

韓國山羊의 精子完成에 關한 電子顯微鏡的 研究

裴大植 · 金鍾旭

忠北大學校 農科大學

Electron Microscopic Studies on the Spermiogenesis of the Korean Goat

Bae D. S. and J. W. Kim

College of Agriculture, Chungbuk National University Cheongju 310

Summary

In order to investigate the spermiogenesis of the Korean goat, the tissue obtained from the testis and the epididymis of eight matured bucks were conventionary prepared as thin sections and these sections were observed under a transmission electron microscope.

Based on the development of the various permanent organelles and certain transient structures, the spermiogenesis of the Korean goat could be divided into four main phases: Golgi, cap, acrosome and maturation; and these phases had been further subdivided into a total of nine stages.

There was abundance of the contents of acrosomal vesicle contained ring-shaped material surrounding the acrosome in the early cap stage. The mitochondria made the mitochondrial sheath started from the annulus toward the neck and formed helical arrangement in the mid maturation stage, The postacrosomal dense lamina was appeared to be a wave-shape in the late maturation stage.

The spermiogenesis of the Korean goat was found to be basically similar to that of the Korean cattle.

I. 緒 論

生命體發生의 核心인 生殖細胞의 形成過程에 대한 形態學的研究가 많이 進전되었고, 특히 精子의 微細構造와 精子發生 및 精子完成에 關한 연구가 여러 動物에 대하여 이루어졌으나 韓國에 있어서는 筆者들이 韓牛(裴와 金 1979 a, b, 裴 1984)와 韓國山羊(裴와 金 1981, 裴 1984)에 대하여 報告한 것 밖에 없다. 특히 山羊의 精子完成과 精子의 微細構造에 대한 연구는 韓國在來山羊뿐 아니라 다른 品種에 대한 보고도 거의 찾아 볼 수 없어서 本 研究 內容을 要約하여 第 3 회 아시아太平洋畜產學會(Bae and Kim 1985)에 發表한 바 있다.

本 研究를 遂行함에 있어서 여러가지 便宜와 協助를 베풀어주신 家畜衛生研究所 金眞源研究官, 農業技術研究所 李淳炯博士와 李峻星助務員, 本校農生物學科 張後鳳 學生에게 깊은 謝意를 表한다.

II. 材料 및 方法

性的으로 成熟한 滿 1 ~ 2 歲의 韓國山羊 8 頭로

부터 精巢 및 精巢上體組織을 채취하여(그림1), 0.3% glutaraldehyde cacodylate(Jones 1971)에 浸漬하고 細切하면서 常溫下에서 2時間 固定한 다음, sucrose cacodylate로 세척하고, 다시 2% osmium tetraoxide cacodylate로 4℃에서 後固定하여 sucrose cacodylate로 세척한 것을 alcohol系列과 propylene oxide로 脫水한 후, Epon 812(Luft 1961)에 包埋하여 Sorvall MT-2 型 ultramicrotome으로 超薄切片을 만들어 5% uranyl acetate와 lead citrate로 二重染色(Venable and Coggeshall 1965)하여 Hitachi HU-11 E 型 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

III. 研究結果

電子顯微鏡으로 관찰한 韓國山羊의 精子完成은 Leblond와 Clermont(1952 a, b)의 分類法에 準하여 韓牛의 경우와 같이 골지(Golgi)·頭帽·先體(尖體) 및 成熟의 4 段階(Phase)로 구별하고, 이를 다시 細分하여 全科程을 9 期(stage)로 구분하였다.

즉, ① 골지體가 뚜렷하게 나타나고 先體小胞가

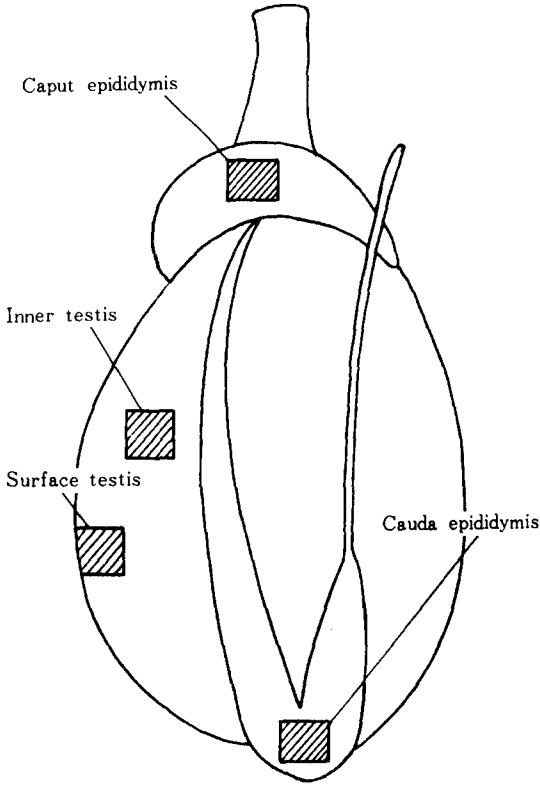


Fig. 1. Schematic drawing of a goat reproductive tract to show the position of the various parts (shaded regions)

核에 接着하는 골지段階를 前期(early stage)와 後期(late stage)로, ② 先體小胞內에 있는 先體顆粒이 불록렌즈모양을 이루었다가 核表面에 擴散되어 頭帽을 형성하는 頭帽段階를 前期와 後期로, ③ 核의 周緣에 微細管인 만셋트(manchette)가 나타나며 核이 細長하게 되고 先體顆粒이 核의 前半部에 퍼져 先體를 형성하는 先體段階도 前期와 後期로, ④ 先體와 核이 種固有의 形態를 갖추고, 頸部와 屋部가 完成되는 成熟段階는 前·中·後期로 구분하였다.

1. 골지前期(early Golgi stage)

丹形인 精子細胞의 중심에 球形의 核이 있고, 核價는 engk쳐서 高르게 분포되고 있으나 比較적 큰 덩어리로 凝結된 것도 있다(그림 3). 골지體, 先體小胞, 類染色體, 미토콘드리아(mitochondria) 등은 細胞의 한쪽에 치우쳐 있고, 커다란 先體小胞가 골지

體에 둘러싸여 다른 小型인 몇개의 小胞와 같이 核에 接近한다. 커다란 先體小胞는 二重膜으로 싸이고 그안에 微細한 顆粒과 帶狀物值(ribbon shape material)이 들어 있다.

2. 골지後期(late Golgi stage)

커다란 先體顆粒을 包含한 先體小胞가 核의 表面을 隱入시키면서 核에 接觸한다(그림 4). 核質은 凝集하여 커다란 덩어리가 되어 核의 周圍로 分散되어 核의 中央部는 空허한 느낌을 줄 정도로 성글게 engk쳐있다(그림 4).

3. 頭帽前期(early cap stage)

先體小胞內의 先體顆粒이 核과 接着하여 頭帽을 형성하고 先體小胞內의 透明質은 電子密度가 높은 先體顆粒을 두텁게 싸고 核의 表面에 확산하며 先體顆粒의 周圍에는 미세한 顆粒이 모여 環狀의 構造를 띄고 있다(그림 5). 核質은 더욱 크게 engk쳐 塊狀의 染色質이 核의 中央部보다 周邊으로 더 많이 물린다. 先體의 반대쪽인 核의 뒷쪽에 鞭毛의 起始部가 될 近位中心粒(proximal centriole)이 核에 부착된다(그림 6).

4. 頭帽後期(late cap stage)

精子細胞는 아직도 丹形에 가까우나 核은 細胞의 주변으로 物린다. 先體小胞의 중심부에 있는 先體顆粒은 불록렌즈 모양으로서 電子密度가 높은 농후한 물질로 되었고 그 주위의 투명질부분은 核의 거의 중앙부까지 均일하게 퍼진다(그림 7). 核質은 前期보다 高르게 凝集하여 分散하고 있다(그림 8).

5. 先體前期(early acrosome stage)

頭部가 細胞膜의 한쪽을 밀고 나오는 듯 앞쪽으로 길게 뻗어 細胞膜을 사이에 두고 세르톨리(Sertoli) 細胞에 접근하게 된다. 頭帽後部の 周緣에 微細管인 만셋트(manchette)가 많이 나타나는데, 이 만셋트의 起始部가 核輪(nuclear ring)을 형성하여 核의 뒷쪽에서 아래쪽으로 이동하며 조임으로서, 核이 점차 扁平하고 細長하게 되며, 核價의 凝結이 進行되는 것을 볼 수 있다(그림 9).

6. 先體後期(late acrosome stage)

만셋트가 더욱 길게되고 核輪이 뒷쪽으로 이동하

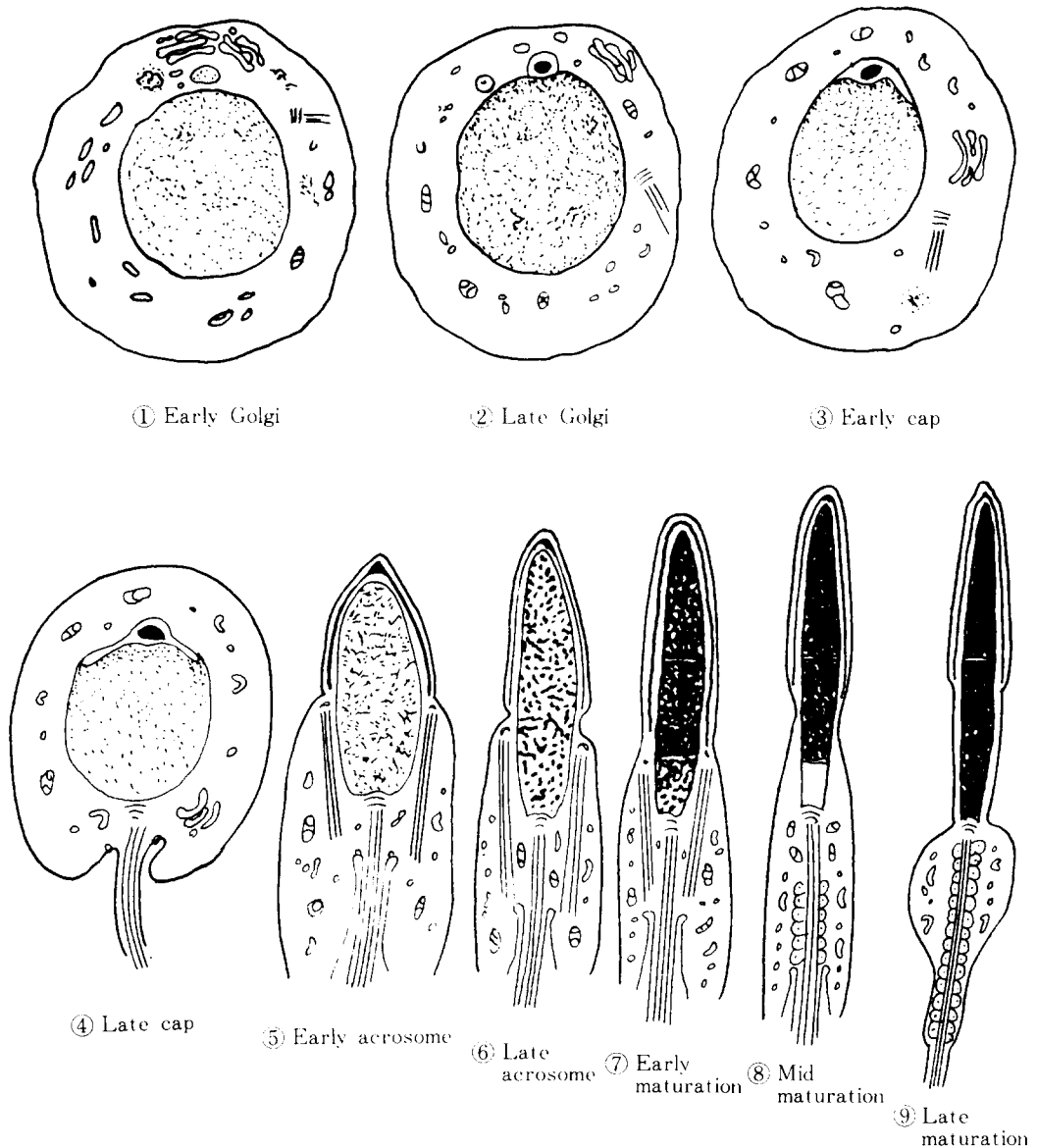


Fig. 2. Schematic drawings summarizing the major stages during spermiogenesis in the buck

면서 핵이 더 길어지고 핵질의 농축도 진행된다. 迅位中15粒이 핵의 下端으로 파고들어 頸部를 수용할 着染床窩(implantation fossa)가 형성되고, 遠位中心粒에서 발달한 軸系(axoneme)가 細胞膜을 伸長시키면서 뻗어나간다(그림 10).

7. 成熟前期(early maturation stage)

核質의 上半部에서 後半部에 걸쳐 核輪이 이동되고, 그 核輪을 경계로 하여 右쪽의 核質은 거의 농축

되었으나 많은 空胞(vacuole) 또는 液胞(vesicle)가 나타나고, 核輪의 아랫쪽의 核質은 성글게 영겨서 농축이 진행중에 있다. 형성된 先體의 先端은 길게 돌출하고 핵의 주위는 두터운 先體膜으로 싸여있다(그림11).

赤道帶가 先體의 下端에 형성되었는데 核膜肥原部는 아직 형성되지 않았다. 맨젬트의 起始部(proximal origin of microtubulus)에 해당하는 核輪部가 아랫쪽으로 이동함에 따라 核質의 濃縮化가 진행되

고核膜肥厚部도 형성되는 것을 볼 수 있다(그림11).

核質의 농축이 완료되지 않은 이시기에 着床窩가 형성되고, 그 밑에 頸部의 關節頭部分을 수용하고 있다. 頸部에 關節頭가 보이고 그 아래쪽에 頸部小板이 겹쳐 늘어선듯한 構紋이 있는 支柱가 있는데, 이것은 아래쪽으로 감에따라 가늘어지면서 外側纖維와 연결된다. 中片部の 下端, 즉 主部와의 경계부의 軸糸주위에 經輪(annulus)이 분명히 나타난다(그림11).

8. 成熟中期(mid maturation stage)

經輪이 中片部の 下端에 이동하여 固定되면 미토콘드리아가 軸纖維束의 주위에 집결하여 螺旋狀으로 감켜어 미토콘드리아鞘(mitochondrial sheath)를 형성한다. 中片部の 아래쪽에는, 비교적 크기가 고른 미토콘드리아가 經輪部에서부터 규칙적으로 집결하여 있으나, 中片部の 윗쪽으로 올라가면 크기도 고르지 못한 것이 어지럽게 배열되고 있어서, 미토콘드리아는 經輪을 起點으로 감아올리는 것으로 推理된다. 이 時期의 核質은 거의 농축이 완료되고 頸部에서 中片部에 걸쳐 原形質小滴(cytoplasmicdroplet)이 남아있다(그림12).

9. 成熟後期(late maturation stage)

精子完成의 최종단계로서, 先體는 股特有의 형태를 갖추고 先體와 核膜肥厚部가 뚜렷이 구별된다. 核質은 완전히 농축되었으나, 약간의 空胞 또는 液胞가 있다. 核膜肥厚部가 波狀을 나타내고 있는 것이 特異하다(그림13). 中片部の 下端에는 아직도 原形質小滴이 남아 있는 것이 많다(그림 14).

IV. 考 察

韓國山羊精子的 完成過程은 다른 哺乳動物의 경우와 거의 비슷하다. 그중에서도 韓牛精子的 完成過程(裴1984)과 가장 흡사하다.

골지段階의 前期에 있어서 粒에 접근하는 커다란 先體小胞는 二重膜으로 싸여, 單一膜으로 싸인 韓牛의 경우와 다르다. 그리고, 韓牛의 경우 先體小胞内に 不定形의 물질이 있었으나, 韓國山羊의 경우는 帶狀物質이 있어서, 靑여우(Andersen 1978)와 狒狒(Afzelius et al. 1982)의 경우, 先體小胞内に 커다란 先體顆粒을 가진것과도 다르다. 그러나, 韓國山羊에서 先體小胞가 가까운 곳에 類染色體가 관찰된 것은 韓

牛의 경우와 같다.

골지段階의 前期에서는, 커다란 先體顆粒을 가진 先體小胞가 核의 표면을 陷入시키면서 核에 접촉할때 그 이웃에 있는 몇개의 작은 小胞가 核에 접근하는 것은 韓牛(裴1984)에서도 관찰되었으나, 靑여우(Andersen 1978)와 狒狒(Afzelius et al. 1982)에서는 관찰되지 않았다. 膜에 싸이지 않은 軸糸는 韓牛에서는 골지前期에서 관찰되었으나 韓國山羊에서는 골지後期에 관찰되었다.

頭帽前期에서는, 韓牛에 있어서 先體顆粒의 주위를 先體小胞内の 透明質이 두껍게 둘러싸고 있으나, 韓國山羊에서는 透明質内に 環狀構造를 함유하고 있다. 이것은 靑여우(Andersen 1978)와 狒狒(Afzelius et al. 1982)의 경우, 先體顆粒의 주위와 그 기슭부분까지 先體小胞의 내용물이 같은 두께로 둘러싸인 것과는 조금 다르다. 先體顆粒의 주위를 先體小胞의 내용물이 두껍게 싸고 있던 것이 그 내용물의 두께가 급속히 감소하며 다음단계로 이행되는 것은 韓牛의 경우와 같다. 韓國山羊에 있어서 頭帽前期에 鞭毛(軸糸)가 粒에 접착하는 것은 靑여우(Andersen 1978)의 경우와 같으나 頭帽後期에 軸糸가 접착하는 狒狒(Afzelius et al. 1982)와는 다른데, 이것은 前期와 後期の 차이는 있으나 頭帽形成段階에서 이루어지고 있는 것이다.

頭帽後期까지 거의 円形이던 精子細胞는 先體前期에 이르러 만썬트가 나타나고, 이것이 精子細胞의 核을 조이게 되어 점차 長楕圓形으로 細長化되는 것으로 여겨진다. 先體後期에 이르면 精子는 대체로 형태를 갖추게 된다.

韓國山羊의 成熟前期에서 核質이 긴밀하게 농축된 부분과 성글게 영겨 凝縮中인 부분이 관찰되는데 이는 韓牛(裴1984)에 있어서도 成熟前期에 核輪을 경계로 농축정도에 차이가 있었던 것과 같다.

이 成熟前期는 先體段階와 成熟的 중간단계로서, Plaen등(1979)과 Afzelius등(1982)이 기술한 바와 같이 先體成熟轉換段階(transition acrosome-maturation phase)라고 볼 수 있다.

韓國山羊精子的 成熟前期에서 赤道帶를 인정할 수 있었는데, 완전하게 성숙된 精子에서는 頭部の 先體와 核膜肥厚部는 형성되었으나 赤道帶는 보이지 않는다. Hancoch(1952)는 精子細胞가 죽으면 赤道帶가 나타난다고 보고하였으나, Saache와 Almquist(1964)는 生存精子細胞의 先體에서 형성된다고 기술

하고 있다. 그들은 謝精된 精子의 여러 상태의 先體와 赤道帶에 대한 電子顯微鏡寫眞을 解析하여 위와 같은 결론을 얻었는데, 본 연구에서는 成熟段階의 前期에 속하는 精子細胞에서 赤道帶가 분명히 인정되었으나 성숙단계의 후기에 속하는 精子에서는 赤道帶가 인정되지 않았으므로 이 赤道帶는 成熟段階의 前期에 있었던 것이 精子細胞가 成熟함에 따라 없어져서 결국 先體와 核膜肥厚部만이 형성되어 잔존하는 것으로 추측된다.

成熟中期에는 軸纖維束의 둘레에 미토콘드리아가 모여서 미토콘드리아鞘를 형성한다. 그림12와 같이 中片部の 중간에서 經輪쪽에 있는 미토콘드리아는 크기가 비교적 고른 것이 모여 꽤 짜여진 상태로 정연하게 집결되어 있으나 中片部の 윗쪽에는 비교적 크기도 고르지 못한 것이 軸纖維에 밀착되지 않은 상태로 호터져 있는 것이 보인다. 이와같은 상태로 이루어 볼 때 中片部の 미토콘드리아는 위에서 아래쪽으로 감아내리는 것이 아니라, 中片部の 經輪쪽인 아래에서 윗쪽으로 螺旋狀으로 감아 올라가서 미토콘드리아鞘를 형성하는 것으로 추측된다.

成熟한 精子의 頸部에는 미토콘드리아가 1~2 개 정도 있는데, 이것이 頸部に 밀착되지 않고 있는 것은 韓牛와 韓國山羊 뿐 아니라 다른 哺乳動物의 精子 (Fawcett 1970)에서도 일반적으로 볼 수 있는 현상으로서 이는 위의 추측을 뒷받침할 수 있다.

이상과 같이 韓國山羊의 精子完成은 韓牛(裒1984)와 狒狒(Afzelius et al. 1982) 등과 가장 닮은 것으로 여겨진다.

V. 摘 要

成熟한 韓國山羊 8頭에서 精巢와 精巢上體에서 組織을 채취하여 前後二重固定하고 脫水한 다음, Epon 812에 包埋하여 超薄切片을 만들고 二重染色하여 電子顯微鏡으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

精子細胞內에서 일어나는 一時的 또는 永久的 構造의 출현과 변화의 상태에 따라, 精子細胞의 完成過程을 끝지·頭帽·先體 및 成熟의 4段階로 나누고, 이를 앞의 3段階는 前·後期로, 마지막 成熟段階는 前·中·後기로 細分하여 全過程을 9기로 구분하였다.

1. 끝지前期에서는, 커다란 先體小胞가 끝지體에 싸여 核으로 접근한다. 先體小胞는 二重의 膜으로 싸이고 그 안에 미세한 顆粒과 帶狀物質이 들어 있다.

2. 끝지後期에서는, 커다란 先體顆粒을 함유하는 先體小胞가 核의 표면에 접촉한다. 이때 核의 표면이 陷入하여 先體小胞를 수용하게 된다.

3. 頭帽前期에서는, 先體小胞가 核의 표면에 확산하여 頭帽가 형성되며 頭帽의 반대쪽 極에 鞭毛(꼬리)의 起始部가 되는 近位中心粒이 부착된다.

4. 頭帽後期에서는 核이 細胞의 周緣으로 옮겨지고, 先體顆粒은 불룩렌즈 모양이 되며 核質은 전체적으로 고르게 凝集하여 分布된다.

5. 先體前期에서는, 頭部가 細胞質의 한쪽으로 돌출하여 세르톨리細胞에 接近한다. 頭帽後緣에 만셋트가 나타나서 그 起始部는 核輪을 형성하고 둥근 모양이던 核이 점차 長橢圓形으로 細長하게 되기 시작한다.

6. 先體後期에서는, 만셋트가 길게 뻗으면서 核은 더욱 길어지고 核質은 성글게 凝縮되며, 頸部에는 着床窩가 형성된다.

7. 成熟前期에서는, 核質의 대부분이 濃縮되며 核輪을 경계로 하여 일부는 아직 성글게 凝縮된 상태로 있다. 先體의 下端에 赤道帶가 형성되는데 核膜肥厚部는 아직 형성되지 않았다.

8. 成熟中期에서는, 미토콘드리아가 經輪쪽에서 中片部の 軸纖維束을 감아올려 미토콘드리아鞘를 형성한다.

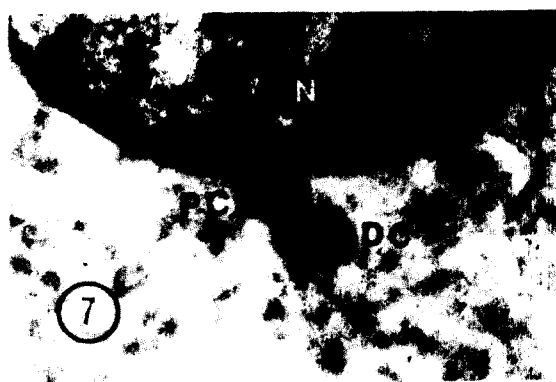
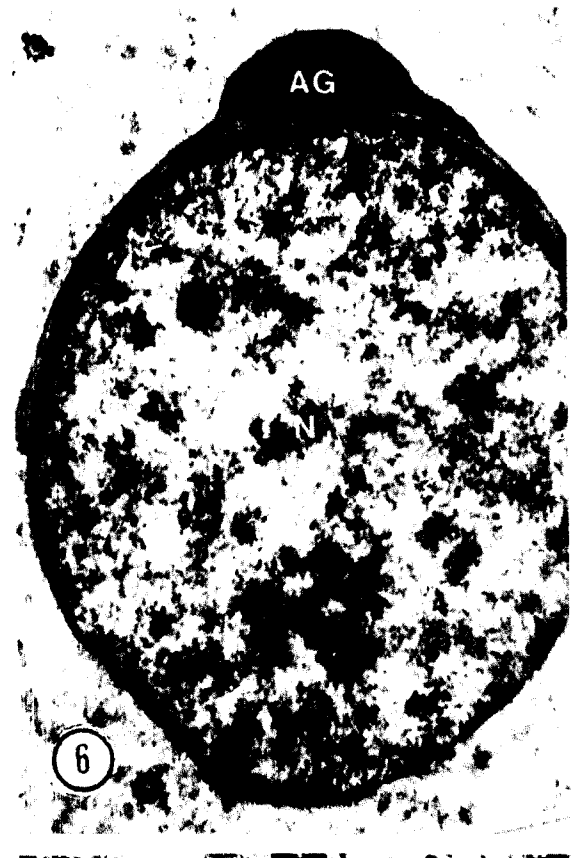
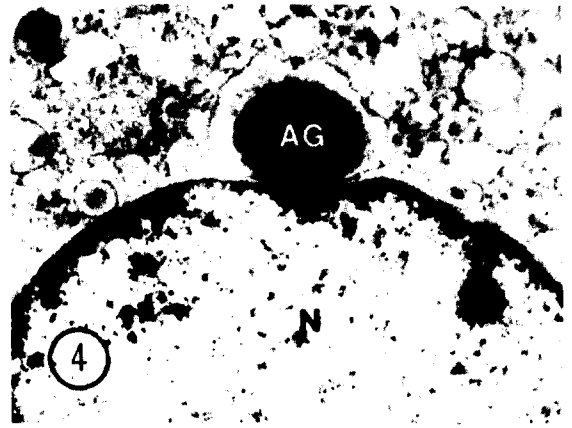
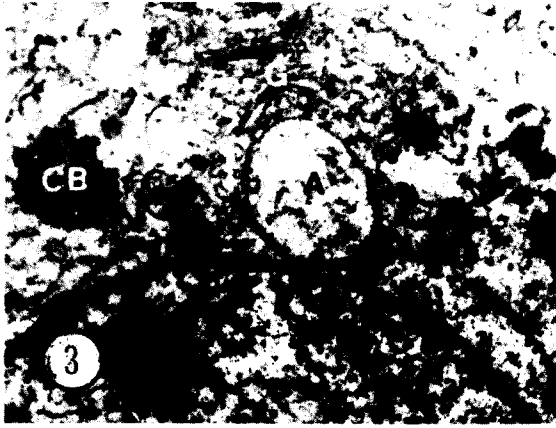
9. 成熟後期에서는, 先體와 核膜肥厚部가 불명히 형성되고, 赤道帶는 보이지 않으며, 核膜肥厚部가 波狀으로 되어 種特有的의 精子形態가 完成된다.

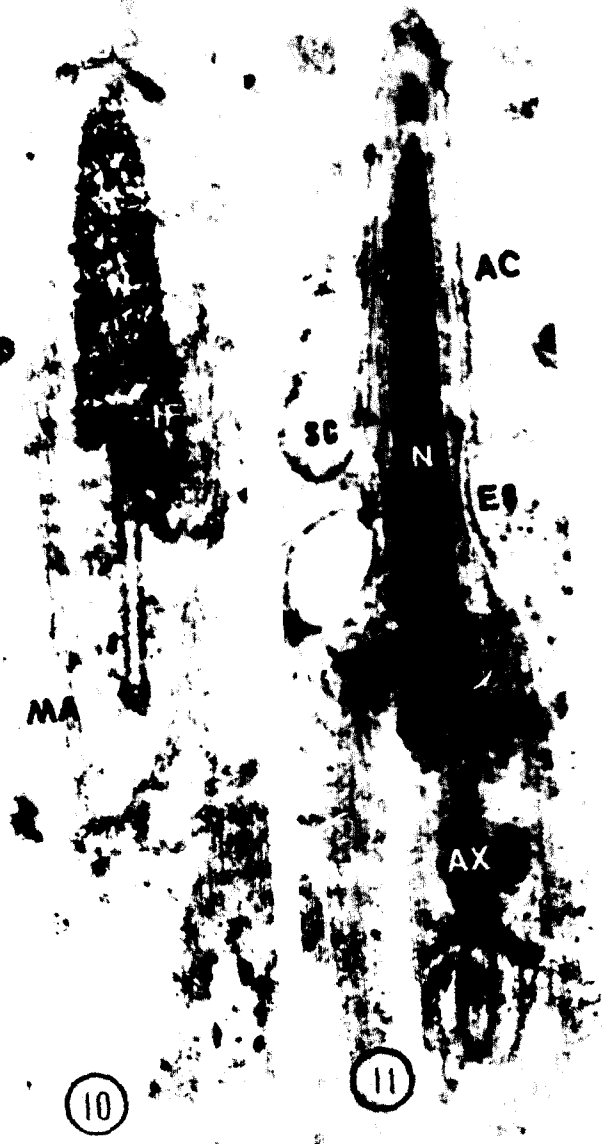
以上과 같이 韓國山羊精子의 完成過程은 韓牛의 精子完成(裒 1984)과 거의 비슷하다.

引用 文 獻

1. Afzelius, B.A., R.E. Johnsonbaugh, J.W. Kim, L. Ploen and E.M. Ritzen. 1982. Spermiogenesis and testicular spermatozoa of the olive baboon (*Papio anubis*). *J. Submicrosc. Cytol* 14:627-639.
2. Andersen, K. 1978. Fine structure of developing spermatids used as a basis for staging of the spermatogenesis in the blue fox (*Alopex lagopus*). *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol Embryo.* 7:164-181.
3. Bae, D.S. and J.W. Kim. 1985. Electron microscopic studies on the spermiogenesis of the Korean goat. *Proc. 3rd AAAP Anim. Sci. Cong.* Vol. 1.

- 390-392.
4. Fawcett, D.W. 1970. A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol. Reprod. Suppl.* 2:90-127.
 5. Jones, R.C. 1971. Ultrastructure of mammalian spermatozoa; The effect of buffer concentration in fixative for boar spermatozoa. *Micron.* 2:350-362.
 6. Leblond, C.P. and Y. Clermont. 1952a. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulfuric acids" technique. *Am. J. Anat.* 90:167-215.
 7. Leblond, C.P. and Y. Clermont. 1952b. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 55:548-573.
 8. Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding method. *J. Cell Biol.* 9:409-414.
 9. Ploen, L., H. Ekwall and B. Afzelius. 1979. Spermiogenesis and the spermatozoa of the European common shrew (*Sorex araneus* L.). *J. Ultrastr. Res.* 68:149-159.
 10. Saacke, R.G. and J.O. Almquist. 1964. Ultrastructure of bovine spermatozoa. I. The head of normal, ejaculated sperm. *Am. J. Anat.* 115:143-162.
 11. Venable, J.H. and R. Coggeshall. 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25:407-408.
 12. 裴大植, 金鍾旭. 1979 a, 韓牛精子的微細構造에 관한 研究. *韓畜誌*, 21 : 535~532.
 13. 裴大植, 金鍾旭. 1979b, 韓牛精子的成熟에 따른 微細構造의 變化. *韓家繁研會報*, 3 : 24 - 31.
 14. 裴大植, 金鍾旭. 1981. 韓國在來山羊精子的微細構造. *韓畜誌*. 23 : 235 - 242.
 15. 裴大植. 1984. 韓牛의 精子完成과 精子的微細構造에 관한 電子顯微鏡的 研究. *韓畜誌*. 26 : 509 - 526.







- Fig. 3. In the early Golgi stage, the acrosomal vesicle (A), enveloped in a double membrane, surrounded by the Golgi apparatus (G) approaches to the nucleus (N). There are small granules, ribbon-like material, and a chromatoid body (CB). X51,000
- Fig. 4. The acrosomal vesicle containing a large acrosomal granule (AG) approaches to the nucleus (N) and indents the surface of the nucleus in the late Golgi stage. X35,000
- Fig. 5. In the early cap stage, there is a ring-shape structure around the acrosomal granule (AG). Many condensed karyoplasm scatter as masses in the nucleus. X35,000
- Fig. 6. The proximal centriole (PC) and the distal centriole (DC) attach to the opposite side of the acrosome in the nucleus in the early cape stage. X35,000
- Fig. 7. In the late cape stage, the acrosomal granule (AG) becomes Rugby-ball-shape and the rest part of the acrosomal vesicle evenly covers almost half of the nucleus (N). Two axonemes without the membrane are seen on the upper and lower left corners of the picture. The condensed karyoplasm scatters evenly in the nucleus. X25,000
- Fig. 8. Well developed proximal centriole is seen near the nucleus (N) in the late cap stage. X25,000
- Fig. 9. The acrosomal part contacts with the Sertoli cell and the manchette (M) appears on the opposite side of the acrosome in the early acrosome stage. X42,500
- Fig. 10. While the nucleus (N) elongates, the karyoplasm is coarsely condensed in the late acrosome stage. The implantation fossa (F) is formed and the axoneme (AX) and the manchette (MA) are extended. X32,500
- Fig. 11. In the early maturation stage, the upper part of the head contacts closely with the Sertoli cell (SC). Although the most part of the karyoplasm has been condensed, the lower part bordered by the nuclear ring (NR) has not been condensed completely. The acrosome (AC) and the equatorial segment (EQ) have been formed. The precursor of the annulus (AN) appears on the lower part of the axoneme. X32,500
- Fig. 12. As the mitochondria (M) assembles, the mitochondria sheath has been formed around the axial fiber bundle in the mid maturation stage. Although the mitochondria arranges regulary and compactly in the lower part of the middle piece (MP), the arrangement of the mitochondria in the upper part of the middle piece is uneven. There is a cytoplasmic droplet (CD) on the border of the neck and the middle piece. X40,000
- Fig. 13. Although the karyoplasm has been completely condensed, there are some vacuoles (V) in the nucleus (N) in the late maturation stage. The acrosome (AC) and wave-shape postacrosomal dense lamina (PD) are apparent in the sagittal section. The axial fiber bundle is surrounded by the mitochondria helix (MH) in the cross section of the middle piece (center left of the picture). X50,000
- Fig. 14. The cytoplasmic droplet (CD) attaches to the lower part of the middle piece in the late maturation stage. X35,000