는 것이 가장 효과적인 것으로 보고되었다(Yamamoto, 1969; Nakamura, 1984). 그러나 성분화 시기는 어종에 따라 다르며, 동일종일지라도 사육 수온에 따라 차이가 있는 것으로 알려졌다(Matsuura et al., 1994; Davies & Takashima, 1980). 따라서 정확한 성전환을 유도하기 위해서는 생식소의 분화 시기의 규명이 우선시 되어야 한다. 그러나 지금까지 눈동자개의 성분화 양상에 대해서는 밝혀지지 않았다. 따라서 인위적인 성전환 유도를 위한 기초 연구로서 성의 표현양상과 생식소의 분화 및 발달에 대해 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

눈동자개의 초기 생식소 형성 및 성분화 과정을 조사하기 위하여 전남 구례군 구례역 인근 섬진강에서 반두를 이용하여 채집한 어미(평균 전장: 15.4 cm, 평균 체중: 25.33 g)를 사용하였다.

2. 산란유도 및 사육환경

눈동자개의 산란유도를 위하여 생식소자극호르몬(gonadotropin: GTH) 유사체인 인간 성선자극 호르몬(human chorio-

nic gonadotropin, hCG, Sigma, USA)을 암컷은 30,000 IU/kg, 수컷은 10,000 IU/kg으로 근육 주사하고 순환여과식 아크릴 수조(30×50×30 cm)에 수용하였다. 28시간이 경과한 후에 자연 산란이 유도되었으며, 이때 얻어진 수정란을 부화조에 옮겨 21°C에서 부화시켰다. 부화한 자치어는 투명유리수조(30×40×90 cm)에 수용하여 사육하였으며, 사육용수는 매일 1/2씩 환수하였다. 자치어의 먹이는 부화 후 5일째부터 10일째까지 rotifer(*Brachionus plicatilis*), 부화 후 10일째부터 25일째까지는 rotifer, *Artemia* sp. 및 양어용 배합사료를 혼합하여 급이 하였으며, 이후 양어용 배합사료 및 실지렁이를 순차적으로 급이 하면서 사육하였다. 사육기간 동안의 수온 범위는 부화 후 60일까지는 21±0.5°C를 유지하였고, 그 이후부터는 자연수온에서 사육하였다.

3. 표본 및 생식소 조직 관찰

생식소 관찰을 위한 자치어의 표본은 부화 후 60일까지는 5일 간격으로 7마리씩 무작위로 표본 하였고, 이후 부화 후 250일에 표본하였다. 표본된 자치어는 전장을 측정하고, Bouin's solution에 24시간 고정하였으며, 30.0 mm 이상의 개체는 두 부와 내장을 제거한 다음 고정하였다. 고정된 표본은 paraffin 방법에 따라 포매하여, 미세 조직 절편기를 이용하여 5 µm로 연속절편하였으며, Hematoxylin과 eosin으로 이중 염색하여 조직 표본을 만들어 광학현미경 하에서 원시생식세포의 출현 및 생식소 분화과정을 조사하였다.

결 과

1. 미분화 생식소

한국특산종인 눈동자개의 성분화 및 생식소 발달 과정을 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. 원시생식세포(primordial germ cell)의 출현과 원시생식소를 구성하는 조직의 초기 분화는 부화 직후부터 20일을 전후한 자어에서 일어나고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 1a~c). 원시생식세포는 부화 1일째 자어(전장: 6.63~6.95 mm)에서 처음으로 출현하였는데, 중신관(mesonephric duct, MD) 밑의 장간막(mesentery)에 위치하고 있었다. 원시생식세포는 직경 2.32 µm의 구형으로 주변세포들보다 컸으며, 투명한 세포질과 등근 핵을 포함하고 있었다(Fig. 1a). 부화 후 5일째 자어(7.50~9.36 mm)는 난황 흡수가 완료된 전기자어기였으며, 처음으로 초기생식소로 판별

Table 1. Summary of gonadal differentiation in *Pseudobagrus koreanus*

Day of hatching	Total length (mm)	Stage in life cycle	Developmental stage		
			Undifferentiated	Ovary Differentiated	Testis Differentiated
1	6.63~6.95	Yolk-sac larvae	Separated primordial germ cell and genital ridge	-	-
5	7.50~9.36	Prelarva	Fusion of primordial germ cell and genital ridge	-	-
10	10.30~11.38	Postlarva	Proliferation of somatic cell and completely enclosed primordial germ cell	-	-
20	11.19~12.36		Proliferation of germ cell and somatic cell	-	-
25	11.58~13.21		-	Meiosis of germ cell in the ovary started	-
30	12.19~13.72		-	The number of germ cell increased	Rudiment of sperm duct appeared in the center of the undifferentiated gonad
50	16.28~17.06	Juvenile	-	After peri-nucleolus oocyte appeared first in the left side of ovarian cavity, and appeared in the right side developed	Number of spermatogonia began to increase
60	15.76~18.55		-	Ovarian cavity appeared clearly in the center. The number of peri-nucleolus oocyte began to increase	
250	35.49~51.12	Immature	-	The number of oocyte increased	

할 수 있는 생식용기(genital ridge, GR)의 형성이 관찰되었으며, 생식용기의 체세포(somatic cell, SC)들이 부분적으로 원시생식세포를 둘러싸고 있었다(Fig. 1b). 부화 후 10일째 자어(10.30~11.38 mm)는 후기자어기로 이행하였으며, 초기 생식소는 점점 커지고 늘어난 생식세포와 함께 체세포가 분열되는 것이 관찰되었다(Fig. 1c). 그 후 20일까지의 자어(11.19~12.36 mm)에서는 체세포와 생식세포의 분열과 증식이 더욱 활발하게 진행되었으나 생식소는 미분화 상태였다.

2. 난소의 분화

부화 후 25일을 전후한 자어(11.58~13.21 mm)에서 생식소 후단부 한쪽 끝에서 체세포가 신장되어 돌기를 형성하였으며(Fig. 1d), 신장된 체세포 돌기가 생식소와 융합되어 작은 난소강(ovarian cavity, OC)이 형성되고 감수분열 전기단

계(meiotic prophase, MP)의 생식세포들이 나타나기 시작하였다(Fig. 1e). 부화 후 50일째 자어(16.28~17.06 mm)에서는 난소강이 더욱 뚜렷하게 형성되고 난소강을 중심으로 왼쪽부터 4.26~7.46 μm 크기의 주변인기 난모세포(peri-nucleolus oocyte, PNO)들이 발달한 다음 오른쪽이 발달하기 시작하였다(Fig. 1f & 1g). 부화 후 60일째 자어(15.76~18.55 mm)에서 주변인기 난모세포(5.82~10.78 μm)로 채워지기 시작하였으며, 중앙에 난소강이 뚜렷이 나타났다(Fig. 1h). 부화 후 250일째 자어(35.49~51.12 mm)에서는 핵막 주위에 많은 인이 관찰되는 난모세포(peri-nucleolus oocyte, PNO)들로 가득 채워져 있었다(Fig. 1i).

3. 정소의 분화

부화 후 30일을 전후한 자어(12.19~13.72 mm)에서 생식소 앞부분에 정소관(sperm duct)의 원기를 관찰함으로써 정

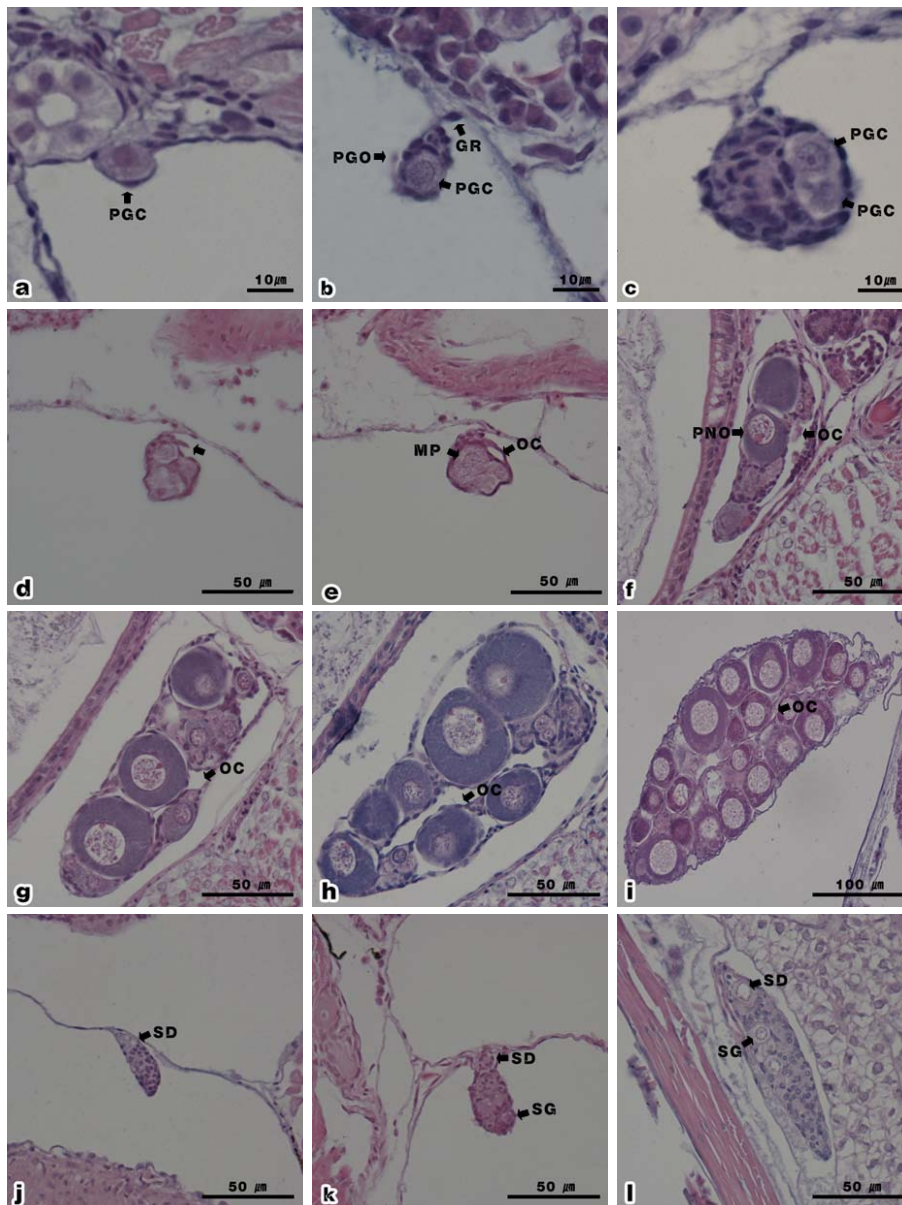


Fig. 1. Transverse section of the gonad in Black Bullhead, *Pseudobagrus koreanus*. a: The primordial germ cell in contact with the mesentery in the of prelarva yolk sac stage (1-day) just after parturition. b: Fusion of primordial germ cell and genital ridge of 5-day prelarva. The primordial germ cell was completely enclosed with somatic cells of the genital ridge. c: Undifferentiated gonad of 10-day postlarva. The number of germ cell and somatic cell increased by mitosis of the cells. d: The center region of the gonad of 25-day juvenile. The somatic tissues elongated at the tip of one end of gonad. e: In 25-day juvenile, the elongated somatic tissues fused to form ovarian cavity. f & g: Ovary in 50-day juvenile. Peri-nucleolus oocyte appeared first in the left side of ovarian cavity, and then appeared in the right side. h: In 60-day juvenile. Ovarian cavity appeared clearly in the center and the number of peri-nucleolus oocyte began to increase. i: Ovary in 250-day immature. The number of oocyte increased. j: Gonad in 30-day juvenile. The rudiment of sperm duct appeared in the center of the undifferentiated gonad. k: Testis in 50-day juvenile. The number of spermatogonia began to increase. l: Testis in 250-day immature. Abbreviations: GR, genital ridge; MP, meiotic prophase; OC, ovarian cavity; PGC, primordial germ cell, PGO, primordial gonad; PNO, peri-nucleolus oocyte; SD, sperm duct; SG, spermatogonia.

소로의 분화를 확인할 수 있었다(Fig. 1j). 부화 50일째 자어 (16.28~17.06 mm)에서 정원세포(spermatogonia, SG)의 활발한 증식을 관찰할 수 있었다(Fig. 1k). 이후 정소의 발달 양상은 뚜렷한 변화를 보이지 않았으나, 부화 후 250일째 자어 (35.49~51.12 mm)에 이르러 정원세포의 수가 증가하기 시작하였다(Fig. 1l).

고 찰

원시생식세포의 출현 시기 및 위치는 종에 따라 다른 것으로 알려졌다. 틸라피아, *Tilapia zillii*(Yoshikawa & Oguri, 1978)는 부화직후에, 무지개 송어, *Salmo gairdneri*(Takashima et al., 1980)는 36일째에 중신관 아래에 원시생식세포가 나타나며, 대농갱이, *Leiocassis ussuriensis*(Park et al., 2001)는 부화 1일째에, 동자개, *Pseudobagrus fulvidraco*(Park et al., 2004)는 부화 3일째에, 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus*(Park et al., 1998)는 8일째에 부레 밑의 장간막 양측면에 원시생식세포가 출현한다. 눈동자개에서는 부화 후 1일째에 원시생식세포가 부레 밑의 장간막에 나타나 그 출현 시기 및 위치가 대농갱이와 동일하였다(Fig. 1a). 또한, 눈동자개는 부화 후 5일째 생식용기의 형성에 의해 처음 초기 생식소로 판별되어 부화 5일째에 초기생식소가 발견된 대농갱이와 동일한 양상을 보여주었다(Fig. 1b).

어류의 생식소 분화과정에서 미분화 생식소에서 난소 또는 정소로의 분화는 서로 다른 내강 형성 양상으로 판별된다. 난소로 분화할 때는 생식소의 양쪽 끝에 위치한 체세포가 신장하여 돌기를 형성한 다음 융합하여 난소강이 되고, 정소는 생식소 안쪽에 정소강이 형성되어 정소관으로 발달한다(Nakamura & Nagahama, 1985; Nakamura et al., 1998). 눈동자개에서는 25일령에 생식소의 한쪽 끝에서 체세포 돌기가 나타나 생식소와 융합하여 작은 난소강이 형성되었다(Fig 1c, d). 정소는 부화 후 30일에 생식소내에 정소강의 출현으로 정소로의 분화를 확인하였다(Fig 1j). 망상어, *Diterma temmincki*(Lee & Lee, 1996) 등 일부 어류에서는 정소의 분화가 먼저 시작되지만 대부분의 어류에서 정소보다는 난소의 분화가 일찍 일어난다(Nakamura et al., 1974; Takashima et al., 1980). 눈동자개의 경우도 난소의 분화가 빨리 시작되었다.

난소 분화의 개시 및 발달 양상은 종에 따라 차이가 있는 것으로 알려졌다. 점농어, *Lateolabrax maculatus*(Lee et al.,

2000)는 미분화 생식소가 후반부에서 난소강을 형성하게 되는 체세포들의 신장이 처음 나타나 치어의 성장과 더불어 전반부로 이행되며, 전반부에서 체세포의 신장이 진행되는 동안 후반부에서는 이들이 융합하여 난소강을 형성하게 된다. 자주복, *Takifugu rubripes*(Matsuura et al., 1994)에서는 미분화 생식소에서 체세포 신장이 전·후반부에서 동시에 시작되어 중앙부로 이행된다. 생식소 양끝에서 거의 동시에 난소강의 분화가 시작되어 중앙부에서 가장 나중에 난소강을 형성하게 되는 종들도 있다. 한편, 홍송어, *Salvelinus lencommaensis*(Nakamura, 1982)와 황점볼락, *Sebastes oblongus*(Kwak et al., 2006)의 경우 난소의 분화가 미분화 생식소 전반부에서 시작되어 후반부로 진행되는 것으로 알려졌다. 눈동자개는 미분화 생식소의 전반부에서 먼저 난소강이 형성되기 시작하여 후반부로 진행되는 양상을 보였다.

어류의 성분화 과정은 암·수의 생식소가 각각 다른 개체에 나타나는 자웅이체(gonochorism)형과 동일 개체에 출현하는 자웅동체(hermaphroditism)형으로 크게 나뉘어진다. 자웅이체형 어류의 생식소 분화는 미분화기 생식소가 난소와 유사한 형태로 발달한 후 난소 또는 정소로 분화되는 미분화형(undifferentiated)과 직접 난소 또는 정소로 발달되는 분화형(differentiated)이 있다. 초기성분화 과정에 자상단계 없이 정소와 난소로 분리되는 분화형에는 송사리, *Oryzias latipes*(Tuzuki et al., 1966), 무지개송어, *S. gairdneri*(Takashima et al., 1980), 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*(Kim et al., 1990), 산천어, *Oncorhynchus masou*(박 등, 1997), 은어, *Plecoglossus altivelis*(Bang et al., 2000), 대농갱이, *L. ussuriensis*(Park et al., 2001) 등에서 볼 수 있다. 그리고 미분화형은 잉어, *Cyprinus carpio*(Davies and Takashima, 1980), 잉어과에 속하는 *Btetrazaea tetrazaea*(Takahashi & Shimizu, 1983), *Tilapia zillii*(Yoshikawa & Oguri, 1978), *Brachydanio rerio*(Takahashi, 1977) 등에서 볼 수 있다. 눈동자개의 경우 정소와 난소가 동일 개체에 존재하는 경우는 없었으며, 성장에 따른 단성현상도 나타나지 않았다. 따라서 눈동자개는 자웅이체형 중에서 분화형인 것으로 판명되었다. 앞으로 본 연구 결과를 토대로 인위적 성전환 유도 시 적정처리 시기 및 기간을 결정할 수 있을 것이다.

인용문헌

Bang IC, Park SY, Lee YA, Lee CH, Kim SY, Kim KK

- (2000) Early gonadogenesis and sex differentiation in sweet fish, *Plecoglossus altivelis*. J Aquaculture 13:215-222.
- Convert DO, Kynard BE (1981) Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish. Science 213:577-579.
- Convert DO, Fleisher MH (1986) Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. Can J Fish Aquat Sci 43:514-520.
- Davies PR, Takashima F (1980) Sex differentiation in common carp, *Cyprinus carpio*. J Tokoy Univ Fish 66: 191-199.
- Johnstone R, Simpson TH, Walker F (1979) Sex reversal in salmonid culture part III. The production and performance of all-female populations of brook trout. Aquaculture 18:241-252.
- Kwak EJ, Lee KW, Yang SW, Choi NH, Park CK, Han KH, Lee WK (2006) Gonadal development and sex ratio of artificial seedlings of the Oblong Rockfish *Sebastes oblongus*. J Korean Fish Soc 39:297-302.
- Lee JS, Lee YD (1996) Early gonadogenesis and sex differentiation in the viviparous teleost, *Diterma temmincki*. J Korean Fish Soc 29:35-43.
- Lee WK, Kwak EJ, Yang SW, Kim JW (2000) The gonadal development and sex differentiation in the spotted sea bass, *Lateolabrax maculatus*. Dev Rep 4:195-201.
- Matsuura S, Naiyo T, Shincho M, Yoshimura K, Matsuyama M (1994) Gonadal sex differentiation in tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Jap J Ichthyol 42:619-625.
- Nakamura M (1975) Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. Bull Fac Fish Hokkaido Univ 26:99-108.
- Nakamura M (1982) Gonadal sex differentiation in white spotted char, *Salvelinus leucomaenis*. Jap J Ichthyol 28: 431-436.
- Nakamura M, Nagahama Y (1985) Steroid producing cells during ovarian differentiation of tilapia, *Sarotherodon niloticus*. Dev Growth Differ 27:701-708.
- Nakamura M, Kobayashi T, Chang XT, Nagahama Y (1998) Gonadal sex differentiation in teleost fish. J Exp Zool 281:362-372.
- Park IS, Kim JH, Bang IC, Kim DS (1998) Histological study of the early gonadal development and sexual differentiation in *Rhynchocypris oxycephalus*. Dev Rep 2:69-74.
- Park IS, Kim JH, Cho SH, Kim DS (2004) Sex differentiation and hormonal sex reversion in the bagrid catfish *Pseudobagrus fulvidraco*(Richardson). Aquaculture 232:183-193.
- Park SY, Lee YA, Choi KC, Kang EJ, Bang IC (2001) Early gonadogenesis and sex differentiation in the Bagrid Catfish, *Leiocassis ussuriensis*. Korean J Ichthyol 13:248-253.
- Rubin DV (1985) Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid (Teleostei). Copeia 1985:233-235.
- Takashima F, Patino R, Nomura M (1980) Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout. Bull Jap Soc Sci Fish 46:1317-1322.
- Takahashi H (1977) Juvenile hermaphroditism in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. Bull Fac Fish Hokkaido Univ 28:59-65.
- Tuzuki E, Egami N, Hyodo Y (1996) Multiplication and sex differentiation germ cell during development in the medaka, *Oryzias latipes*. Jap J Ichthyol 13:175-182.
- Yamamoto, T (1969) Sex Differentiation. Fish Physiology. Vol.III, ed. by Hoar, W.S. and D.J. Radall. Academic Press. New York, pp 117-158.
- Yoshikawa H, Oguri M (1978) Sex differentiation in a cichlid, *Tilapia zillii*. Bull Jap Soc Sci Fish 44:313-318.
- 김익수 (1997) 한국동식물도감, 제37권 동물편(담수어류). 교육부, 629 pp.
- 박인석, 이영돈, 정의영 (1997) 산천어, *Oncorhynchus masou*의 성분화. 제주대 해양연보, 21:1-9.
- 정문기 (1977) 한국어도보. 일지사, 서울, 727 pp.
- 황세원 (1997) 눈동자개, *Pseudobagrus koreanus*의 생식주기에 관한 연구. 여수대학교 석사학위논문, 41 pp.

(received 27 September 2008, received in revised form 6 November 2008; accepted 8 November 2008)