

징거미새우, *Macrobrachium nipponense*의 Androgenic Gland 미세구조

김대현¹ · 강정하² · 김대중³ · 한창희⁴

¹국립수산진흥원 수산과학관, ²국립수산진흥원 생물공학과

³국립수산진흥원 태안수산종묘배양장, ⁴동의대학교 생물학과

Ultrastructure of the Androgenic Gland of the Freshwater Prawn, *Macrobrachium nipponense*

Dae-Hyun Kim¹, Jung-Ha Kang², Dae-Jung Kim³ and Chang-Hee Han⁴

¹Fisheries Science Museum, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 626-900, Korea

²Biotechnology Division, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 626-900, Korea

³Taeon Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute, Taeon 357-940, Korea

⁴Department of Biology, Dong-Eui University, 614-054, Korea

요 약 : 대부분의 연갑류에서 androgenic gland (AG)는 수컷의 성 분화와 성징의 발달에 관여하는 호르몬을 분비하는 것으로 알려져 있다. 징거미새우, *M. nipponense*의 AG는 제5보각 (fifth walking legs)의 저절 (coxopodite)내에 위치한 사정관과 수정관의 말단부 (distal vas deferens) 사이에 위치하고 있었다. AG는 단일 세포 가닥 (simple cellular strand)들로 이루어져 있고 이들 세포 가닥의 바깥은 섬유성 외피 (fibrous sheath)로 둘러싸여 있었다. 특히, 각 세포 가닥의 가장자리를 둘러싸고 있는 섬유성 외피에는 미세융모 (microvilli)들이 존재하고 있었다. AG 세포의 핵은 난구형으로 관찰되었고, 핵 내에는 전자밀도가 높은 2~3개의 핵소체 (nucleolus)와 전자밀도가 다소 낮은 과립상의 염색질 (chromatin)들이 분산되어 존재하였다. 세포질 내에는 매우 잘 발달된 조면소포체와 Golgi 복합체 그리고 횡 방향의 크리스테를 갖는 미토콘드리아가 존재하는 점으로 보아 본 종의 AG 세포는 단백질-생산세포 (protein-production cell)로 판단되었다. 하지만, 단백질-생산세포의 구조를 가짐에도 불구하고 이들 세포로부터 분비과립과 같은 어떠한 물질도 관찰할 수 없었다. 이러한 분비물질이 관찰되지 않는 점은 생합성된 물질이 세포 내 축적없이 혈강으로 분비되기 때문인 것으로 판단되었다.

ABSTRACT : The androgenic gland secretes a hormone, androgenic gland hormone, which is believed to act on the differentiation of the primary, secondary, and behavioral sex characteristics in most malacostracan crustaceans. This report presents the ultrastructural morphology of the androgenic gland in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*. This gland, located in the coxopodite of the last pair of walking legs, was attached to the subterminal region of the sperm duct. The gland was composed of simple cellular strands, encased by a fibrous sheath. Microvilli were situated in the fibrous sheath, especially at the edge of each cellular strand. The androgenic gland cells had the large and round nucleus and rough endoplasmic reticulum arranged either in spirals or in concentric circles throughout the cytoplasm of the cell. They also had the well-developed Golgi complex and long mitochondria with flat and transverse cristae. The Golgi complex was similar to microvesicular cluster, but usually in the shape of typical dictyosomes. These features of androgenic gland cells coincides well with the protein/peptide secretion in their function. However, despite the apparent ultrastructural equipment for protein/peptide secretion, no accumulation of materials secreted were noticed in the cytoplasm. Therefore it is strongly suggested that the transient transportation of the materials into the hemocoel has occurred just after synthesis.

Key words : Androgenic gland, Golgi complex, Rough endoplasmic reticulum, *Macrobrachium nipponense*.

서 론

징거미새우, *Macrobrachium nipponense*는 우리나라를 비

본 연구는 1998년도 동의대학교 학술연구비 지원과 학술진흥재단 학술연구비 지원 일부에 의해 연구되었음.

롯한 동북아시아에 널리 분포하는 담수산 갑각류로서 체장이 90 mm 전후까지 성장하며, 우리 나라 담수산 새우류 중에서는 가장 큰 종에 속한다. 체형이 비교적 크고 산업적 가치가 높기 때문에 본 종에 대하여 유생의 발생 및 생태 (Kwon & Uno, 1969), 포란과 산란생태 (Uno, 1971; Kwon & Han, 1982) 그리고 난 형성과 이와 관련된 생리학

적 연구 (Han, 1988; Han & Kim, 1993; Han et al., 1994) 등 비교적 많은 연구들이 이루어져 왔다. 그러나 생식기구에 관련된 연구에서 암컷에 대한 연구뿐만 아니라 수컷의 생식기구를 규명하는 것도 중요함에도 불구하고, 지금까지 본 종에 대한 연구들은 암컷의 생식과 관련된 연구들이 대부분이다.

수컷의 제 1, 2차 성징의 발달과 분화는 androgenic gland (AG)에 의해 조절된다는 Charniaux-Cotton (1954)의 보고 이후, 매우 다양한 갑각류를 대상으로 AG의 구조에 대해 보고되고 있다. 이 연구들에 의하면 AG의 구조적 특징으로 보아 AG에서 androgenic gland hormone (AG hormone)이 생성·합성되어 분비될 가능성이 많으며 이 호르몬에 의해 수컷의 1차 성징과 2차 성징의 분화를 조절할 것이라고 알려져 왔다 (Charniaux-Cotton & Payen, 1985). 최근에 육상에서 서식하는 등각류 (Isopoda)의 일종인 *Armadillidium vulgare*에서 AG hormone을 분리하여 그 구조를 밝히려가 있으나 (Martin et al., 1990; Hasegawa et al., 1991), AG hormone의 pathway에 대해서는 아직까지 명확하게 밝혀져 있지 않은 상태이다. 십각류 (Decapoda)에서는 아직까지 AG hormone을 분리한 바는 없으며, 단지 징거미새우류인 *Macrobrachium rosenbergii*에서 AG의 제거에 의해 수컷의 정소가 퇴화되고, 어린 암컷에 AG를 이식하면 양성화 (masculinization)된다는 보고 (Nagamine et al., 1980a,b)와 수컷의 성숙 단계에 따라 AG 세포의 활성이 달라짐으로 보아 생식선의 성숙에도 관여할 것이라는 보고 (Okumura et al., 1997)가 있다.

저자들은 징거미 새우, *M. nipponense*의 수컷 생식조절 기구들 가운데 앞서 기술한 AG의 기능을 규명하기 위한 연구의 일환으로 우선 AG를 이루고 있는 세포의 미세구조와 특징을 파악하고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 새우는 1998년 5월과 6월에 부산광역시 해동수원지에서 채집된 성숙한 수컷 새우 (두흉갑장, 21~25mm)를 사용하였다. 채집 당시의 채집지 수온은 22~24°C, 일장은 14L/10D였다. 채집된 실험동물의 AG는 해부현미경하에서 AG가 위치하고 (Kim & Han, 1998) 있는 사정관과 수정관의 말단부만 절취하여 Bouin's solution에 고정한 다음, 상법인 paraffin 절편법에 의해 5~6µm 두께로 연속절편을 만들었다. 절편된 조직은 Hansen's haematoxylin-eosin으로 비교 염색하였고, AG 세포들의 미세구조관찰을 위해서는 2.5% glutaraldehyde (0.2 M phosphate buffer,

pH 7.2)에 4시간 동안 1차 고정 후, 1% osmium tetroxide에 2시간 동안 후고정하여 ethyl alcohol series로 탈수하였다. 포매는 Epon 812를 사용하였다. 절편은 ultramicrotome (LKB, Nova, Sweden)을 사용하여 60~90 nm 두께로 만든 후, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하였다. 염색된 조직은 200 mesh copper grid에 부착한 후, 투과형 전자현미경 (JEM 1200EX-II, JEOL, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

징거미새우의 AG는 제5보각 (fifth walking legs)의 저절 (coxopodite) 내에 위치한 사정관과 수정관의 말단부 (distal vas deferens) 사이에 위치하고 있었으며 (Fig. 1), 유백색의 불규칙한 형태의 세포덩어리로 관찰되었다. 사정관에 위치한 AG는 사정관의 환상근 (transverse muscle)과 종주근 (longitudinal muscle)으로 구성된 근육층에 결합조직에 의해 연결되어 있고, 수정관의 말단부에 위치한 AG는 말단부의 근섬유 (muscle fibrils) 및 상피세포의 외피와 결합조직으로 연결되어 있었다 (Fig. 2). AG는 일련의 세포들이 모여 단일 세포 가닥 (simple cellular strand)을 이루고 이 세포 가닥들이 뭉쳐져서 복합세포가닥 (compound strand)으로 구성되어 있었다. 각 세포 가닥의 외부는 섬유성 외피 (fibrous sheath)로 둘러싸여 있었다. AG 세포의 핵질과 세포질의 경계는 염기성 핵막에 의해 쉽게 구분되나 같은 세포 가닥 내에 있는 세포들의 세포질 경계는 다소 구분하기가 어려웠다. 핵은 haematoxyline에 약하게 염색되는 부분과 농염하게 염색되는 핵소체로 구성되어져 있고 그 크기는 최대 8 µm 정도였다 (Fig. 2).

전자현미경으로 관찰된 AG 세포들의 일반적인 형태와 세포의 배열은 광학현미경 관찰과 동일하였다. 즉, 각 단일 세

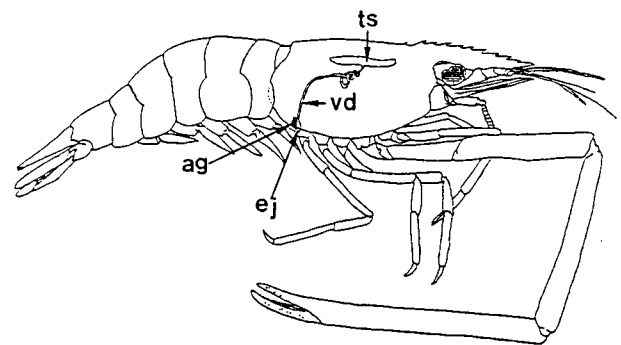


Fig. 1. Diagram of the male reproductive system showing the location of the androgenic gland. ag, androgenic gland; ej, ejaculatory duct; ts, testis; vd, vas deferens.

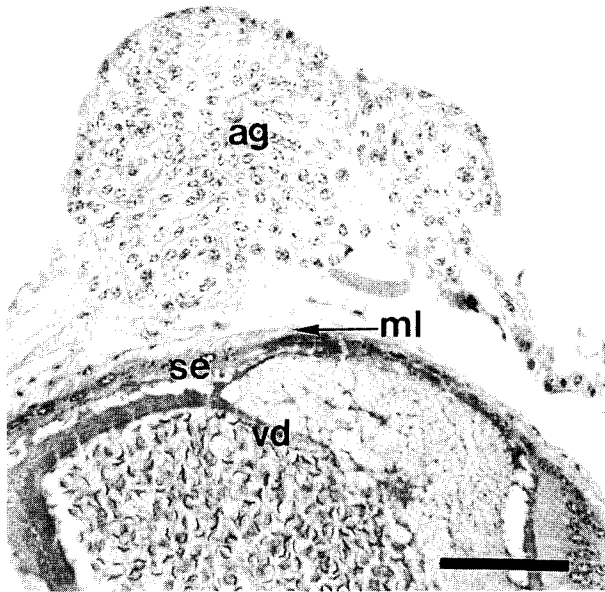


Fig. 2. Transverse section of androgenic gland in *M. nipponense* stained with haematoxylin and eosin. ag, androgenic gland; ml, muscle layer; se, simple columnar epithelium, vd, vas deferens. Scale bar represents 50 μm .

포가닥은 매우 얇은 세포막으로 구분되는 일련의 세포들이 두께가 약 0.2 μm 의 섬유성 외피 (fibrous sheath)로 둘러싸여 있고, 특히 각 세포 가닥의 가장자리에 위치하는 있는 세포들의 세포질은 돌출되어 미세융모 (microvilli)로 형성되어 있고, 이러한 미세융모는 섬유성외피에 의해 둘러싸여 있었다 (Figs. 3 and 4B).

AG 세포의 핵은 6~8 μm 크기의 난구형으로 관찰되었고, 핵 내에는 전자밀도가 높은 2~4개의 핵소체 (nucleolus)와 전자밀도가 다소 낮은 과립상의 염색질 (chromatin)들이 분산되어 존재하였다 (Figs. 3 and 4A).

AG를 이루고 있는 각 세포들은 대체로 거의 동일한 크기의 세포질을 갖고 있었으며, 세포질 (cytoplasm)내에는 매우 잘 발달된 조면소포체 (rough surfaced endoplasmic reticulum, rER)와 Golgi 복합체가 존재하고 있었다. rER은 대부분 층상구조로 이루어져 있었고 세포질 내에 광범위하게 분포하고 있었으며 종종 나선상으로 배열되어 지문 (fingerprint shaped)형태로 관찰되었다 (Figs. 3 and 4C). Golgi 복합체는 납작한 층상구조 (lamellar membrane)를 하고 있고, rER과 Golgi 복합체의 볼록한 형성면 (convex forming surface)사이에는 전이소낭 (transition vesicle)들이 관찰되었다 (Figs. 4 A, E). 미토콘드리아는 대부분 긴 타원형의 구조를 하고 있었고, 크리스테는 대부분 횡 방향으로 되어있지

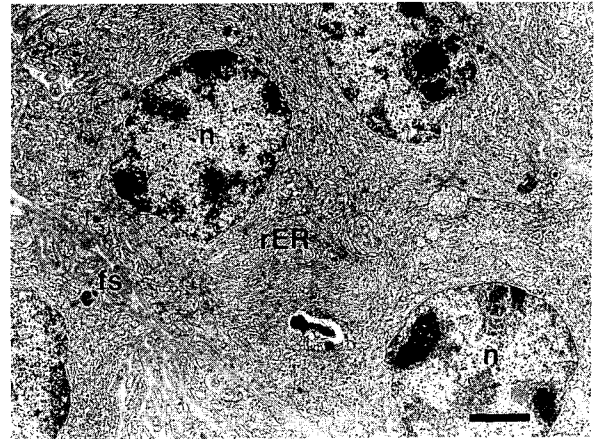


Fig. 3. General view of the structure of the androgenic gland as seen by low-magnification electron microscope. fs, fibrous sheath; n, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum. Scale bar represents 2 μm .

만, 불규칙하게 되어있는 경우도 관찰되었으며 (Fig. 4D), rER이 잘 발달된 부분에서는 미토콘드리아가 거의 존재하지 않는 양상을 보였다. 미에린 층상구조 (myelin lamella) (Fig. 4A)와 핵 주변에 종축 (long axis)으로 배열된 한 쌍의 중심소체 (centriole)도 관찰되었다 (Fig. 4E).

고찰

AG를 이루고있는 세포 배열에 대해 대부분의 단미류 (Brachyura)에 속하는 종들은 단일 세포가닥 (simple cellular strand)이 모여 하나의 AG를 구성하는 반면, 곤쟁이류에 속하는 종들은 소엽 (lobule)이 모여 구성되어 있고, 단각류, 기생성 등각류 및 새우류는 문합된 세포가닥 (anastomosed strand)으로 이루어져 종에 따라 세포배열은 다양한 양상을 가지며, 또한 이들 세포 군 (cellular grouping)들은 결합조직에 의해 싸여 있다고 하였다 (Charniaux-Cotton & Payen, 1985). 본 종의 AG의 세포배열은 단일 세포가닥들이 결합조직에 의해 연결되어 하나의 문합된 세포 군을 형성하고 있어 다른 새우류의 세포 배열과 동일한 것으로 판단되었다. 이러한 세포배열은 징거미 과 (Palaemonidae)의 *M. rosenbergii*의 AG도 세포가닥 (cellular strand)으로 이루어져 있다고 보고한 바 있다 (Okumura et al., 1997).

AG의 성장에 관해 Carpenter & De Roos (1970)는 가재의 일종인 *Orconectes nais*에서 AG 세포가 상대적으로 크기가 작고 농밀하게 염색되는 성숙기에 AG의 면적이 가장 크게 관찰되는 점으로 보아 AG의 성장은 세포 비대 현상

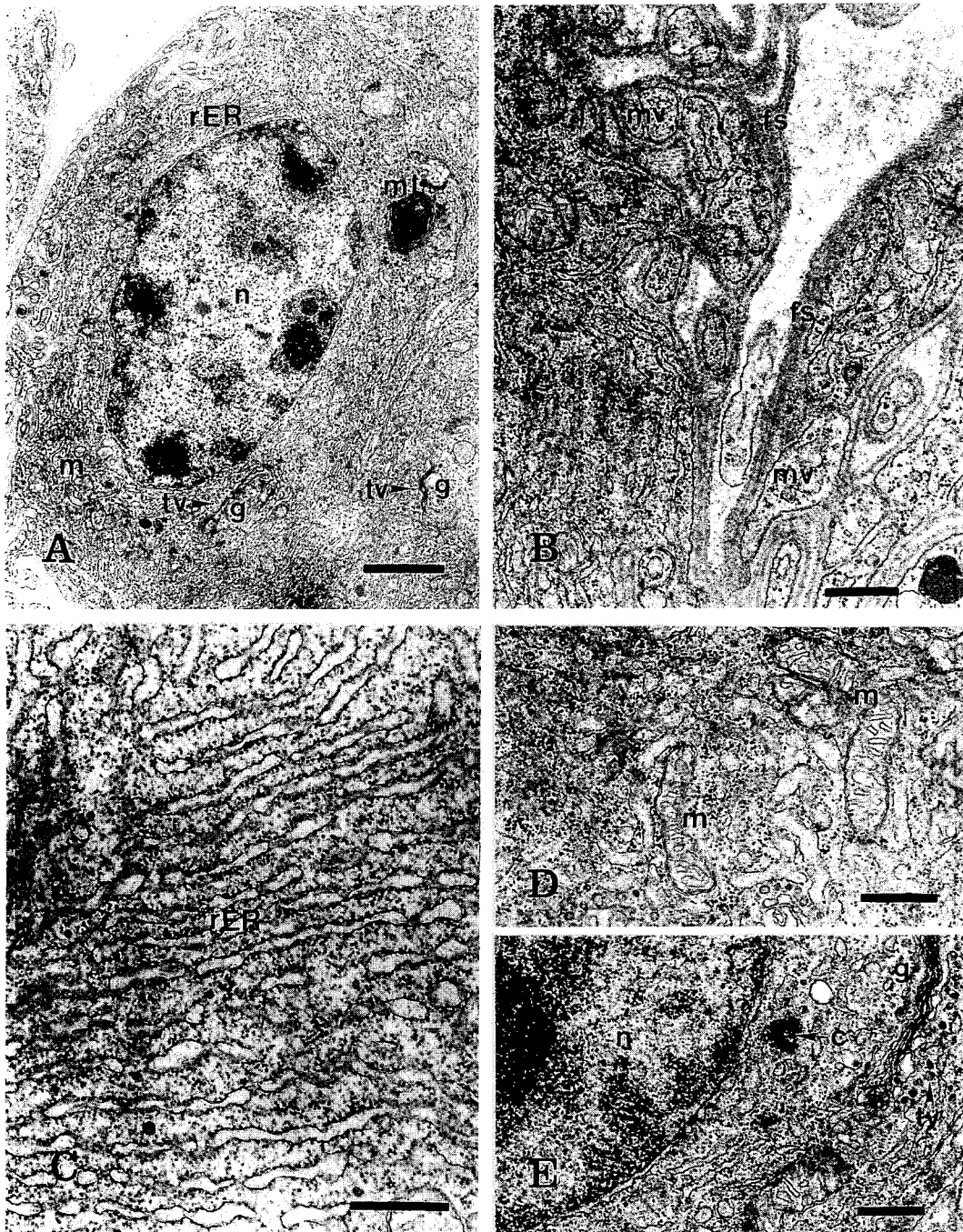


Fig. 4. Details of cytoplasmic structure. c, centriole; fs, fibrous sheath; g, Golgi complex; m, mitochondria; ml, myelin lamella; mv, microvilli; n, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum; tv, transition vesicle. Scale bar in A represents $2 \mu\text{m}$. Scale bars in B, C, D, and E represent $0.5 \mu\text{m}$.

(cell hypertrophy)으로 이루어지는 것이 아니라, 유사분열에 의해 성장되는 것으로 보고하였다. 본 종의 경우도 성숙기 때 핵 주위에 한 쌍의 중심소체가 관찰되는 점으로 보아 본 종의 AG의 성장도 유사분열에 의한 세포성장이 이루어지는 것으로 판단되었다.

King (1964)은 바위게, *Pachygrapsus crassipes*의 AG는 활면소포체 (smooth endoplasmic reticulum), 관상의 크리스테를 갖는 타원형의 미토콘드리아, 그리고 소수의 Golgi 복합체들로 이루어진 포유류의 정소간질세포 (testicular interstitial cell)나 황체세포 (lutein cell)등과 같은 스테로이드-합

성세포 (steroid-synthesizing cell)보다는 포유류의 췌장 (pancreas)이나 부갑상선 (parathyroid)과 같은 단백-분비세포 (protein-secreting cell)와 그 구조가 매우 유사한 것으로 보고한 바 있다. 그리고 Taketomy (1986)와 Okumura et al. (1997)도 각각 *Procambarus clarkii*와 *M. rosenbergii*의 AG의 세포질 내에 잘 발달된 rER, 다수의 Golgi 복합체 그리고 횡방향으로 돌출된 크리스테로 이루어진 미토콘드리아 등을 갖는 것으로 보아 이들 종들의 AG도 단백-분비세포인 것으로 보고하고 있다. 또한 Hasegawa et al. (1991)은 등각류의 일종인 *A. vulgare*로부터 AG hormone은 분자량이 16 KDa와 72 KDa의 2종류의 단백질로 나뉘어 진다고 보고하였다. 이러한 보고들의 결과와 비교해볼 때 본 종의 AG 세포도 앞서 기술한 미세구조의 특징으로 보아 단백-분비세포인 것으로 판단할 수 있었다.

그러나 최근까지 다양한 갑각류를 대상으로 AG 세포의 미세구조에 관한 연구가 진행되었지만 이들 세포로부터 분비물질의 형성과정이나 생성된 분비물질의 분비경로에 관해서 명확히 알려져 있지 않는 상태이다. 단지, 이러한 분비물질이 관찰되지 않는 점에 대해 King (1964)은 분비물질이 세포질 내에 축적되어 분비되는 것이 아니라 생 합성된 물질은 축적에 앞서 혈강 (haemocoel)으로 즉시 방출되기 때문인 것으로 추측한 바 있고, Radu & Craciun (1976)은 육상 등각류의 일종인 *Porcellio scaber*의 AG 세포는 세포막이 파괴되면서 세포내 물질이 혈강 (haemocoel)내로 방출되는 전분비방식을 갖는 것으로 보고한 바 있다. 본 종의 경우는 King (1964)의 보고에서와 같이 생성된 분비물질은 세포질 내에 과립이나 액포와 같은 형태로 축적되기 전에 즉시 혈강으로 방출되는 것으로 판단된다. 이러한 분비 방식은 본 종의 AG를 구성하고 있는 각 세포 가닥의 가장자리는 세포질의 일부가 돌출된 미세융모 (microvillus)의 형태로 존재함으로써 세포의 자유표면적을 증가시켜 분비물질의 분비효율을 높임으로서 세포내의 축적 없이 혈강으로 방출되는 것으로 생각된다.

Taketomy et al. (1996)은 *P. clarkii*의 AG는 2종류의 세포 즉, 세포질 내에 rER, 미토콘드리아 그리고 Golgi 복합체 등과 같은 세포 소기관이 충만하게 산재하여 전자밀도가 높게 나타나는 세포와 세포질내에 rER이나 그 밖의 세포 소기관이 상대적으로 적으며, 핵의 내 외막이 분리되어 핵주위소조 (perinuclear space)를 갖는 퇴화 중인 2종류의 세포로 구성되어 있으며 이들 2종류의 세포들은 생식주기에 따라 그 비율이 다르게 나타나는 것으로 보고하였다. 그러나 본 종의 AG 세포는 거의 동일한 크기, 구조 및 전자밀도로 관찰되는

점으로 보아 본 종의 AG는 1종류의 세포로 이루어져 있는 것으로 판단되었다.

앞으로 AG의 기능을 구명하기 위해서는 성숙단계에 따른 AG 세포의 변화, AG의 절체에 따른 제 1, 2차 성징의 변화와 AG hormone을 분리하여 그 특성을 밝히는 연구가 필요하다.

인용문헌

- Capenter MB, DeRoos R (1970) Seasonal morphology and histology of the androgenic gland of the crayfish, *Orconectes nais*. Gen Comp Endocrinol 15: 143-157.
- Charniaux-Cotton H (1954) Decouverte chez un Crustace Amphipode (*Orchestia gammarella*) d'une glande endocrine responsable de la differenciation des caracteres sexuels primaires et secondaires males. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences 239: 780-782.
- Charniaux-Cotton H, Payen G (1985) Sexual differentiation in malacostracans. In: Bliss DE and Mantel L (eds.), The Biology of Crustacea 9. Academic Press, Orlando, pp. 257-265.
- Han CH (1988) Physiological studies of the reproductive cycle of a freshwater prawn, *Macrobrachium nipponense* (De Haan). Ph. D. Thesis, Tokyo Univ. Japan.
- Han CH, Kim DJ (1993) Studies on the x-organ of eyestalk and the photoperiod for the control of gonadal maturation in a freshwater prawn, *Macrobrachium nipponense* (De Haan). Bull Korean Fish Soc 26 (1): 76-90. (in Korean).
- Han CH, Okumura T, Suzuki Y, Aida K, Hanyu I (1994) Immunocyto-Chemical identification of the site of vitellogenin synthesis in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*. Fish Sci 60 (2): 149-154.
- Hasegawa Y, Haino-Fukushima K, Katakura Y (1991) An immunoassay for the androgenic gland hormone of the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. Invert. Reprod Develop 20 (1): 59-66.
- Kim DH, Han CH (1998) Structure of the male reproductive system in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*. Korean J Life Science 8 (5): 582-588. (in Korean).

- King DS (1964) Fine structure of the androgenic gland of the crab, *Pachygrapsus crassipes*. Gen Comp Endocrinol 4: 533-544.
- Kwon CS, Han CH (1982) View on the morphological characters of breeding dress and setae formed in the spawning period of a freshwater prawn, *Macrobrachium nipponense* (De Haan) reared in the laboratory condition. Dongueui Nonjib 7: 337-345.
- Kwon CS, Uno Y (1969) The larval development of *Macrobrachium nipponense* (De Haan) reared in the laboratory. La mer 7 (4): 30-46.
- Martin G, Juchault P, Sorokine O, Dorsselaer A (1990) Purification and characterization of androgenic hormone from the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare* Latr. (Crustacea, Oniscidea). Gen Comp Endocrinol 80: 349-354.
- Nagamine C, Knight AW, Maggenti A, Paxman G (1980a) Effects of androgenic gland ablation on male primary and secondary sexual characteristics in the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Decapoda, Palaemonidae), with first evidence of induced feminization in a nonhermaphroditic decapod. Gen Comp Endocrinol 41: 423-441.
- Nagamine C, Knight AW, Maggenti A, Paxman G (1980b) Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) by androgenic gland implantation. Gen Comp Endocrinol 41: 442-457.
- Okumura TM, Hara M, Okiyama M (1997) Possible roles of the androgenic gland in male reproduction in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. In: Proc. VIII International Congress of Comparative Endocrinology, Yokohama, Japan, 16-21 Nov, 1997, pp 73-77.
- Radu VGh, Craciun C (1976) The ultrastructure of the androgenic gland in *Porcellio scaber* Latr. (Terrestrial Isopods). Cell Tissue Res 175 : 245-263.
- Taketomi Y (1986) Ultrastructure of the androgenic gland of the crayfish, *Procambarus clarkii*. Cell Biol Internl Rep 10: 131-136.
- Taketomy Y, Murata M, Imakado K (1996) On the androgenic gland of the crayfish, *Procambarus clarkii*. Natural Sci. Kumamoto Univ. 31: 65-72.
- Uno Y (1971) Studies on the aquaculture of *Macrobrachium nipponense* (De Haan) with special reference to breeding cycle, larval development and feeding ecology. La mer 9: 123-128.