

한국산 물윗수염박쥐 (*Myotis daubentonii ussuriensis*)의 정자변태

손성원 · 이정훈 · 천현미
경남대학교 자연과학대학 생물학과

Spermiogenesis in the Korean Daubenton's Bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*)

Sung-Won Son, Jung-Hun Lee, and Hyun-Mi Cheon

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

To investigate the process of spermiogenesis of the Korean eastern Daubenton's bat, *Myotis daubentonii ussuriensis*, the testis obtained from mature male bats was studied by transmission electron microscope and were based on the variety and diagnostic characters of cell organells. The results obtained from the present study are as follows. According to the differentiation of the cell organells, the spermiogenesis of the Korean eastern Daubenton's bat, *M. d. ussuriensis*, was divided into Golgi, cap, acrosome, maturation and spermiation phases. Besides, these Golgi, cap, acrosome, and maturation phase were subdivided into the steps of early and late phases respectively and maturation phase was subdivided into step of early, mid and late phases. Therefore, the spermiogenesis of *M. d. ussuriensis* has been divided into a total of 11 phases. The chromatin granules began to condense at the early cap phase, regularized at the acrosome phase, and a perfect nucleus of sperm was formed at the maturation phase. The chromatoid body was occurred in the upper cytoplasm of nucleus at the early Golgi phase, and it was occurred the posterior cytoplasm of the nucleus at the early maturation phase. The formation of sperm tail began to be develop in the early Golgi phase, and completed at the spermiation phase. The fiber structure of middle piece was consisted of nine outer doublets and two central singlet microtubules and Nos. 1, 5, 6 and 9 in the outer dense were larger than the others(2, 3, 4, 7, 8).

Key words: Spermiogenesis, Golgi, Chromatoid body, Bat.

서론

박쥐류(Chiroptera)는 원시 식충목(Insectivora)에서 유래된 것으로 포유류 중에서 유일하게 날 수 있으며, 번식기간이 동면에 의해 중단되기 때문에 그 번식유형이 일반 포유류와는 다소 차이가 있다. 박쥐의 번식형을 암컷의 생식도관 내에서의 유형별로 구분하여 보면,

비동면성 박쥐에서 볼 수 있는 일반포유류형, 동면성 박쥐에서 관찰되는 정자저장형("prolonged sperm storage" type)과 지연착상형("delayed implantation" type)의 세 가지 양식이 있다(Uchida, 1964). 즉 교미와 배란 및 수정이 중단되지 않고 연속적으로 발생하는 것을 일반포유류형이라 하고, 가을에 교미 후 배란과 수정이 일어나지만 동면기간 동안 발생이 억제되는 것을 지연착상형이라 하며, 이 유형에 속하는 박쥐류는 일본

산 긴날개박쥐 (*Miniopterus scribersi fuliginosus*) (Mōri & Uchida, 1982), 일본산 집박쥐 (*Pipistrellus abramus*) (Uchida *et al.*, 1988) 등이 있다. 또한, 발정과 교미는 가을에 일어나지만 정자가 암컷의 도관내에서 동면기간 동안 저장되는 것을 정자저장형이라 하며, 이 유형에 속하는 박쥐류는 일본산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum nippon*) (Oh *et al.*, 1985), 한국산 붉은박쥐 (*Myotis formosus teuensis*) (Son *et al.*, 1987)와 일본산 큰관코박쥐 (*Murina leucogaster*) (Mōri *et al.*, 1989) 등이 있다. 이러한 유형은 웅성생식 pattern을 고려하지 않고 자성생식도관 내에서의 생식형만을 고려하여 세 가지 유형으로 구분한 것이다.

동면하는 박쥐에 있어서, 웅성생식 pattern은 정자형성(spermatogenesis)과 간질세포(Leydig's cell) 및 그 부속기관의 변화를 고려하여, 'Pipistrellus pattern', 'Myotis pattern' 그리고 'Miniopterus pattern'으로 나누어진다. 즉 교미기와 동면기동안 간질세포의 활성이 약간 감소하거나 유지되고, 각성기에 완전하게 발달하는 것을 'Pipistrellus pattern'이라 하고, 이 유형에 속하는 박쥐류는 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) (김·오, 1991; Lee *et al.*, 1992)가 있으며, 교미기와 동면기동안 간질세포의 활성이 낮은 수준으로 유지되고 교미기의 개시기에 완전하게 발달하는 것을 'Myotis pattern'이라 하며, 이 유형에 속하는 박쥐류는 한국산 큰발웃수염박쥐 (*Myotis macrodactylus*) (Son *et al.*, 1995)가 있다. 또한 이 두 가지 pattern은 암컷생식유형의 정자저장형에 상응한다. 그리고 간질세포가 교미기동안 완전히 발달하고 동면기동안 활성하지 않는 것을 'Miniopterus pattern'이라 하며, 이 유형에 속하는 박쥐류는 한국산 긴날개박쥐 (*Miniopterus scribersi fuliginosus*) (Son *et al.*, 1995)가 있으며, 암컷생식유형의 지연착상형에 상응한다(Gustafson, 1979).

한편, 정자형성은 정소의 세정관(semiferous tubule)내에서 이루어지며, 정모세포발생(spermatocytogenesis)과 정자변태(spermiogenesis)의 두 단계를

거쳐 완성된다. 즉 정모세포(spermatocyte)의 발생단계를 마친 후 정자세포(spermatid)가 성숙한 정자로 되는 과정을 정자변태라 한다. 특히, 정자변태과정은 Leblond와 Clermont(1952)가 Periodic acid Schiff Technique로 염색하여 광학적으로 각 단계를 골지기(Golgi phase), 두모기(cap phase), 첨체기(acrosome phase) 및 성숙기(maturation phase)로 구분하여 포유동물 정자형성 단계의 규칙성을 제시하였다.

박쥐의 정자에 대한 미세구조는 Fawcett와 Ito(1965)가 전자현미경적 방법을 이용하여 밝혔으며, 박쥐류의 정자형성과 관련된 정자변태에 관한 연구로는 지연착상형인 일본산 긴날개박쥐(Mōri & Uchida, 1982), 한국산 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)와 일본산 집박쥐(Uchida *et al.*, 1988)에 대한 보고와 정자저장형인 일본산 관박쥐(Oh *et al.*, 1985), 한국산 관박쥐(김·오, 1991; Lee *et al.*, 1992)와 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)에 대한 보고가 있다. 또한 정자발생과 자성생식기관내의 정자운명에 관한 연구(김·오, 1991)와 한국산 관박쥐의 웅성생식 pattern에 관한 연구(이 등, 1993a, b)가 보고되어 있다.

그러나 정자저장형에 속하는 한국산 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*)의 정자변태에 관한 보고가 아직 제시된 바 없으므로 본 실험에서는 한국산 물윗수염박쥐를 재료로 하여 정자형성과정 중의 정자변태 과정을 알아보기 위하여 전자현미경으로 관찰하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 1996년 7월에서 8월까지 경상남도 영덕군에서 채집한 한국산 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*) 수컷 10개체로서, 체색과 치식의 마모상태를 관찰하여 성체를 선별하여 실험하였다. 생식기내의 조직변화과정을 전자현미경으로 관찰하기 위하여 Luft(1960)의 방법을 변용하였다. 각 실험군의 박쥐는 경추 파괴로 도살한 후 각 개체의 정소를 적출하였다. 적출한 조직은 3% glutaraldehyde(4°C, pH

7.4, Millonig's Buffer)로 overnight하고, 동일한 buffer 용액으로 수세한 후 1.33% $-OsO_4$ (4℃, pH 7.4, Millonig's Buffer)로 2시간 후 고정하였다. 그 후 acetone 농도 상승순서로 탈수한 다음 Epon 812로 포매하여 굳혔다. 포매된 조직은 ultramicrotome(MT-6000; Sorvall, Dupont)을 이용하여 두께 60~90nm의 초박질편을 얻어 uranyl acetate 용액과 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

결 과

본 실험은 한국산 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*)의 정자변태과정을 알아보기 위하여 전자현미경으로 관찰하였고, 정자변태과정 중의 중요한 세포의 형태학적 변화로는 골지체(Golgi complex)와 첨체소포(acrosomal vesicle)의 세포내 위치, 핵(nuclear), 첨체(acrosome) 및 첨체과립(acrosomal granule)의 형태변화, 정자의 꼬리(tail) 발달, 만세트(manchette)의 신장과 핵륜(nuclear ring)의 이동, 미토콘드리아(mitochondria)의 배치 그리고 염색질(chromatin)의 농축 정도 등을 들 수 있다. 편의상 이 등(1992)의 방법에 따라 한국산 물윗수염박쥐의 정자변태과정을 골지기(Golgi phase), 두모기(cap phase), 첨체기(acrosome phase), 성숙기(maturation phase) 그리고 이탈기(spermiation phase)로 구분하였고, 이들 단계에서 나타나는 특징과 변화에 따라 골지, 두모, 첨체 및 이탈기를 각각 전·후기로, 성숙기를 전·중·후기로 하여 전과정을 11기로 나누었다(Figs. 1~12).

1. 골지기(Golgi phase)

1) 골지전기(Early Golgi phase)

초기 정자세포의 핵은 거의 구형이며, 핵내의 염색질과립(chromatin granule)들이 균일하게 골고루 산재해 있었다. 그리고 잘 발달된 골지체가 핵 상단 부근의

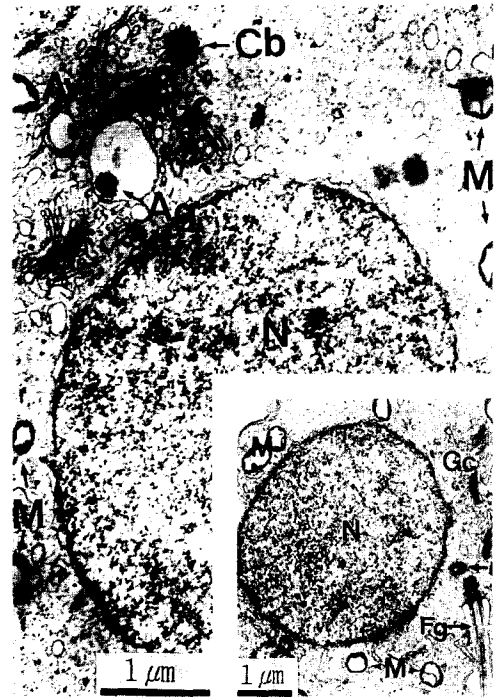


Fig. 1. Electron micrograph of the early Golgi phase. The well-developed Golgi complex appeared in the upper nucleus and mitochondria evenly appeared in cytoplasm of spermatids. Acrosome vesicle was not yet fixed in the upper nucleus. Chromatin body laid in the vicinity of Golgi of the nucleus and the tail appeared in spermatid cytoplasm(Inset).

세포질내에 존재하고 있었으며, 첨체과립을 함유한 첨체소포는 핵 상단에 위치하고 있으나, 아직 핵막과 융합하지 않았다. 그리고 미토콘드리아들이 세포질내에 고르게 분산되어 있고, 유염색질체(chromatin body)가 핵 상단의 골지체와 인접하여 위치하고 있었다(Fig. 1). 특히, 이 시기에서 편모가 세포질 밖으로 나와 있었다(Fig. 1, Inset).

2) 골지후기(Late Golgi phase)

첨체소포 부근에는 여전히 골지체가 위치하고 있었으며, 첨체과립을 함유한 첨체소포가 핵막과 융합하여 핵을 약간 함입시켰다. 미토콘드리아들은 여전히 세포질내에 분산되어 있었다(Fig. 2).



Fig. 2. Electron micrograph of the late Golgi phase. The acrosome vesicle containing a acrosomal granule fixed to a recess of the nucleus. And Golgi complex is seen in the neighborhood of acrosomal vesicle.



Fig. 3. Electron micrograph of the early cap phase. The acrosomal vacuole spreaded outward from the anterior pole of the nucleus but acrosomal granule was not flattened into the fold of the acrosomal cap. Chromatin granules began to condense in the nucleus.

2. 두모기(Cap phase)

1) 두모전기(Early cap phase)

첨체과립을 함유한 첨체소낭(acrosomal vacuole)은 핵막 상단에 넓게 퍼져 있으나, 첨체과립은 아직 고르게 분산되어 있지 않았으며, 이 시기부터 염색질과립들이 핵의 중앙부분에서 서서히 응축하기 시작하였다(Fig. 3).

2) 두모후기(Late cap phase)

첨체소낭은 표면이 볼록한 볼록렌즈상의 형태를 취하고, 핵의 후반부(핵의 약 1/3)를 향해 넓게 퍼져 있었다. 첨체과립은 서서히 균질화되기 시작하였다 (Fig. 4). 또한 핵질은 구형의 염색질과립이 핵의 중앙부위에 서 더욱더 응축되어졌고, 골지전기에서는 편모가 핵 후

방부에 인접되지 않았으나 이 시기에는 편모의 원기가 핵의 후반부에 인접되어 관찰되었다(Fig. 4, Inset).

3. 첨체기(Acrosome phase)

1) 첨체전기(Early acrosome phase)

첨체과립들이 첨체포 내부에 충만하게 분포하여 첨체를 형성하고, 미토콘드리아들이 핵의 후반부로 이동하였다. 또한 만세트가 출현하였으며, 핵은 다소 신장되어졌으며, 첨체 뒤 구역이 약간 함입되어 있고, 여기에 전자밀도가 다소 높은 핵륜이 나타나기 시작하였다(Fig. 5).

2) 첨체후기(Late acrosome phase)

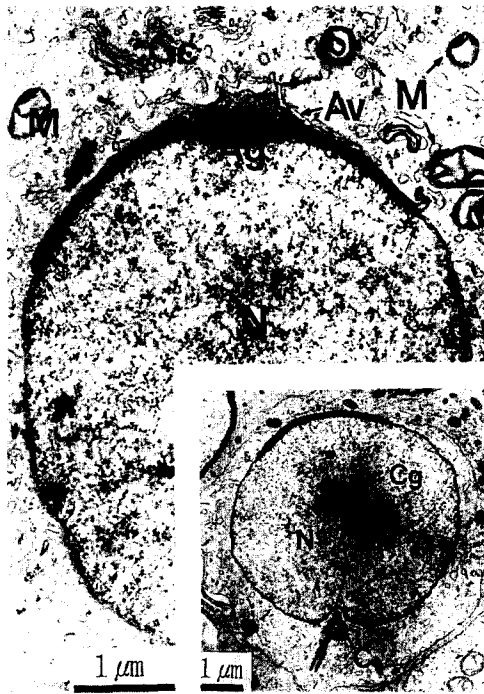


Fig. 4. Electron micrograph of the late cap phase. The acrosomal vacuole spreaded over the anterior one-third of the nucleus. Chromatin granules was condensed in the center of the nucleus and the centrioles of flagellum appeared in the spermatid cytoplasm(Inset).

침체와 핵은 만세트의 신장으로 더욱 길게 신장되고, 침체의 침단부가 핵의 전방부쪽으로 돌출되어 있었고, 핵의 신장이 더욱더 가속화되어졌다. 또한 핵륜은 초기보다 후반부로 이동하였고, 기부중심체(proximal centriole)가 기저막 아래부위에 나타나 있었다(Fig. 6).

4. 성숙기(Maturation phase)

1) 성숙전기(Early maturation phase)

침체의 침단부는 핵 앞방향으로 돌출되어 있었고, 핵은 더욱 신장되어 있었다. 핵륜은 핵의 약 1/2 부분에 위치하고 있으며(Fig. 7), 미세소관(microtubules)으로 구성된 만세트 구조물들이 원형으로 핵을 둘러싸고 있었다(Fig. 7, Inset a). 또한 annulus가 경부의 전방

부에서 관찰되었고, 유염색질체가 핵 후방부 세포질에 위치하며, 기부중심체와 단부중심체(distal centriole)가 관찰되었다(Fig. 7, Inset b).

2) 성숙중기(Mid-maturation phase)

핵내의 염색질은 완전히 응축되어 전자밀도가 높고 균질하게 분포되어 있었고, 핵륜은 핵의 기저부 가까이로 이동하여 나타났으며, 또한 핵의 기저부에 핵공(nuclear pore)이 분포한 잔여핵막(reduant nuclear membrane)이 관찰되었고(double arrows), annulus가 초기보다 아래에 위치하고 있었다(Fig. 8(a~c)).

3) 성숙후기(Late maturation phase)

침체는 핵의 전방부쪽으로 길게 신장되어 있고, apical body가 핵과 침체 사이에 위치하고 있었다. 또한 미토콘드리아는 축사(axoneme)를 중심으로 배열되기 시작하였고, annulus는 주편부(principal piece)가 시작되는 부위에 인접되어 나타났다. 그리고 이 시기의 정자 세포들은 Sertoli cell에 묻혀 있으며, 다량의 세포질소적(cytoplasmic droplet)들이 중편부에 위치하고 있었다(Fig. 9).

5. 이탈기(Spermiation phase)

1) 이탈전기(Early spermiation phase)

이 시기에는 미토콘드리아가 축사를 중심으로 나선형으로 배열되어 완전한 중편부를 형성하였고, 중편부에 소량의 세포질 소적을 함유하고 있었다. 또한 정자세포들은 Sertoli cell로부터 거의 빠져나와, 이탈직전의 정자의 형태를 갖추고 있었다(Fig. 10).

이들 정자의 중편부의 섬유구조는 9+2이며, outer dense fiber는 Nos. 1, 5, 6과 9가 다른 것보다 컸었다(Inset).

2) 이탈후기(Late spermiation phase)

이 시기에는 경부와 중편부에 소량의 세포질 소적을

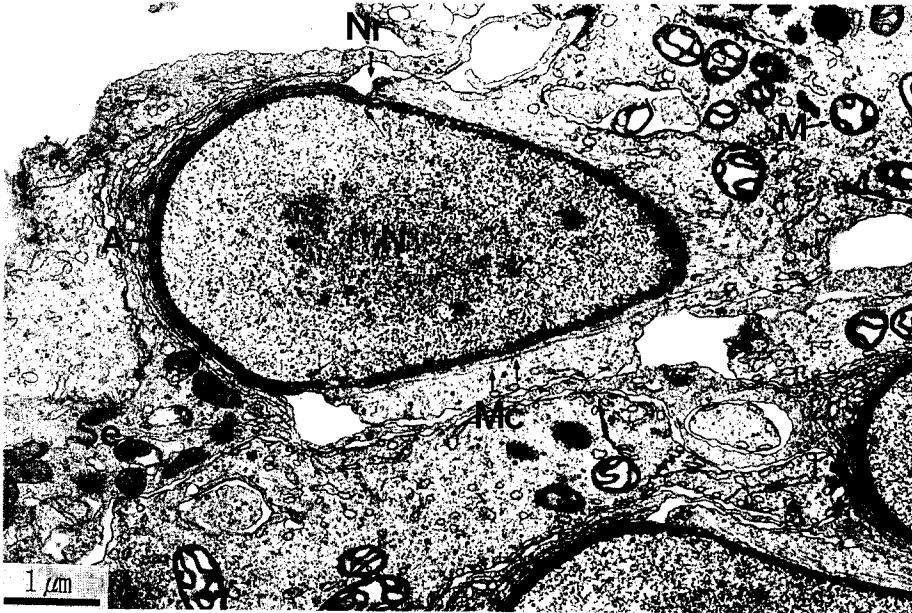


Fig. 5. Electron micrograph of the early acrosome phase.

Acrosome was flattened over the nucleus, Manchette and nuclear ring appeared and the nucleus began to elongate. And mitochondria is shifted to posterior parts of spermatid cytoplasm.

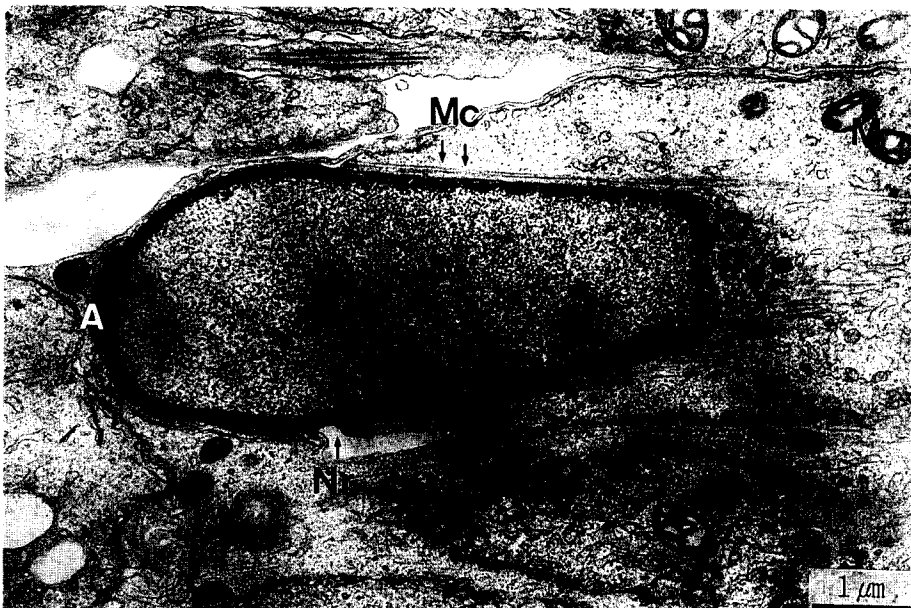


Fig. 6. Electron micrograph of late acrosome phase.

This phase had better elongation of the nucleus than the early acrosome phase. The proximal centriole is seen in cross section.



Fig. 7. Electron micrograph of early maturation phase.

This phase had better elongation of the nucleus and acrosome more than the acrosome phase. And condensation of nucleus had better than the late acrosome phase. The nuclear ring is migrated near a half of the nuclear and annulus is located on the neck region(Inset b). Also, in transverse section, the manchette has associated microtubules (Inset a).



Fig. 8(a~c). Electron micrograph of the mid-maturation phase.

The nuclear condensation was complete. And nuclear ring is migrated near basal plate of the nucleus. Redundant nuclear membrane containing nuclear pore is seen to basal region of the nucleus(double arrows).

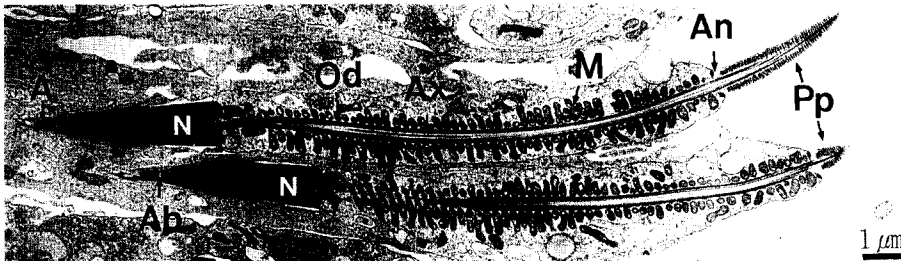


Fig. 9. Electron micrograph of the late maturation phase.

The mitochondria is irregularly arranged around middle piece. And the annulus has reached a position at the beginning of the principal piece. Also, the spermatids was yet surrounded by cytoplasm of Sertoli cell.

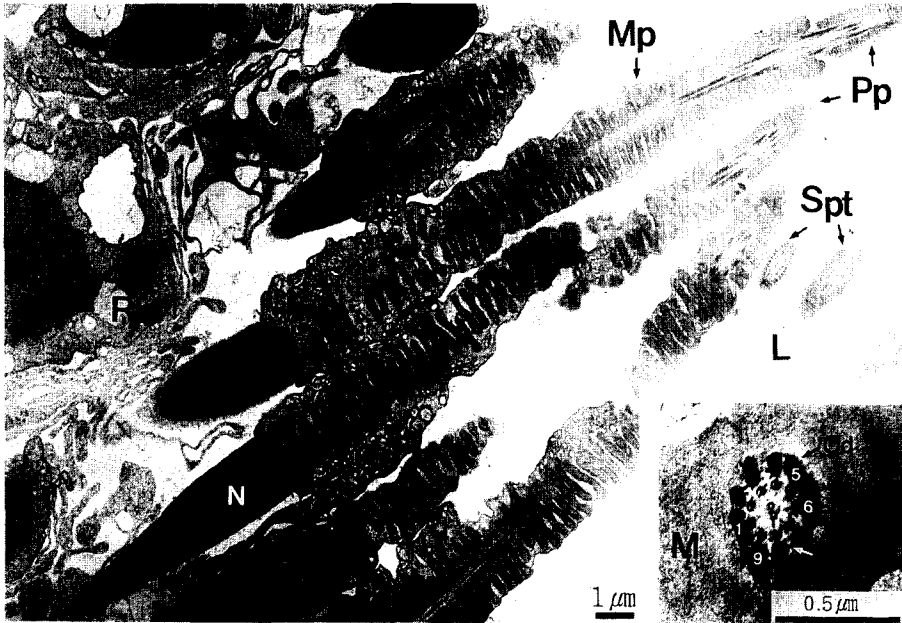


Fig. 10. Electron micrograph of the early spermiation phase.

The spermatids little contained cytoplasm droplets in middle piece and the mitochondria arranged around the axoneme. In transverse section of middle piece, the outer dense fiber 1, 5, 6 and 9 were larger than other fibers(Inset).

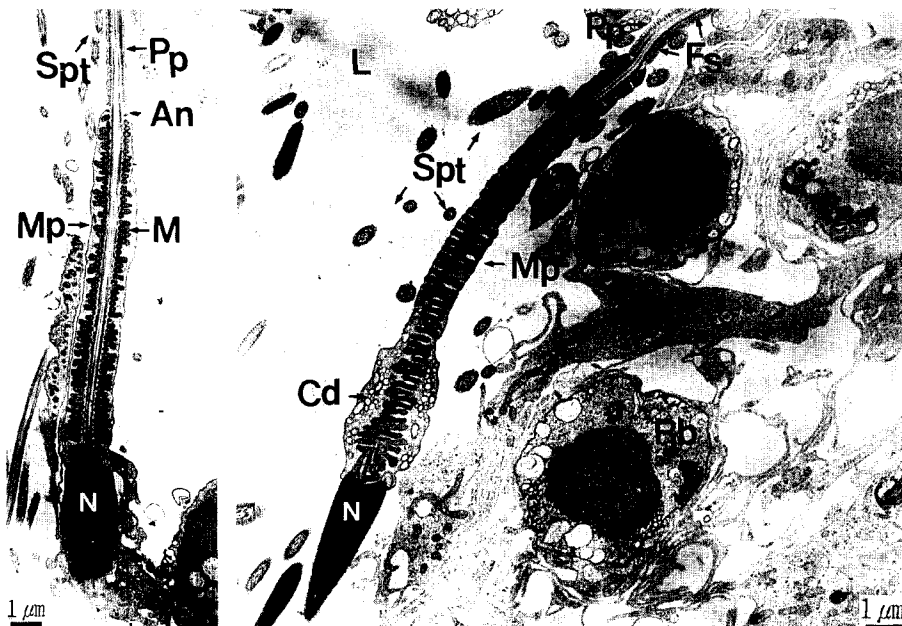


Fig. 11(a~b). Electron micrograph of the late spermiation phase.

The spermatids little contained cytoplasm droplet in the neck and middle piece. But the spermatid is completely seceded from Sertoli cell and was headed for lumen(Fig. 11b).

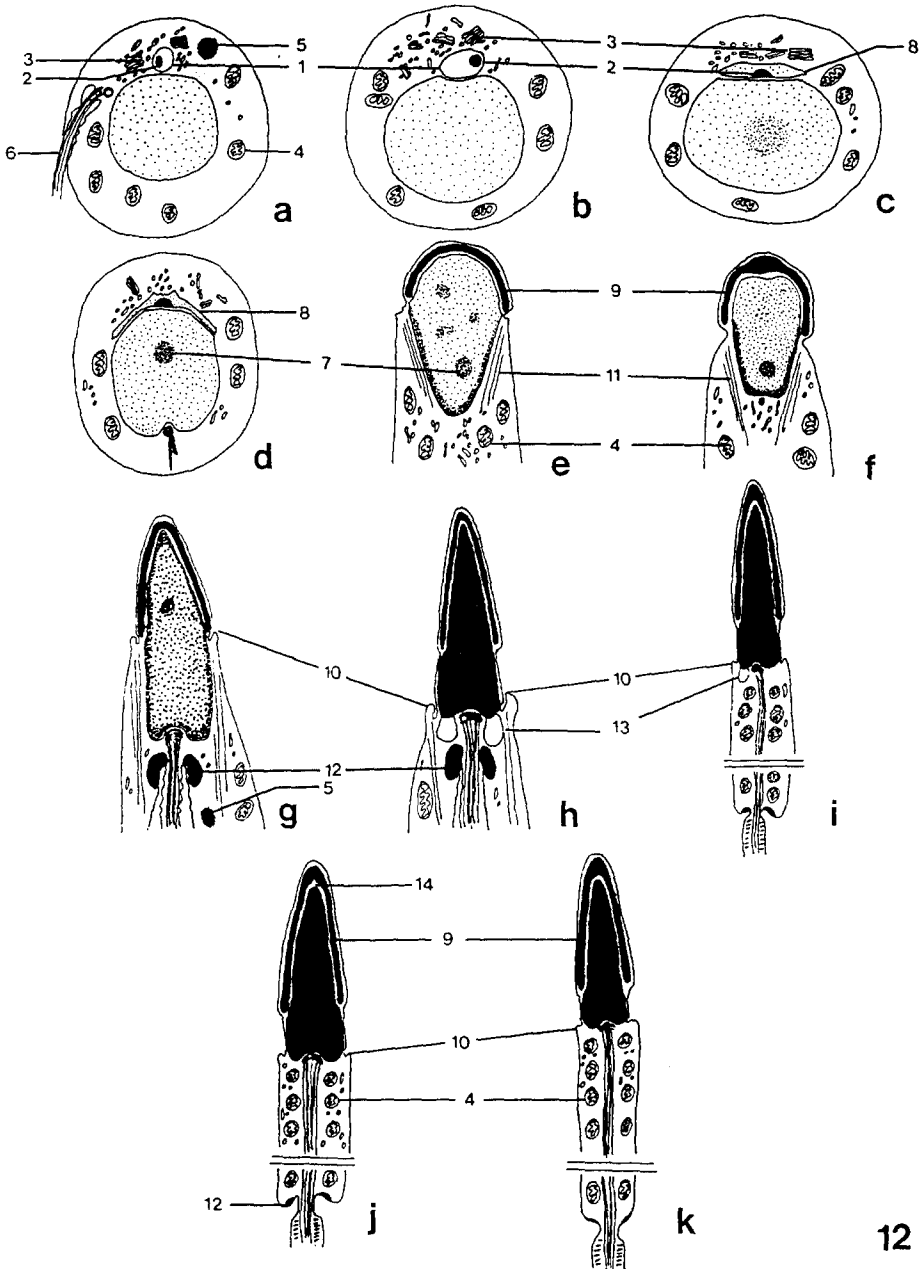


Fig. 12. Schematic representation of the development of acrosome, chromatin of spermatid nucleus and distribution of mitochondria during spermiogenesis in the Korean eastern Daubenton's bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*).

a, early Golgi phase; b, late Golgi phase; c, early cap phase; d, late cap phase; e, early acrosome phase; f, late acrosome phase; g, early maturation phase; h, mid-maturation phase; i, late maturation phase; j, early spermiation phase; k, late spermiation phase. 1, acrosomal vesicle; 2, acrosomal granule; 3, Golgi; 4, mitochondria; 5, chromatoid body; 6, tail; 7, chromatin granule; 8, acrosomal vacuole; 9, acrosome; 10, nuclear ring; 11, manchette; 12, annulus; 13, nuclear pore; 14, apical body; 15, principle piece.

함유한 체 두부만 Sertoli cell에 묻혀 있는 이탈직전의 정자세포를 비롯하여(Fig. 11a), Sertoli cell로부터 완전히 이탈되어 내강으로 향하고 있는 정자를 관찰하였다(Fig. 11b).

또한, 본 연구에서 정자변태과정 중의 세포소기관의 형태적 특징 중에서 침체소포, 미토콘드리아, 만세트 및 핵륜 형성과 이동, 핵질의 변화와 꼬리의 형성 등을 토대로 하여 한국산 박쥐 4종, 관박쥐, 긴날개박쥐, 큰발윗수염박쥐 그리고 물윗수염박쥐를 비교하면 다음과 같았다(Table 1).

고 찰

정소에서의 정자의 형성과정은 정모세포 발생과 정자변태의 두 과정으로 나누어지며, 동물의 정자형성과정은 각 동물에 따라 차이가 있는데, 동일 세정관 상피내에서 정자형성주기의 단계는 시간에 따라 다르며 세정관의 장축에 따라서도 다르게 나타나는데, 이것을 정자형성과(spermatogenic wave)라 한다.

박쥐의 정자변태에 관한 보고에서, 일본산 관박쥐(Oh *et al.*, 1985)는 5기, 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992)와 한국산 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)는 10기로 나누었으며, 한국산 큰발윗수염박쥐(Son *et al.*, 1995)는 9기로 나누었다. 이상과 같은 정자변태에 관한 단계구분은 연속하는 변화과정에서 세포의 미세구조물의 형성과 위치 변화에 따른 구분이므로 다소 차이가 있다고 생각한다.

초기의 형태학적인 연구에서 침체는 정자변태과정의 초기단계동안 침체 분화를 위해 물질들이 골지기구로부터 유래된다고 제시되었다(Leblond & Clermont, 1952; Clermont & Leblond, 1955). 정자변태과정 중, 정자세포 주위에서 골지체는 cortex(뚜렷한 소낭, 관상구조와 소포로 구성)와 medulla(느슨한 소포망과 관상구조로 구성)로 구성된다(Suarez-Quian, 1991). 또한, 초기정자세포에서 골지체는 정자와 핵을 덮어싸는 탄수화물이 풍부한 침체기구(acrosomic apparatus)의 형

성에 기여하며(Leblond & Clermont, 1952; Clermont & Leblond, 1955), 이러한 골지체는 침체 발달에 필요한 당단백질(glycoprotein)을 합성한다(Tang, 1982). 본 실험에서 골지기에 골지체의 소낭들이 침체소포의 주위에 분포되어 있어(Figs. 1, 2) 침체 발달에 중요한 기능을 하는 것으로 보여진다. 따라서 본 연구에서도 침체소낭 주변의 골지체가 침체소낭과 인접하고 있는 것으로 보아 Lee 등(1992)의 견해처럼 합성된 침체의 전구물질이 골기낭으로 이송되고 골기낭으로 이송된 전구물질이 침체소낭으로 유입되는 것으로 여겨진다.

소포체, 골지체와 침체의 물질수송에 관한 연구에서는 단클론항체를 사용하여 3가지 주요한 경로에 의해서 이루어짐이 제시되어졌는데, 즉 MN9 항체는 정자변태과정 초기에 골지기구를 경유하여 두모로 인도되어 마침내 핵의 적도 부근에 모이므로 "Golgi-head cap tract"라 하고, MN7 항체는 "Golgi-acrosomic granule tract"를 경유하여 소포체의 골지기구로부터 침체로 이동되고, 침체 발달 후기동안 내부축적을 일으킨다. 그리고 MC41 항체는 침체를 목적으로한 골지기구에서는 나타나지 않고, 정자변태과정 후기동안 침체 앞부분에서 인식되므로 "extra-Golgi tract"라 한다(Toshimori *et al.*, 1992). 따라서 이러한 침체물질들의 다양한 경로에 의해 최종 목적지로 이동되어진다.

한편, 골지기 동안, 골지기구는 다소포체(multivesicular body)의 형성에 기여하며, 다소포체는 유염색질 지역에 이동되어 퇴화하기까지 유염색질체와 연합하여 남아 있다(Tang, 1982). 유염색질체는 정모세포의 미토콘드리아에 축적되는 전자밀도가 높은 간질성의 물질에서 발생하며, 중국산 햄스터에 있어서 annulus의 지역에서 편모와 연합하여 남아있는데(Fawcett *et al.*, 1970), 이러한 유염색질체의 기능에 대해서는 아직 정확하게 밝혀지지 않았다. 본 실험에서 골지초기에 골지체 주위와 성숙초기에 핵의 후방 세포질 지역에서 유염색질체가 관찰되었으나 다른 한국산 박쥐류에서는 관찰되지 않은 것으로 조직절편상의 차이라고 생각된다.

Table 1. Comparison of morphological characteristics of the cell organelles during spermiogenesis of four species in hibernating Korean bats, *Rhinolophus ferrumequinum korai*, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*, *Myotis macrodactylus* and *Myotis daubentonii ussuriensis*

| sp. phase | <i>Rhinolophus ferrumequinum korai</i> ⁽¹⁾ | <i>Miniopterus schreibersi fuliginosus</i> ⁽²⁾ | <i>Myotis macrodactylus</i> ⁽³⁾ | <i>Myotis daubentonii ussuriensis</i> ⁽⁴⁾ |
|--------------|---|---|--|--|
| G | early Gc : be located in cytoplasm in the upper nucleus Av : be located in the upper nucleus M : be scattered in cytoplasm Nu : be homogenized | Gc : be located in cytoplasm in the upper nucleus Av : be located in the upper nucleus M : be scattered in cytoplasm Nu : be homogenized | Gc : be located in cytoplasm in the upper nucleus Av : be located in the upper nucleus M : be scattered in cytoplasm Nu : be homogenized | Gc : be located in cytoplasm in the upper nucleus Av : be located in the upper nucleus M : be scattered in cytoplasm Nu : be homogenized T : be projected from cytoplasm Cb : be located in the upper nucleus |
| | mid | Av : be located in the upper nucleus | | |
| | late Av : be fused with the nucleus membrane Cg : be began to condensed | Av : be fused with the nucleus membrane | Av : be fused with the nucleus membrane Cg : be began to condensed | Av : be fused with the nucleus membrane |
| C | early Av : a convex shape, be spread outward from the posterior of the nucleus Ag : be unflattened into fold of the acrosomal cap | Av : a convex shape, be spread outward from the posterior of the nucleus Ag : be unflattened into fold of the acrosomal cap | Av : a convex shape, be spread outward from the posterior of the nucleus T : be projected from cytoplasm | Av : be spread outward from the posterior pole of the nucleus Cg : be began to condensed |
| | late M : be scattered in cytoplasm T : be projected from cytoplasm | Ag : be homogenized within acrosomal vesicle M : be scattered in cytoplasm T : be projected from cytoplasm | Av : be located over the anterior one-third of the nucleus | Av : a convex shape, be spread outward from the posterior of the nucleus |
| A | early Ag : be homogenized within acrosomal vesicle N : be began to the nucleus elongation M : be moved from the posterior of the nucleus Mc : be appeared | N : be began to the nucleus elongation Mc : be appeared Nr : be located in the center of the nucleus | Ag : be homogenized in acrosomal vesicle N : be began to the nucleus elongation M : be moved from the posterior of the nucleus Mc : be appeared Nr : be appeared | Ag : be homogenized in acrosomal vesicle N : be began to the nucleus elongation M : be moved from the posterior of the nucleus Mc : be appeared Nr : be appeared |
| | mid Nr : be located in the center of the nucleus Cg : be condensed Mc : be elongated the nucleus | | | |
| | late Nr : be moved from the basal plate of the nucleus | Mc : be elongated → be accelerated the nucleus elongation Nr : be located in a half of the nucleus Cg : be condensed | Mc : be elongated → be accelerated the nucleus elongation Nr : be located in the center of the nucleus | Mc : be elongated → be accelerated the nucleus elongation |
| M | early | | | Nr : be located in a half of the nucleus Cb : be located in the posterior cytoplasm of the nucleus |
| | mid Cg : be clinderly condensed in the center of the nucleus Nr : be moved from the basal plate of the nucleus | Nu : be completely condensed Nr : be moved from the basal plate of the nucleus M : be arranged around axoneme | Nr : be located in two-thirds of the nucleus | Nu : be completely condensed Nr : be moved from the basal plate of the nucleus Np : be located in redundant nuclear membrane in basal region of the nucleus |
| | late | | | M : be began to arrange around axoneme |
| S | early Nr : be moved from basal region of the nucleus Np : be completely homogenized | Nr : be moved from basal region of the nucleus | Nr : be moved from basal region of the nucleus Np : be completely homogenized M : be arranged around axoneme and be formatted the middle piece | Nr : be moved from basal region of the nucleus M : be helixly arranged around axoneme and be formatted the middle piece fiber structure of Mp: 9+2 Od : Nos. 1, 5, 6, 9 |
| | late Nr : be moved under the basal plate fiber structure of Mp : 9+2 Od : Nos. 1, 5, 6, 9 Sperm : be seccessed from Sertoli cell | fiber structure of Mp : 9+2 ~ Od : Nos. 1, 5, 6, 9 Sperm : be seccessed from Sertoli cell | fiber structure of Mp : 9+2 Od : Nos. 1, 5, 6, 9 Sperm : be seccessed from Sertoli cell | Sperm : be seccessed from Sertoli cell |

A, acrosome; Ag, acrosomal granule; Av, acrosomal vesicle; Ax, axoneme; C, cap; Cb, chromatoid body; Cg, chromatin granule; G, Golgi; Gc, Golgi complex; M, mitochondria; Mc, manchette; N, nucleus; Np, nuclear pore; Nr, nuclear ring; Nu, nucleoplasm; Od, outer dense fiber; S, spermiation; T, tail; (1), Lee *et al.*,(1992); (2), Son *et al.*,(1995); (3), Son *et al.*,(1985); (4) This paper

핵의 변화에 있어서, 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992), 한국산 집고양이(손 등, 1994)와 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)의 경우에는 골지후기에 서부터 핵내의 염색질과립이 응축되기 시작되고, 한국산 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)에서는 침체후기에 염색질의 응축이 시작되지만, 한국산 물윗수염박쥐는 두모전기에서 핵의 중앙부분에서부터 염색질의 응축이 시작되었다. 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992)와 한국산 집고양이(손 등, 1994)는 성숙기에 염색질과립이 핵의 중앙부에 환형으로 나타난다고 제시하였으나 본 실험에서는 관찰되지 않았다. 또한 한국산 집고양이(손 등, 1994)와 한국산 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)는 성숙기에, 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992)와 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)는 이탈 초기에 핵질의 응축이 완전해지는데 반면에, 한국산 물윗수염박쥐에서는 성숙중기에 핵질이 완전히 응축되었다.

한편, 꼬리 형성에 있어서, Soley(1994)는 정자형성 과정 동안 정자세포의 plasmalemma에 근접하여 위치한 한쌍의 중심체(centriole)의 원위요소(distal member)로부터 기원하며, 참새목을 제외한 조류의 편모형성은 포유류와 유사하다고 제시하였다. 포유류의 꼬리 형성 시기에 있어서, 한국산 집고양이(손 등, 1994)는 두모중기에 나타나며, 돼지(김, 1986)에서는 침체전기에 꼬리가 형성된다는 것이 보고되었다. 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992)와 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)에서는 꼬리가 두모전기에 출현하였고, 또한 한국산 긴날개박쥐의 경우 두모 후기에 꼬리가 형성됨을 제시하였다(Son *et al.*, 1995). 푸른여우(Andersen, 1978)와 한국산 대륙박쥐(손·이, 1996)는 골지초기에 꼬리가 형성된다고 제시하였는데, 이것은 본 실험에서도 동일하게 관찰되었다(Fig. 1). 또한 한국산 물윗수염박쥐는 골지초기에 골지발달의 측면에 꼬리가 세포질에서 관찰되었으며, 이때의 꼬리의 중심체는 아직 핵막과 융합하지 않고 있었다. 그러나 두모후기의 꼬리의 원기는 핵의 맞은편 후방에 핵막과 융합되어 핵을 약간 함입시킨 것이 관찰되었으며, 성숙기에 완전한 꼬리를 형

성하였다. 따라서 꼬리의 출현시기가 종마다 다소 차이가 있는 것이 조직 절편과정에서의 문제인지는 앞으로 더 면밀한 조사가 필요하다고 생각된다.

핵의 신장과 관련해서 볼 때, 만세트는 침체모(acrosomal cap)의 끝에서 핵막과 연합한 평행한 미세소관(microtubule)으로서 구성된다. 다양한 설치류 중에서 미세소관의 수는 종에 따라 항구성을 가지며(Rattner & Brinkly, 1972), 정자핵의 응축과 응적감소로 인해 감소하여 중편부를 형성하는 시기에 사라진다(Thiaw & Mattei, 1989). 만세트의 미세소관은 돼지와 한국산 집고양이에서 보고되었는데, 돼지에서는 Γ 자형이나 Π 자상으로 연결되어 이중환구조를 구성하고 있으며(김, 1986), 한국산 집고양이에서는 미세소관들이 원통형으로 핵을 둘러싸고 있다고 보고하였다(손 등, 1994). 본 실험에서의 한국산 물윗수염박쥐의 만세트는 한국산 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)와 마찬가지로 핵을 원형으로 둘러싸고 있는 것이 관찰되었다.

계속되는 핵내 염색질의 응축, 핵의 신장과 핵 표면지역의 축소 후에 핵의 기저부분에 핵공이 위치한 잔여핵막이 형성된다. Gordon(1972)는 기니아 피그에서 편모형성의 초기단계에 나타나 정자변태과정 후기 단계까지 관찰되고, 많은 포유류 정자세포의 경부에서 잔여핵막을 함유한다고 보고하였다. 또한 본 실험에서 잔여핵막은 성숙 초기에서 나타나서 이탈기까지 관찰되었다.

Annulus는 포유류에 있어서, 편모의 형성후에 기부 중심체에 연관되어 발생하고, 중편부의 끝에 위치하기 위해서 꼬리를 따라서 이동하는데(Fawcett & Ito, 1965), 이러한 annulus의 이동은 중편부의 미토콘드리아 초(mitochondria sheath)를 형성하는데 필수적인 것이라고 생각된다. 그러나 Soley(1994)는 참새목을 제외한 조류에서는 annulus의 위치가 처음에 확립된 후에는 이동하지 않는다고 제시하였다. 또한 annulus는 섬유초(fibrous sheath)를 가지지 않는 동물종에서는 발견되지 않는다(Fawcett & Ito, 1965). Annulus의 형성은 유염색질체와 밀접한 관련이 있다고 보고되었는데, 푸른여우에서는 유염색질체의 출현전에 발달한다고

보고하였다(Andersen, 1978). 본 실험의 한국산 물윗수염박쥐에서 annulus는 성숙초기에 경부 전반부에서 발생하여 성숙후기에 완전하게 중편부 아래에 위치되는 것이 관찰되었다.

또한 Plöen 등(1979)은 유럽 뒤쥐에서 중편부의 미토콘드리아의 직경과 나선의 길이에 관한 연구에서, 동물의 몸 크기와 중편부의 길이 사이에는 반비례 관계가 있다고 보고하였다. Oh 등(1985)은 박쥐에서 미토콘드리아의 수와 크기는 동면기동안 암컷생식도관에서의 생존기간에 관계한다고 하였으며, 정자저장형에 속하는 박쥐 종이 지연착상형에 속하는 종보다 미토콘드리아의 수가 더 많고 크기가 크며, 이러한 미토콘드리아의 하위성은 수에서 그 상위성에 의해 보충된다고 제시하였다. 따라서 지연착상형인 한국산 긴날개박쥐와 정자저장형인 한국산 관박쥐, 큰발웃수염박쥐와 물윗수염박쥐에서 미토콘드리아의 수와 크기가 어떤 관계가 있는지에 대한 형태학적인 연구가 필요하다고 생각된다.

Apical body는 침체모와 nuclear envelope 사이에 위치한 전자밀도가 높은 구조물로 수정에 중요한 위치를 차지한다(Fawcett & Ito, 1965). 즉, 침체와 apical body의 구조적인 영역의 차이는 acrosomal hydrolase의 분할을 나타내고, 침체반응동안 hydrolase의 방출을 조절하기 위한 효율적인 기작과 난의 투명대를 통과하기 위한 기계적인 관통을 돕는다(Yanagimachi & Noda, 1970; Olson & Winfrey, 1994). 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992)에서는 침체 중기에, 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995)에서는 침체 후기에, 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)에서는 이탈초기에 침체와 구분되며 물윗수염박쥐에서는 성숙후기에 구분되어지는데, 이 단계에서 구분되어지는 것으로 보아 전단계에서 이미 형성된 것으로 생각된다. 또한 이러한 형성시기의 차이는 조직절편에 따라 다소 그 형태가 변형되어 나타난 것이라고 보여진다.

Outer dense fiber의 두께는 종간에 다소 차이가 있으며, 미토콘드리아 초의 발달에 지지적이거나 기능적으로 연관되어 있다고 여겨진다. Fawcett와 Ito(1965)

는 대부분의 종에서는 outer dense fiber의 Nos. 1, 5와 6의 3개가 큰 것에 비해, 박쥐 종에서는 No. 9도 크다고 보고하였는데, 한국산 관박쥐(Lee *et al.*, 1992), 긴날개박쥐(Son *et al.*, 1995), 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)와 마찬가지로 한국산 물윗수염박쥐에서도 동일한 결과 즉, Nos. 1, 5, 6과 9가 다른 것보다 컸다. Mōri 등(1991)은 일본산 Soricidae의 4종에 대한 보고에서 outer dense fiber는 편자모양으로 배열되어 있고, No. 5와 6의 섬유가 크며 잘 발달된 satellite fiber가 No. 5와 6의 섬유 내면에 모여있다고 보고하였다. 또한 Oh 등(1985)에 의하면, satellite fibril의 양의 점진적인 감소로 진화의 단계를 설명하여 일본산 큰발웃수염박쥐가 일본산 관박쥐보다 더 적은 양을 가지므로 진화학상 더 진화한 종으로 보여진다고 기술하였다. 그러나 한국산 큰발웃수염박쥐(Son *et al.*, 1995)와 마찬가지로 본 실험에서도 satellite fibril이 관찰되었는데, satellite fibril의 양만으로 진화를 설명하는 것은 어려우므로 더욱 세밀한 연구가 이루어져야 한다고 생각된다.

한편, Sertoli cell로 부터 이탈된 성숙한 정자에서 세포질 소적(cytoplasmic droplet)을 함유한 정자가 관찰되는데, Fawcett와 Ito(1965)는 Myotis 속에서, 미토콘드리아와 원형질막(plasma membrane) 사이에 존재하는 작은 소포(vesicle)들은 소포체 또는 골지체의 잔여물이라고 기술하였다. 또한 이 소포들은 사출 후에 운동성을 유지하기 위한 기능과 부정소를 통해서 통과하는 동안 정자의 생존을 제공하기 위한 내재성 물질(endogenous substrate)의 저장과 축적의 위치라고 제시하였다. 또한 본 실험에서도 중편부의 세포질 소적에 작은 소포들이 관찰되었는데, 이 소포들의 내부 물질들의 특징과 기능에 대해서는 면역세포화학적 연구가 이루어져야 한다고 생각된다.

이상의 결과로 볼 때, 정자저장형인 한국산 관박쥐의 웅성생식주기(이 등, 1993a, b) 및 정자변태는 연구되어 있으나(Lee *et al.*, 1992), 큰발웃수염박쥐와 물윗수염박쥐 그리고 지연착상형인 한국산 긴날개박쥐의 웅성생식주기는 아직 연구되어 있지 않으므로, 각각의 웅성

생식주기를 밝힘으로써 생식 메카니즘을 연구하고, 정자형성과정 동안 세포내 세포소기관의 위치 변화와 생리기능 등을 면역세포화학적 방법을 이용하여 비교·검토하는 것이 앞으로 연구되어야 할 과제라고 생각된다.

요 약

한국산 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*)의 정자변태과정을 알아보기 위하여, 정소를 적출하여 전자현미경으로 각각의 단계에서 나타나는 세포구조물의 특징과 변화를 기초로하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

세포구조물의 형태에 따라 한국산 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*)의 정자변태과정을 골지기(Golgi phase), 두모기(cap phase), 침체기(acrosome phase), 성숙기(maturation phase)와 이탈기(spermiation phase)의 5 phase로 구분하고, 각각의 단계에서 나타나는 세포구조물의 특징과 변화에 따라 골지, 두모, 침체와 이탈기를 전·후기로, 성숙기를 전·중·후기로 구분하여 전과정을 11 phase로 나타내었다. 염색질의 응축은 두모전기에서 서서히 응축되기 시작하여, 성숙기에서 완전히 응축되어, 성숙한 정자 핵의 형태를 갖추었다. 유염색질에는 골지초기에 핵의 상단 세포질에 위치하며, 성숙 전기에 핵 후방부 세포질에서 각각 관찰되었다. 꼬리의 형성은 골지초기에 세포질에 나타나기 시작하여, 이탈기에 완전한 형태를 갖추었다. 정자 중편부의 섬유구조는 9+2이며, outer dense fiber는 No. 1, 5, 6 과 9가 다른 것보다 컸었다.

인용문헌

- 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 Embryol 7:164-181.
- Clermont Y, Leblond CP (1955): Spermiogenesis of man, monkey, ram, and other mammals as shown by the "periodic acid-Schiff" technique. Am J Anat 96:229-254.
- Fawcett DW, Ito S (1965): The fine structure of bat spermatozoa. Am J Anat 116:567-610.
- Gordon M (1972): The nuclear envelope in guinea pig spermiogenesis. Anat Rec 173:45-56.
- Gustafson AW (1979): Male reproduction patterns in hibernating bats. J Reprod Fert 56:317-331.
- Leblond CP, Clermont Y (1952): Spermiogenesis of rat, mouse, hamster, and guinea pig as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulphurous acid" technique. Am J Anat 90:167-215.
- Lee JH, Choi BJ, Son SW (1992): Spermiogenesis in the Korean Horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. Korean J Electron Microscopy 22(2):97-117(in Korean with English abstract).
- Mōri T, Arai S, Shiraishi S, Uchida TA (1991): Ultrastructural observations on spermatozoa of the Soricidae, with special attention to a subfamily revision of the Japanese Water Shrew *Chimarrogale himalayica*. J Mamm Soc Japan 16(1):1-12.
- Mōri T, Uchida TA (1982): Changes in the morphology and behaviour of spermatozoa between copulation and fertilization in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. J Reprod Fert 65: 23-28.
- Mōri T, Son SW, Yoon MH, Uchida TA (1989): Prolonged survival of the Graafian follicle accompanied with sperm storage and the subsequent early development in the female greater tube-nosed bat, *Murina leucogaster*. J

- Fac Agr Kyushu Univ 34(1·2):1-22.
- Oh YK, Mōri T, Uchida TA (1985): Spermiogenesis in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. J Fac Agr Kyushu Univ 29(4):203-209.
- Olson GE, Winfrey VP (1994): Structure of acrosomal matrix domains of rabbit sperm. J Ultrastruct Biol 112:41-48.
- Plöen L, Ekwall H, Afzelius BA (1979): Spermiogenesis and the spermatozoa of the European common shrew (*Sorex araneus* L.). J Ultrastruct Res 68:149-159.
- Rattner JB, Brinkley BR (1972): Ultrastructure of mammalian spermiogenesis. III. The organization and morphogenesis of the manchette during rodent spermiogenesis. J Ultrastruct Res 41:209-218.
- Soley JT (1994): Centriole development and formation of the flagellum during spermiogenesis in the ostrich (*Struthio camelus*). J Anat 185:301-313.
- Son SW, Lee JH, Shin WJ, Choi BJ (1995): Spermiogenesis in the large-footed bat, *Myotis macrodactylus*. Korean J Electron Microscopy 25(1):96-110.
- Suarez-Qulan CA, An Q, Jelesoff N, Dym M (1991): The Golgi apparatus of rat pachytene spermatocytes during spermatogenesis. Anat Rec 229:16-26.
- Tang XM, Lalli MF, Clermont Y (1982): A cytochemical study of the Golgi apparatus of the spermatid during spermiogenesis in the rat. Am J Anat 163:283-294.
- Toshimori K, Tani I, Araki S, Oura C (1992): Characterization of the antigen recognized by a monoclonal antibody MN9: unique transport pathway to the equatorial segment of sperm head during spermiogenesis. Cell Tissue Res. 270:459-468.
- Uchida TA (1964): A review on affinity in Chiroptera. Mammalian Science 6:13-27(in Japanese).
- Uchida TA, Mōri T, Son SW (1988): Delayed capacitation of sperm in the Japanese house bat, *Pipistrellus abramus*. J Mamm Soc Japan 13(1):1-10.
- Yanagimachi R, Noda TD (1970): Fine Structure of the hamster sperm head. Am J Anat 128:367-388.
- 김은주, 오영근 (1991): 한국 관박쥐의 정자발생과 자성생식관내의 정자운명에 관한 연구. 한국전자현미경학회지 21(2):14-28.
- 김종욱 (1986): 돼지의 정자완성에 관한 전자현미경적 연구. 한국전자현미경학회지 16(1):1-13.
- 이정훈, 손성원, 毛利孝之, 白石 哲 (1993a): 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*)의 응성생식 pattern에 관한 연구. I. 세정관상피의 주기 및 정소의 조직변화. 한국동물학회지 36:36-50.
- 이정훈, 손성원, 毛利孝之, 白石 哲 (1993b): 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*)의 응성생식 pattern에 관한 연구. II. 정자유입, 저장 및 소멸에 따른 정소상체 미부의 조직변화. 한국동물학회지 36:51-66.
- 손성원, 이정훈 (1996): 한국산 대륙박쥐 (*Clethrionomys rufocanus regulus*)의 정자변태. 대한의생명과학회지 2(1):57-69.
- 손성원, 이정훈, 최용만, 정영모 (1994): 한국산 집고양이 (*Felis domestica*)에서의 정자변태. 한국동물학회지 37:416-427.