

## 한국 재래 닭 부화 후 고환 발달에 관한 연구

장병귀<sup>3</sup> · 태현진<sup>1</sup> · 최철환<sup>3</sup> · 박영재<sup>1</sup> · 박병용<sup>1</sup> · 박상열 · 강형섭 · 김남수 · 이영훈<sup>2</sup> · 양홍현<sup>1</sup> · 안동춘<sup>3</sup> · 김인식<sup>1,†</sup>  
전북대학교 생체안전성연구소, <sup>1</sup>수의과대학 해부학교실, <sup>2</sup>전북대학교 치과대학, <sup>3</sup>축산연구소 가금과, <sup>4</sup>강원대학교 수의학과

### Studies on the Post-hatching Development of the Testis in Korean Native Chickens

B. G. Jang<sup>2</sup>, H. J. Tae<sup>1</sup>, C. H. Choi<sup>2</sup>, Y. J. Park<sup>1</sup>, B. Y. Park, S. Y. Park, H. S. Kang,  
N. S. Kim, Y. H. Lee<sup>2</sup>, H. H. Yang<sup>1</sup>, D. C. Ahn<sup>3</sup> and I. S. Kim<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Bio-Safety Research Institute, Department of Veterinary Anatomy, College of Veterinary Medicine,

<sup>2</sup>School of Dentistry, Chonbuk National University, <sup>3</sup>Poultry Division National Livestock Research Institute,

<sup>4</sup>Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University

**ABSTRACT** Changes in the chicken testis from hatching to adulthood were studied in Korean native chickens of 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21, 24, 28, 32, 44, 52 and 64 weeks ( $n=13$  chickens per group) of age. The present study was to investigate in more detail the post-hatching development of testis in Korean native chickens. Testes of chickens were fixed by whole body perfusion using a fixative containing 2.5% glutaraldehyde in cacodylate buffer, processed and embedded in Epon-araldite. Using 1  $\mu$ m sections stained with methylene blue-azure II, qualitative and quantitative(stereological) morphological studies were performed. Sperm production was measured by routine technique. The average volume of a testis of 1 week old Korean native chickens was determined as 0.015 g and the parameter increased linearly from 1 week to 21 weeks days (28.9 g), and did not change from 21 weeks to 64 weeks. The volume density of the seminiferous tubules increased with age from 32.6% at week 1 to 92.89% at week 64. The volume density of the interstitium represents 67.4% of the testicular parenchyma at week 1. This proportion progressively diminished during development to reach a value of 7.11% at week 64. Total sperm production per testis increased significantly from 18 weeks to 28 weeks and remained unchanged. Sperm production per 1 g testis increased significantly from 18 weeks to 28 weeks, did not change significantly from 28 weeks to 52 weeks, and declined significantly at 64 weeks of age. The average diameter of the seminiferous tubules gradually increased with age from 1 week (42.4  $\mu$ m) to 21 weeks (412.8  $\mu$ m). The length of the seminiferous tubules was 0.34 m at 1 week, increased significantly in subsequent age groups and reached 72.2 m by weeks 64. The stage of germ cell development in seminiferous tubules was classified as 1) spermatogonia (1~8 weeks), 2) spermatogonia and spermatocytes (10~12 weeks), 3) spermatogonia, spermatocytes and round spermatids (14~16 weeks), and 4) spermatogonia, spermatocytes, spermatids and spermatozoa (18~64 weeks). These results clarified the pattern of changes in the testicular development in Korean native chickens from hatching to adulthood as 1) neonatal-prepubertal (1~12 weeks), 2) puberty(14~18 weeks), and adult(21~64 weeks).

(Key words : testis, post-hatching development, Korean native chickens)

## 서 론

고환(testis)은 다양한 세포의 종류를 갖고 있는 수컷 생식 기관으로 정자발생세포(spermatogenic cells)와 이들 세포를 지지하고, 영양 공급 및 보호하는 지지 세포(Sertoli cell)로 구성되어 정자 발생(spermatogenesis)을 담당하는 곱슬정세관

(seminiferous tubules)과 내분비 기능을 담당하는 간질세포(interstitial cell, Leydig cell)를 포함한 간질 조직(interstitium)으로 이루어져 있고(Ariyaratne and Mendis-Handagama, 2000; Christensen, 1975; Kim et al., 2002; Russel and Franca, 1995), 간질 조직은 간질세포(Leydig cell), 중간엽세포(mesenchymal cells), 근모양세포(myoid cell), 림프공간(lymphatic spaces), 혈

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : iskim@chonbuk.ac.kr

관(blood vessels), 혈관내피세포(vascular endothelial cell) 및 혈관주위세포(pericytes)로 구성되어 있다(Ewing and Zirkin, 1983; Kim et al., 2002; Kim and Yang, 2001; Mendis-Handagama and Ewing, 1990).

고환을 이루고 있는 각 구성 세포의 구조적인 특징을 구명하는 방법은 광학현미경(Gottreich et al., 1995; Kerr and Knell, 1988; Sanchez et al., 1993)과 전자현미경(Connell and Christensen, 1975; Gondos et al., 1973; Gondos, 1977; Prince, 1984)에 의한 관찰뿐만 아니라 최근에는 형태계측학 기법을 적용하여 간질조직을 이루고 있는 각기 다른 유형의 세포들의 형태와 기능의 상호 연관성에 관한 연구가 사람(Nistal et al., 1986), 개(Zirkin et al., 1980), 흰쥐(Bortolissi et al., 1990; Kim et al., 2002), 생쥐(Blackburn et al., 1973), 원숭이(Fouquet et al., 1984), 햄스터(Sinha-Hikim et al., 1989), 돼지(Franca et al., 2000) 등에서 보고되어 있고, Fawcett et al.(1973)은 14종의 포유 동물류에서 간질 조직 구성에 대한 형태적인 차이를 보고하였으며 이 밖에도 동물에 따른 간질세포의 형태 및 기능의 차이에 관한 비교 연구가 이루어져 있다(Ewing et al., 1979; Kim et al., 2000; Zirkin et al., 1980).

출생 후 성장 단계별 고환 발달에 관한 많은 연구는 흰쥐(Ewing and Zirkin, 1983; Mendis-Handagama et al., 2001; Mendis-Handagama et al., 1987; Mendis-Handagama and Ewing, 1990), 토끼(Castro et al., 2002; Gondos et al., 1977) 등의 많은 포유 동물류에서 다양한 기법을 적용하여 보고된 바 있으나 닭에서 부화 후부터 성 성숙 시기까지 고환의 발달에 관한 연구를 살펴보면 브로일러(Bennett, 1967; Sharp et al., 1977; Parker et al., 1972), 레그혼(Aire, 1973), guinea-fowl(Brillard, 1986) 및 Fayomi(Kalmer, 1969)에서 극히 제한되어 있고 이들 결과의 대부분은 고환 무게, 볏(comb) 무게, 체중 및 곱슬 정세관의 길이 등의 결과만이 보고되어 닭에서 성장 단계별 고환의 발달 정도를 이해하는 데에는 많은 어려움이 있다. 또한 포유 동물류와 조류의 고환 발달에 관한 연구를 살펴보면 출생 후부터 성 성숙 시기까지 성장 단계별로 고환 조직을 구성하고 있는 각각의 구조에 관한 상세한 보고는 번식 기능을 이해하는데 중요하지만 포유 동물류 및 조류에서 이러한 연구 내용은 극히 적다. 특히, 한국 재래 닭에서 일정한 시기별로 형태학적인 방법을 적용하여 고환 발달의 정도를 파악한 연구는 접할 수 없는 실정이다.

따라서 다른 실험 동물에 비하여 고환 구조의 특징에 관하여 명확하게 밝혀져 있지 않고, 최근 국제 상표 등록을 목표로 축산기술연구소 가금과에서 사육중인 한국 재래 닭 적색계통을 이용하여 부화 후부터 64주령까지 일정한 주령별

로 형태 계측학적인 방법과 일반 조직학적인 방법을 적용하여 고환 조직을 이루고 있는 각종 구성물의 용적 치밀도, 정자 발생 세포의 변화 등을 구명하므로써 재래 닭에서 고환의 발달 과정의 체계화를 위하여 이 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

본 연구에 이용된 공시축은 농촌진흥청 축산연구소 가금과에서 1992년부터 1994년까지 수집한 재래 닭을 기초로 하여 1995년부터 계통 조성한 적갈색(Dark Brown) 계통을 2002년 2월 21일에 부화하여 사육하면서 출생 후 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21, 24, 28, 32, 44, 52 및 64주령 ( $n=13/\text{주령}$ )의 수컷 재래 닭(Korean native chicken)을 실험에 사용하였다.

### 2. 사양 관리

#### 1) 사육 방법

병아리는 발생 직후부터 6주령까지는 육추 케이지에서 사육하였고 7~15주령까지는 중추, 대추 케이지에서 사육하였으며, 16주령부터 시험 종료시(64주령)까지는 산란 케이지 1칸에 1수씩 사육하였다.

#### 2) 사양 관리

축산연구소 사료 공장에서 생산한 사료를 NRC 사료 표준에 준하여 급여하였으며, 0~6주령에는 어린 병아리 사료, 7~14주령에는 중병아리 사료, 15~18주령에는 큰병아리 사료, 19주령부터 시험 종료시까지는 산란 종계 사료를 급여하였다.

#### 3) 점등 관리

점등 관리는 발생시부터 4주령까지는 종야 점등을 실시하였고 5주령부터 19주령까지는 자연 일조에 따랐으며, 19주령부터는 매주 15분씩 점등 점등하여 자연 일조 시간과 합하여 17시간이 되도록 하였으며, 그 후 시험 종료시까지 고정 점등을 실시하였다.

### 3. 조직 표본 제작

고환 조직을 관류고정( $n=8/\text{group}$ )하기 위하여 실험 동물을 ketamine(3 mL/kg)으로 마취한 후 체중을 측정하고 관류

고정(perfusion fixation) 도중 혈액이 응고하는 것을 방지하기 위하여 heparin(Sigma, 100,000 Unit) 150 IU/kg을 복강 내에 주입하고 15분 후에 복강을 절개하고, 고정 전 고환의 용적을 측정하기 위하여 오른쪽 고환을 적출하여 chemical balance (Sartorius, BP 210 S, Germany)로 무게를 측정한 다음 대동맥을 절개하여 cutdown tube를 삽입하고 전신의 혈관을 1~2분 동안 세척하였다. 이후 2.5% glutaraldehyde로 대체하여 약 40분 동안 관류 고정하였다. 고환의 고정 후 용적을 측정하기 위하여 고환을 적출한 후 chemical balance를 이용하여 무게를 측정하고 sucrose를 사용하여 부양법(floatation method)으로 비중(specific gravity)을 측정하여 고정 후의 고환 용적을 산출하였다(고환 용적 = 고환 무게/고환비중). 조직 표본 제작을 위하여 고환을 2~3 mm로 세절하여 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 12시간 동안 고정한 후 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 고정한 후 alcohol로 탈수하고 Epon-812로 포매하여 각 개체당 블록 20개씩을 제작하였다.

#### 4. 광학 현미경 관찰

초박절편기(ultramicrotome, Leica ultracut-s, Austria)를 이용하여 1  $\mu$ m로 후박절편(semi-thin section)을 제작하고 1% methylene blue-azure II로 염색하고, canada balsam으로 봉입하였다. 고환 조직을 광학현미경(Leica, DMRBE, Germany)에서 관찰하고 사진을 촬영하였다.

#### 5. 고환 조직 구성물의 용적 치밀도(Volume Density; Volume Per Unit Volume)

Point Counting(Weibel, 1969; Kim et al., 2002; Mendis-Handagama and Ewing, 1990)법을 적용, 121 point ocular grid를 장착한 광학현미경을 이용하여 point와 만나는 각 구조물(곱슬정세관, 간질 조직)의 수를 네 모서리와 가운데, 즉 5부위를 측정하였으며 각 개체 당 최소 50부위에서 최대 100부위를 중복되지 않게 측정하였다. 이것을 전체 point(121×5)로 나누어 각 고환 간질 조직 구조물의 용적 치밀도(v:v%)를 구하였다.

$$V_v\% \text{ of a component} = \frac{\text{number of points on the component} \times 100}{\text{total number of points on the testis tissue}}$$

#### 6. 정자 생성(Sperm Production)

Kirby et al.(1996)의 방법을 적용하여 오른쪽 고환을 적출하고 무게를 측정한 후 백막(tunica albuginea)을 제거하고

0.05% (vol/vol) Triton X-10과 0.25% M thimerosal (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo)이 혼합된 50 mL 생리식염수에서 semimicro Waring Blender를 이용하여 2분간 균질화시켰다. 정자 생성은 이 용액 0.2 mL를 4% trypan blue가 혼합된 0.8 mL 생리식염수에 희석하여 측정하였다. 고환 조직당 평균 정자 생성을 측정하기 위하여 이 용액 10  $\mu$ L를 혈구계(hemocytometer)로 광학현미경하에서 평균 5회 측정하였다. 이러한 방법으로 얻어진 수치는 고환 조직당 총 정자 수를 얻기 위하여 적용하였다.

#### 7. 곱슬정세관의 길이 측정

곱슬정세관의 길이는 실린더(cylinder)의 부피 즉,  $V = \pi r^2 l$  ( $r$  = 곱슬정세관의 반지름,  $l$  = 곱슬정세관의 길이)의 공식을 적용하여 측정하였고 곱슬정세관의 반지름은 원형의 정세관을 택하여 Image analyzer(Leica, Germany)을 이용하여 측정하였다(Wing & Christensen, 1982).

#### 8. 통계 분석

본 실험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linear Model(GLM) Procedure(SAS Ver. 6.12, SAS Institute, 1998)를 ANOVA로 통계 처리 후 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며  $P < 0.05$  이하의 유의성을 통계학적 차이로 인정하였다.

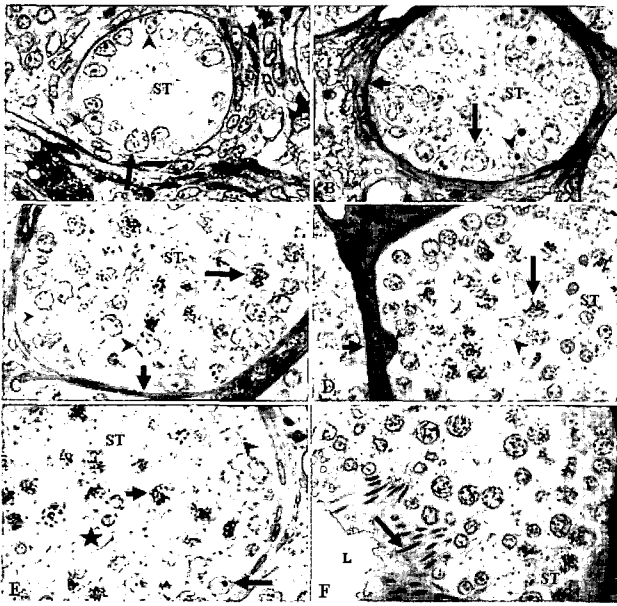
## 결 과

#### 1. 한국 재래 닭 고환 곱슬정세관의 광학현미경적 관찰

부화 후 2주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)내에는 발생중인 정조세포(spermatogonia, 긴 화살표)와 지지세포(Sertoli cell, 큰 화살표 머리)가 기저막에 가깝게 일렬로 배열되어 있었다(Fig. 1A).

부화 후 4주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 지지세포(큰 화살표 머리)의 핵이 기저막(짧은 화살표)에 가깝게 또는 멀리 떨어져서 위치하고 있고 정자 발생 세포(긴 화살표)의 숫자와 곱슬정세관의 직경이 현저하게 증가되어 있었다(Fig. 1B).

부화 후 10주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 지지세포(큰 화살표 머리) 핵의 외형은 주로 삼각형이었고 기저막(짧은 화살표)에서 멀리 떨어져서 위치하고 있으며, 정조세포(작은 화살표 머리) 및 정모세포(spermatocytes, 긴 화살표)를 관찰할 수 있었다(Fig. 1C).



**Fig. 1.** Representative light micrographs showing testis of Korean native chickens at post-hatching ages 2(A), 4(B), 10(C), 14(D), 16(E), and 18(F) weeks. All figures were of the same magnification ( $\times 1,000$ , methylene blue - azure II stain).

부화 후 14주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 지지세포(큰 화살표 머리)는 기저막(짧은 화살표)에 인접하여 있거나 멀리 떨어져서 위치하고 있으며, 정모세포(긴 화살표), 원형의 정자세포(round spermatid)가 관찰되기 시작하였다(Fig. 1D).

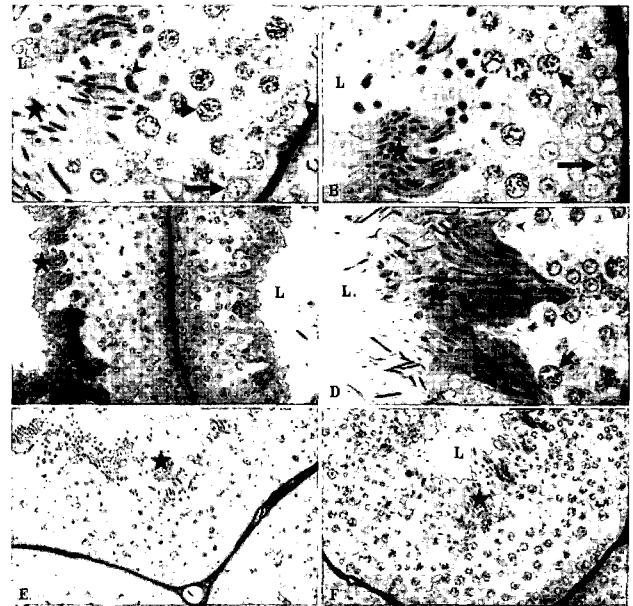
부화 후 16주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 불규칙한 핵을 갖고 있는 지지세포(큰 화살표 머리), 정조세포(긴 화살표), 정모세포(짧은 화살표), 정자세포(spermatid)와 이 시기부터 관강(lumen, 별표)이 관찰되기 시작하였다(Fig. 1E).

부화 후 18주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 정자(spermatozoa, 긴 화살표)가 관찰되기 시작하였고 이 시기부터 성숙 동물의 곱슬정세관과 큰 차이가 없었다(Fig. 1F).

부화 후 21 및 24주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 지지세포(큰 화살표 머리), 정조세포(긴 화살표), 정모세포(짧은 화살표), 정자세포(작은 화살표 머리), 정자(별표) 및 관강(L)이 관찰되었다(Figs. 2A, 2B).

부화 후 32주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관(ST)은 정모세포(짧은 화살표), 정자세포(작은 화살표 머리) 및 많은 정자(별표)가 관찰되었고 관강내(L)로 빠져나가는 정자가 또한 관찰되었다(Figs. 2C, 2D).

부화 후 44 및 64주령에 채취한 한국 재래 닭 곱슬정세관



**Fig. 2.** Representative light micrographs showing testis of Korean native chickens at post-hatching ages 21(A), 24(B), 32(C), 48(D), 48(E), and 64(F) weeks. All figures were of the same magnification ( $\times 1,000$ , methylene blue - azure II stain).

(ST)에는 많은 수의 정자(별표)와 관강(L)으로 빠져나가는 정자가 관찰되었다(Figs. 2E, 2F).

## 2. 고환 무게

부화 후 1주령 한국 재래 닭 고환 무게는 0.015 g이었고 1주령부터 14주령까지 점진적으로 증가하여 14주령에는 3.5 g이었으며, 16주령부터 급격히 증가하기 시작하여(8.75 g), 28주령까지 이러한 증가 양상이 지속되었고(30.10 g), 32주령부터 소폭으로 감소되었고(27.56 g) 이러한 감소 양상이 52주령까지 지속되다가(27.30 g) 64주령에는 34.20 g을 나타내었다(Table 1).

## 3. 고환 조직의 용적 치밀도

고환 조직을 이루고 있는 곱슬정세관과 간질조직의 용적 치밀도는 Table 1에 나타냈다. 곱슬정세관의 용적 치밀도는 부화후 1주령에 32.6%로 관찰되었고 점차적으로 유의성 있게 증가하여( $P < 0.05$ ) 10주령에 80.2%이었고 이 후 곱슬정세관내에 정자가 관찰되기 직전 시기인 14주령부터 성숙 동물의 수치와 차이가 없었고 64주령까지 큰 변화 없이 ( $P > 0.05$ ) 89.2~93.38%를 나타내었다(Table 1). 간질 조직의 용적 치밀도는 부화후 1주령에 67.4%를 나타내었고 단계적으로 감소되어 곱슬정세관내에 정자가 관찰되기 직전인 16주령에는

**Table 1.** Changes in testis weight (g), volume density of the seminiferous tubules (%) and volume density of the interstitium (%) in post-hatching Korean native chickens from 1 to 64 weeks of age (mean±SEM).

| Weeks | Parameter                  |  |  |
|-------|----------------------------|--|--|
|       | Testis weight (n=13/group) | Volume density of seminiferous tubule(n=8/group) | Volume density of interstitium (n=8/group) |
| 1     | 0.02±0.001 <sup>a</sup>    | 32.6 ±2.2 <sup>a</sup>                           | 67.4 ±2.9 <sup>a</sup>                     |
| 2     | 0.03±0.001 <sup>b</sup>    | 35.2 ±1.9 <sup>a</sup>                           | 64.8 ±2.1 <sup>a</sup>                     |
| 4     | 0.1 ±0.01 <sup>c</sup>     | 57.9 ±4.2 <sup>b</sup>                           | 42.1 ±1.8 <sup>b</sup>                     |
| 6     | 0.12±0.01 <sup>c</sup>     | 74.4 ±3.6 <sup>c</sup>                           | 25.6 ±1.7 <sup>c</sup>                     |
| 8     | 0.23±0.03 <sup>d</sup>     | 70.0 ±1.8 <sup>c</sup>                           | 30.0 ±1.5 <sup>c</sup>                     |
| 10    | 0.57±0.09 <sup>e</sup>     | 80.2 ±2.9 <sup>cd</sup>                          | 19.8 ±1.2 <sup>d</sup>                     |
| 12    | 2.02±0.46 <sup>f</sup>     | 82.0 ±0.46 <sup>e</sup>                          | 10.75±0.7 <sup>e</sup>                     |
| 14    | 3.51±0.76 <sup>g</sup>     | 90.8 ±4.8 <sup>e</sup>                           | 9.2 ±1.1 <sup>ef</sup>                     |
| 16    | 8.71±0.75 <sup>g</sup>     | 91.65±2.1 <sup>e</sup>                           | 8.35±0.9 <sup>ef</sup>                     |
| 18    | 12.8 ±0.57 <sup>g</sup>    | 90.5 ±1.8 <sup>e</sup>                           | 9.5 ±0.8 <sup>ef</sup>                     |
| 21    | 28.9 ±1.65 <sup>h</sup>    | 93.38±1.6 <sup>e</sup>                           | 6.62±0.4 <sup>f</sup>                      |
| 24    | 25.1 ±1.83 <sup>h</sup>    | 93.2 ±2.6 <sup>e</sup>                           | 6.8 ±0.4 <sup>f</sup>                      |
| 28    | 30.1 ±2.5 <sup>i</sup>     | 93.38±3.2 <sup>e</sup>                           | 6.62±0.3 <sup>f</sup>                      |
| 32    | 27.6 ±2.9 <sup>i</sup>     | 92.9 ±1.2 <sup>e</sup>                           | 7.1 ±0.5 <sup>f</sup>                      |
| 44    | 27.2 ±1.56 <sup>i</sup>    | 93.37±2.8 <sup>e</sup>                           | 6.63±0.7 <sup>f</sup>                      |
| 52    | 27.3 ±2.34 <sup>i</sup>    | 92.92±2.4 <sup>e</sup>                           | 7.08±0.5 <sup>f</sup>                      |
| 64    | 34.2 ±1.34 <sup>i</sup>    | 92.89±3.6 <sup>e</sup>                           | 7.11±0.6 <sup>f</sup>                      |

In each column, values with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

8.35%이었다. 이 후 18주령에 9.5%이었으며, 이 시기부터 유의성 없이( $P>0.05$ ) 소폭의 증가 및 감소를 나타내어 64주령에는 7.11%이었다(Table 1).

**4. 곱슬정세관의 직경**

부화 후 1주령과 64주령에서 한국 재래 닭 곱슬정세관의 직경은 각각 42.4 μm와 268.4 μm이었다. 부화후 1주령부터 12주령까지 지속적으로 유의성 있게 증가하여( $P<0.05$ ), 12주령에 233 μm를 나타내었고 14주령에 159.7 μm로 감소를 보인 다음, 21주령에 412.8 μm이었으며 32주령에 최고치인 441.8 μm를 나타내었다(Fig. 3).

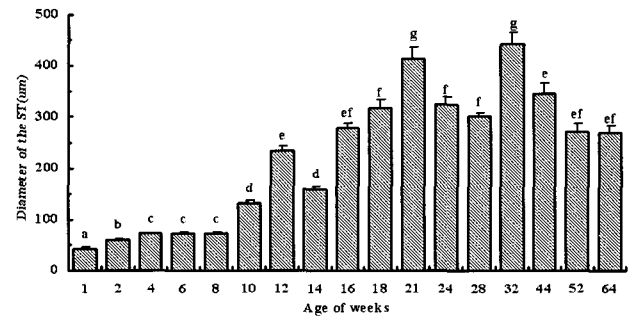
**5. 곱슬정세관의 길이**

부화 후 1주령 한국 재래 닭 곱슬정세관의 길이는 0.0034 km이었고 4주령부터(0.0146 km) 유의성 있게 증가하기( $P<0.05$ ) 시작하여 28주령까지 이러한 증가 양상이 계속되었고 32주령에 큰 폭으로 감소되어 0.168 km를 보였으며 64주령에 최고치인 0.722 km를 나타내었다(Fig. 4).

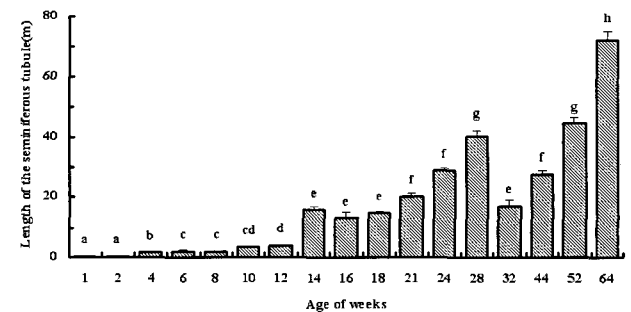
**6. 고환내 정자 생성과 고환 1g 당 정자 생성**

한국 재래 닭 고환내에서 18주령에서 정자가 처음으로 관찰되기 시작하였고 그 숫자는  $1.15 \times 10^9$ /testis이었으며 21주령부터 유의성 있게 증가하기 시작하여 24주령에는  $4.76 \times 10^9$ /testis을 나타내었으며 32주령에 최고치인  $7.73 \times 10^9$ /testis이며 64주령에는  $4.96 \times 10^9$ /testis이었다(Fig. 5).

고환 1g 당 정자 생성은 18주령에서  $39.8 \times 10^6$ /g testis이었고 21주령, 24주령 및 32주령에서 각각  $49.2 \times 10^6$ /g testis,  $92.5 \times 10^6$ /g testis,  $135.3 \times 10^6$ /g testis로 이 시기에는 주령이 증가함



**Fig. 3.** Diameter of the seminiferous tubules(μm) in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean ±SEM). Different letters indicate statistically significant difference ( $P<0.05$ ) among the age groups.



**Fig. 4.** Length of the seminiferous tubules (m) in post-hatching Korean native chickens from 1 to 64 weeks of age (mean ±SEM). Different letters indicate statistically significant difference ( $P<0.05$ ) among the age groups.

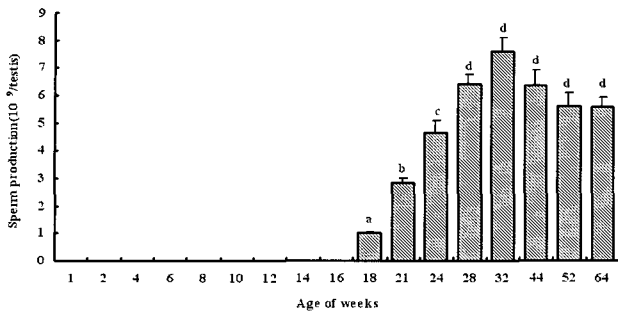


Fig. 5. Sperm production ( $10^9$ /testis) in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean $\pm$ SEM). Different letters indicate statistically significant difference ( $P<0.05$ ) among the age groups.

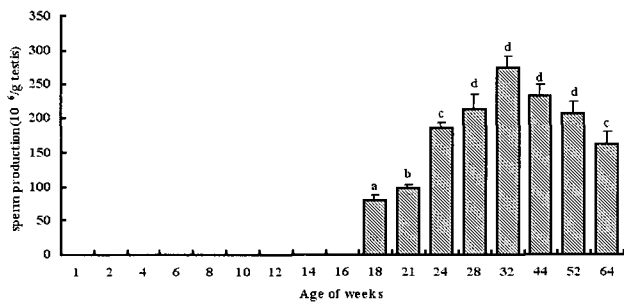


Fig. 6. Sperm production ( $10^6$ /g testis) in post-hatching Korean native chickens from 1 to 64 weeks of age (mean $\pm$ SEM). Different letters indicate statistically significant difference ( $P<0.05$ ) among the age groups.

에 따라서 유의성 있게( $P<0.05$ ) 증가하였다. 44주령과 52주령에는 약간 감소하는 양상을 보였으나 유의성은 관찰되지 않았고 64주령에서는 유의성 있게 감소하여( $P<0.05$ ) 24주령의 수치보다 낮은  $86.54 \times 10^6$ /g testis이었다(Fig. 6).

## 고찰

닭에서 고환은 부화 후 성장해 감에 따라서 형태적 및 기능적 변화를 초래하는데 부화 후 고환의 성장은 레그혼에서 50일령까지 느리게 증가하는 시기, 50~80일령까지 일반적인 증가, 110~160일령까지 급격한 증가 또는 성 성숙 시기, 성 성숙이 이루어진 후의 거의 변화가 없는 시기를 관찰하여 4기로 나누어져 있음을 보고하였다(Parker et al., 1972). 이와는 달리 Fayomi 수탉에서는 고환의 정상적인 발달을 관찰한 결과 3기로 나누었는데 즉, 초기 12주까지 점진적인 증

가 시기, 16~24주령까지 급격한 증가 그리고 25주령~1년까지 큰 변화가 없는 시기로 나누어져 있다(Kalmer, 1969). 고환의 크기와 성 성숙 사이에는 명확한 연관성이 있지만 성 성숙이 이루어지는 시기인 5개월 이후에는 연령과 고환의 상호 연관성이 없다(Bennett, 1967). 본 연구의 실험 동물인 한국 재래 닭에서 고환의 성장을 관찰한 결과 1주령부터 21주령까지 지속적으로 유의성 있게 증가하였고 24주령부터 64주령까지는 큰 차이가 없었다. 따라서 위의 연구 보고와 같이 고환의 성장을 정확하게 몇 기로 나눌 수는 없지만 형태적인 변화 관점에서 나누어 볼 때 1~10주령(0.015~0.57 g)까지 점차적인 증가, 12~21주령(2.02~28.86 g)까지 급격한 증가 및 24~64주령(25.08~34.2 g)까지 변화가 없는 시기로 나누어 3기로 나누어 볼 수 있다. 한국 재래 닭에서 부화 후 고환의 성장은 레그혼보다는 Fayomi 수탉과 조금 더 유사함을 알 수 있었고 성 성숙이 이루어진 후에 고환 성장이 변화가 없어 Bennett(1967)의 보고와 일치하는 결과를 얻었으며, 조류에서 종에 따라서 차이가 있음이 확인되었다.

한국 재래 닭에서 부화 후 1주령의 고환 간질 조직은 67.4%, 곱슬정세관이 32.6%를 차지하고 있었고, 이러한 비율은 성장하는 동안 간질 조직은 점진적으로 감소하는 반면, 이와는 다르게 곱슬정세관은 점차적으로 증가하여 64주령에서는 간질 조직과 곱슬정세관이 각각 7.11% 및 92.89%를 나타내었다. 이러한 결과에 의하면 고환은 크게 곱슬정세관과 간질 조직으로 이루어져 있는데, 고환 절대 용적에서 곱슬정세관의 절대용적 증가율이 간질 조직의 절대 용적 증가보다 27배 높다고 보고한 Rey et al.(1993)의 결과에 의하여 설명될 수 있으며, 출생 후 일령에 따른 고환 용적의 증가는 성 성숙 시기가 가까워지면서 곱슬정세관을 이루고 있는 정자 발생 세포(spermatogenic cells)의 분화가 활발해짐에 따라서 곱슬정세관이 차지하고 있는 용적이 증가하기 때문인 것으로 생각된다.

Guinea-fowl(Brillard, 1986)에서 8주령부터 20주령까지 고환의 급격한 성장을 초래하고 이 후 큰 변화 없이 70주령까지 계속된다. 본 연구에서 이 시기에 고환이 성장하는 동안 몇 가지 중요한 조직학적인 변화가 관찰되었는데 곱슬정세관의 직경과 길이는 8주령에 각각  $73.1 \mu\text{m}$ ,  $2\text{m}$ 이었으나 21주령에는  $412.8 \mu\text{m}$ ,  $20.1 \text{m}$ 으로 큰 폭으로 증가하였고 이와 더불어 곱슬정세관의 용적치밀도 또한 연관성 있게 증가하였다. 한국 재래 닭에서 14주령에 모든 실험 동물에서 원형의 정자세포(round spermatids)가 관찰되어 부화 후 고환 발달 과정에서 이 시기를 성 성숙(puberty)이 발현되는 시기로 분류하였고 21주령에 고환의 무게, 곱슬정세관의 형태 측정

학적 변화, 곱슬정세관을 이루고 있는 각기 다양한 정자 발생 세포의 일반적인 조직학적 소견이 그 이후의 실험군과 차이가 없어 21주령부터 성숙(adult) 한국 재래 닭으로 분류하였다.

수탉에서 고환이 급격한 증가 시기에 접어들고 정자 발생(spermatogenesis)이 완성되는 시기인 8~10주 사이에 성성숙이 발현되는 것으로 보고되어 있으나(Kalmer, 1969), 성 성숙이 발현되는 정확한 연령은 조류의 종(Aire, 1973)과 일조량(daylength) (Ingkasuwan and Ogasawara, 1976)에 의해서 결정이 되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 곱슬정세관내 생식세포의 발달 단계는 다음과 같이 분류할 수 있다. 1) 정조세포(1~8주령), 2) 정조세포, 정모세포(10~12주령), 3) 정조세포, 정모세포, 원형의 정자세포(14~16주령), 4) 정조세포, 정모세포, 정자세포 및 정자(18~64주령). 즉, 16주령부터 정자발생이 완성되는 것으로 보아 이 시기에 성 성숙에 접어드는 것을 확인하였고 위의 선행 연구 결과에 비추어 볼 때 본 연구와 같이 거의 비슷한 체중의 조류를 14시간동안 빛을 비추어 주고 10시간 동안은 어둡게 하여 사육할 경우에는 대략적으로 16~21주령에 성 성숙이 발현되는 것으로 간주된다. 따라서 조류는 사람(Winter and Faiman, 1972)과 같이 쉽게 확인 할 수 있는 시기에 고환의 성숙이 급격히 이루어지는 종으로 분류할 수 있으며 출생 후 고환의 성숙이 점진적으로 이루어지는 흰쥐(Lee 등, 1975)와 면양(Lee 등, 1976)과는 차이가 있음을 알 수 있었다.

이러한 결과를 종합하여 보면, 한국 재래 닭에서 부화 후부터 성숙시기까지 고환 발달의 양상은 신생시기-성 성숙이 전기(1~12주령), 성 성숙시기(14~18주령) 및 성숙시기(21~64)로 나눌 수 있음을 확인할 수 있었다.

## 적 요

이 연구는 한국 재래 닭에서 부화 후 고환 발달 과정을 명확하게 이해하기 위하여 부화 후 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21, 28, 32, 44, 52 및 64주령( $n=13$ 마리/일령)의 한국 재래닭을 이용하여 수행하였다. 한국 재래 닭의 고환은 2.5% glutaraldehyde를 이용하여 전신 관류 고정하고 조직 처리 과정을 거쳐 Epon-araldite에 포매하였다. 초박절편기를 사용하여  $1\mu\text{m}$ 로 절편한 다음 methylene blue로 염색하여 일반적인 조직의 변화상과 형태 계측을 일반적인 방법에 따라서 정자 생성을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 부화 후 1주령의 고환의 평균 무게는 0.015 g 이었고 점진적으로 증

가하여 21주령에는 3.93 g이고 21주령부터 64주령까지는 변화가 없었다. 곱슬정세관의 용적 치밀도는 1주령에 32.6%이었으나 점차적으로 증가하여 64주령에서는 92.89이었다. 1주령의 한국 재래 닭 고환 간질 조직은 고환 실질의 67.4%를 나타내었고 이러한 비율은 성장하는 동안에 점차적으로 감소하여 64주령에 7.11%를 나타내었다. 고환내 총 정자 생성은 18주령부터 28주령까지는 유의성있게 증가하였고 고환 1g당 정자 생성은 18~28주령까지는 유의성있게 증가하였고 28~52주령까지는 변화가 없었으나 64주령에 유의성 있게 감소하였다. 곱슬정세관의 평균 직경은 1~21주령까지 주령에 따라 점진적으로 증가하였고 곱슬정세관의 길이는 1주령에 0.34 m이었고 성장하면서 유의성 있게 증가하여 64주령에서는 72.2 m이었다. 곱슬정세관내 생식세포의 발달 단계는 다음과 같이 분류할 수 있다. 1) 정조세포(1~8주령), 2) 정조세포, 정모세포(10~12주령), 3) 정조세포, 정모세포, 원형의 정자세포(14~16주령), 4) 정조세포, 정모세포, 정자세포 및 정자(18~64주령). 이러한 결과를 종합하여 보면 한국 재래 닭에서 부화 후부터 성숙시기까지 고환 발달의 양상은 신생시기-성 성숙 이전기(1~12주령), 성 성숙시기(14~18주령) 및 성숙시기(21~64)로 나뉜다.

(색인어 : 고환, 부화 후 발달, 한국 재래 닭)

## 사 사

이 연구에 참여한 연구자(의 일부)는 『2단계 BK21 사업』의 지원비를 받았음.

## 인용문헌

- Aire TA 1973 Development of puberty in Nigerian and White Leghorn cockerels. *Poult Sci* 52:1765-1769.
- Ariyaratne HBS, Chamindrani Mendis-Handagama SML 2000 Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Repro* 62:680-690.
- Bennett CH 1967 Relation between size and age of the gonads in the fowl from hatching date to sexual maturity. *Poult Sci* 26:99-104.
- Blackburn WR, Chung KW, Bullock L 1973 Testicular feminization in the mouse: Studies of Leydig cell structure and function. *Biol Reprod* 9:9-23.

- Bortolussi M, Zanchetta R, Belvedere P 1990 Sertoli and Leydig cell numbers and gonadotropin receptors in rat testis from birth to puberty. *Cell Tissue Res* 260:185-191.
- Brillard JP 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* 65:369-374.
- Castro AC, Berndtson WE, Cardoso FM 2002 Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. *Braz J Med Biol Res* 35:493-498.
- Christensen AK 1975 Leydig cells. In: *Handbook of physiology. Endocrinology* 5:57-94.
- Connell CJ, Christensen AK 1975 The ultrastructure of the canine testicular interstitial tissue. *Biol Reprod* 12:368-382.
- Ewing LL, Zirkin BC, Cochran RC 1979 Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused *in vitro*: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology* 105:1136-1142.
- Ewing LL, Zirkin BR 1983 Leydig cell structure and steroidogenic function. *Recent Prog Horm Res* 39:599-632.
- Fawcett DW, Neaves WB, Flores MN 1973 Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol Reprod* 9:500-532.
- Fouquet JP, Meu SY, Dang DC 1984 Relationships between Leydig cell morphometry and plasma testosterone during postnatal development of the monkey, *Macaca fascicularis*. *Reprod Nutr Develop* 24:281-296.
- Franca LR, Silva VA, Chiarini-Garcia H 2000 Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. *Biol Reprod* 63:1629-1636.
- Gondos B, Morrison KP, Renston RH 1977 Leydig cell differentiation in the prepubertal rabbit testis. *Biol Reprod* 17:745-748.
- Gondos B, Renston RH, Conner LA 1973 Ultrastructure of germ cells and Sertoli cells in the postnatal rabbit testis. *Am J Anat* 136:427-440.
- Gottreich A, Hammel I, Yohev L 1995 Quantitative microscopic changes in the mole rat testes during an annual cycle. *Anat Rec* 243:195-199.
- Ingasuwan P, Ogasawara FX 1976 The effects of light and temperature and their interaction on the semen production of White Leghorn males. *Poult Sci* 45:1199-1206.
- Kalmer GAR 1969 Developmental changes in the reproductive organs of the male Fayomi fowl. *Poult Sci* 38:775-781.
- Kerr JB, Knell CM 1988 The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal rat testis. *Development* 103:535-544.
- Kim IS, Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SMLC 2002 Changes in the testis interstitium of Brown Norway rats with aging and effects of luteinizing and thyroid hormones on the aged testes in enhancing the steroidogenic potential. *Biol Reprod* 66:1359-1366.
- Kim IS, Kim HY, Lee YH, Kim JH 2000 Comparison of components of the testis interstitium with testosterone secretion in pigeon, pheasant, and chicken testes incubated *in vitro*. *Korean J Lab Anim Sci* 16:257-268.
- Kim IS, Yang HH 2001 Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and *in vitro* testosterone release in Korean ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus karpowi*). *J Vet Med Sci* 63:151-156.
- Kirby JD, Mankar MV, Hardesty D, Kreider DL 1996 Effects of transient prepubertal 6-N-propyl-2-thiouracil treatment on testis development and function in the domestic fowl. *Biol Reprod* 55:910-916.
- Lee VWK, Cumming IA, de Kretser DM 1976 Regulation of gonadotrophin secretion in rams from birth to sexual maturity I. Plasma LH, FSH and testosterone levels. *J Reprod Fertil* 46:1-6.
- Lee VWK, de Kretser DM, Hudson B, Wang C 1975 Variation in serum FSH, Lh and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *J Reprod Fertil* 42:121-126.
- Mendis-Handagama SMLC, Ariyaratne HBS 2001 Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Reprod* 65:660-671.
- Mendis-Handagama SMLC, Ewing LL 1990 Sources of error in the estimation of Leydig cell numbers in control and atrophied mammalian testes. *J Microsc* 59:73-82.
- Mendis-Handagama SMLC, Risbridger GP, de Kretser DM 1987 Morphometric analysis of the components of the neonatal and the adult rat testis interstitium. *Int J Androl* 10:525-534.
- Nistal M, Paniagua R, Regadera JA 1986 Quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adult



- thood. *Cell Tissue Res* 246:229-236.
- Parker JE, McKenzie FF, Kempster HL 1972 Development of the testis and combs of white Leghorn and New Hampshire cockerels. *Poult Sci* 21:35-44.
- Prince FP 1984 Ultrastructure of immature Leydig cells in the human. *Anat Rec* 209:165-176.
- Rey RA, Campo SM, Bedecarras C 1993 Histologic, morphometric and functional study of the seminiferous tubules of the Cebus monkey from birth to the end of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1325-132.
- Russell LD, Franca LR 1995 Building a testis. *Tissue Cell* 27: 129-147.
- Sanchez B, Pizarro M, Garcia P, Flores JM 1993 Histological study of Leydig cells in the cat from birth to sexual maturity. *J Reprod Fert* 47:349-353.
- Sharp PJ, Culbert J, Wells JW 1977 Variations in stores and plasma concentrations of androgens and luteinizing hormone during sexual development in the cockerel. *J Endocr* 74: 467-476.
- Sinha Hikim AP, Amador AG, Bartke A, Russell LD 1989 Structure/function relationship in active and inactive hamster Leydig cells : A correlative morphometric and endocrine study. *Endocrinology* 125:1844-1856.
- Weibel ER 1969 Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol* 26:235-301.
- Wing TY 1982 Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am J Anat* 165: 13-25.
- Winter JSD, Fairman C 1972 Pituitary-gonadal relationships in male children and adolescents. *Pedia Res* 6:126-135.
- Zirkin BR, Ewing LL, Kromann N 1980 Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused *in vitro*: Correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinology* 107: 1868-1874.