

한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*)와 긴가락박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*) 정자의 형태 비교

김상식*, 이정훈, 손성원, 최병진¹
경남대학교 자연과학대학 생물학과,
¹국립환경연구원 환경위해성연구부 환경생물과

Morphological Comparison of Spermatozoa in the Korean Greater Horseshoe Bat (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) and Long-Fingered Bat (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*)

Sang-Sick Kim,* Jung-Hun Lee,
Sung-Won Son and Byung-Jin Choi¹
Department of Biology, College of Natural Sciences,
Kyungnam University, Masan, Kyungnam, 631-701, KOREA
¹Environmental Biology Research Division, National Institute of
Environmental Research, Seoul, 110-270, KOREA
(Received November 25, 1998)

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate with transmission electron microscope the comparative morphology of epididymal spermatozoa in two species of the Korean insectivorous bats belonging to "prolonged sperm storage" type (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) and "delayed implantation" type (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*). Sperm head of the *R. ferrumequinum korai* was bullet shaped and that of *M. schreibersi fuliginosus* was spatula shaped. The nuclei of the sperm head of the *R. ferrumequinum korai* and *M. schreibersi fuliginosus* occupied two-third and a half of it, respectively. The segmented columns of *R. ferrumequinum korai* were about 12 to 14 in number, and those of the *M. schreibersi fuliginosus* were about 10 to 12. Particularly, a pile of the satellite fibers in middle piece of *R. ferrumequinum korai* remained the inner aspect of the outer dense fibers, but those of the *M. schreibersi fuliginosus* were not.

Key words : Satellite fiber, Segmented column, Spermatozoa

* Correspondence should be addressed to Sang Sick Kim, Electron Microscopy Lab., Pusan National University Hospital, 10, Ami-dong 1, Seo-gu, Pusan 602-739 Korea. Ph : (051) 240-7325, FAX : (051) 254-0251, E-mail: emman@channeli.net
Copyright © 1999 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

일반적으로 포유류의 정자는 교미후 질, 자궁을 통과하여 난관의 팽대부에서 난자를 만나 수정이 일어나며, 수정란은 연속적인 난화의 과정을 통하여 자궁으로 내려와 착상이 이루어진다. 그러나 온대산 박쥐류의 번식양식은 오랜 동면에 의해 중단되기 때문에 일반 포유류와는 많은 차이를 나타낸다.

박쥐류의 번식유형을 정자의 암컷의 생식도관 내에서의 유형별로 구분하여 보면, 비동면성 박쥐에서 볼 수 있는 일반포유류형, 그리고 동면성 박쥐에서 관찰되는 정자저장형 ("prolonged sperm storage" type)과 지연착상형 ("delayed implantation" type)의 세가지 양식으로 나눌 수 있다(Uchida, 1964). 즉 교미, 배란 및 수정이 연속적으로 일어나는 것을 일반포유류형이라 하고, 교미는 일어나지만 정자가 암컷의 생식도관내에서 동면기간 동안 저장되어 있다가 동면 후에 수정이 일어나서 착상되어 지는것을 정자저장형이라 한다. 이 유형에 속하는 박쥐류는 일본산 관박쥐, *Rhinolophus ferrumequinum nippon* (Oh et al., 1985), 한국산 붉은박쥐, *Myotis formosus tsuensis* (Son et al., 1987), 작은갈색박쥐, *Myotis lucifugus* (Fawcett & Ito, 1965; Hoffman et al., 1987), 한국산 물윗수염박쥐, *Myotis daubentonii ussuriensis* (Son et al., 1997)와 큰관코박쥐, *Murina leucogaster* (Mōri et al., 1989) 등이 있다. 또한 가을에 교미 후 배란과 수정이 일어나지만 동면기간 동안 수정란 상태로 생식도관내에 존재하다가 동면각성 후 연속적인 배발생과정을 행하는 것으로 동면기간 동안에는 착상이 지연되는 것을 지연착상형이라 한다. 이 유형에 속하는 박쥐류는 일본산 긴가락박쥐, *Miniopterus schreibersi fuliginosus* (Mōri & Uchida, 1982), 일본산 집박쥐 (*Pipistrellus abramus*, Uchida et al., 1988) 등이 있다.

한편, 박쥐 정자의 형태에 관한 연구는 처음으로 Fawcett & Ito (1965)에 의해 전자현미경적 방법으로 미세구조가 밝혀졌으며, 박쥐류의 정자형성과 관련된 정자변태과정 중의 정자형성세포에 관해 다수의 연구 보고가 있다. 이러한 정자의 미세구조적 차

이는 종간의 차이가 있음을 시사하며 응성생식세포의 분화양상에 따른 각각의 특징들은 종을 규명하는데 있어 중요한 의미를 가진다고 할 수 있다(Son et al., 1995).

따라서 본 연구에서는 정자저장형에 속하는 한국산 관박쥐와 지연착상형에 속하는 한국산 긴가락박쥐 정자의 형태를 비교하고, 각각의 생식패턴과는 어떤 관련성이 있는지 알아보기 위하여 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에서 사용된 재료는 한국산 관박쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) 수컷 4개체와 긴가락박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*) 수컷 3개체로서, 에테르로 마취 후 부정소의 미부를 채취하였다. 채취한 조직을 3%-glutaraldehyde (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4)로 전고정을 하였고, 1.33%-OsO₄ (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4)로 후고정을 하였다. 고정이 끝난 조직들은 동일한 완충액으로 수세한 다음 아세톤 농도 상승순으로 탈수하여 Epon 812 혼합액으로 포매하여 굳혔다. 포매가 끝난 조직들은 ultramicrotome (Leica, Reichert SuperNova)을 이용해 박절하고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과형 전자현미경 (TEM, Jeol, JEM 1200EX-II)으로 관찰하였다.

결 과

한국산 관박쥐와 긴가락박쥐 부정소의 미부에 존재하는 정자들의 미세구조를 두부 (Head), 경부 (Neck), 미부 (Tail)로 나누어 비교한 결과는 다음과 같았다.

1. 관박쥐 (*R. ferrumequinum korai*) 정자

1) 두부

정자두부의 모양은 탄환형으로서, 핵은 정자 두부의 2/3 정도의 부분을 점유하고 있었다(Fig. 2a). 첨체 전방 끝은 길게 뻗어져 있었고, 핵과 첨체는 apical body에 의해 분리되어 있었으며 정자의 원형

질막이 첨체 주위에 느슨하게 덮혀져 있었으나 첨체 후방 부분에는 밀착되어 덮혀져 있었다(Fig. 1)

2) 경부

경부는 capitulum, segmented column 등으로 구성 되어져 있으며(Fig. 2b), 기저판(basal plate)은 implantation fossa라고 불리우는 외피와 인접되어 있었다(Fig. 2b, double-arrows). 그리고 segmented column (arrowheads)들은 가는 띠로 분리된 약 12~14층으로 구성 되어져 있었다. 특히, 이 구조물은 중편부의 외측섬유(outer dense fibers)와 연결이 되어 있었다(Fig. 2b, arrows).

3) 미부

중편부는 1쌍으로 구성된 미토콘드리아들이 나선상으로 규칙적으로 외측섬유를 둘러싸고 있었다(Figs. 2b, 2c). 그리고 외측섬유 주위와 섬유들 사이에 satellite fibers들이 관찰되어 졌으며(Fig. 3a), 중편부의 뒷쪽으로 갈수록 관찰이 되지 않았다(Figs. 3b-f). annulus는 나선으로 배열된 미토콘드리아의 끝에 위치하고 있었다(Fig. 2c).

외측섬유는 말굽모양으로 배열되어 있었고, 1, 5, 6, 9번이 다른 것보다 컸었다(Fig. 3b). 그리고 축사의 구조는 전형적인 9+2 구조이었다(Figs. 3a-e). 주편부(principal piece)의 기시부에서는 섬유초(fibrous sheath)가 외측섬유들을 둘러싸고 있었으나(Fig. 3c), 주편부의 말단부에서는 외측섬유들이 존재하지 않았으며, 축사들만이 관찰 되었다(Fig. 3d). 그리고 미부의 중간 부분에서는 섬유초조차도 관찰되지 않았으며(Fig. 3e), 미부의 말단부(끝부분)에서는 축사들의 팔(arm)들은 존재하지 않고, 미소관(microtubules)들만이 불규칙하게 배열되어 있다(Fig. 3f).

2. 긴가락박쥐 (*M. schreibersi fuliginosus*) 정자

1) 두부

정자두부의 모양은 주걱모양의 형태를 취하고 있었으며(Fig. 5a), 첨체는 핵의 전방부에서는 마치 곤봉 모양을 하고 있었다(Fig. 4, arrows). 핵은 정자두부의 1/2 정도를 점유하고 있었다(Fig. 5a). 정자의 원형질막이 첨체 주위에 느슨하게 덮혀져 있었으

나 적도절 부분에서는 밀착되어져 있었다(Fig. 4)

2) 경부

경부 역시 관박쥐와 마찬가지로 capitulum, segmented column 등으로 구성되어져 있었으며(Fig. 5b), 기저판 역시 implantation fossa라고 불리우는 외피와 인접되어 있었다(Fig. 5b, arrowheads). 그리고 segmented column들은 가는 띠로 분리된 약 10~12층으로 구성되어져 있었다(arrows). 이 구조물은 관박쥐와 마찬가지로 중편부의 외측섬유와 연결이 되어 있었다(Fig. 5b).

3) 미부

관박쥐와 마찬가지로 미토콘드리아들이 중편부의 외측섬유를 나선상으로 둘러싸고 있었다(Figs. 5b, c). 관박쥐와는 달리 중편부의 전방부의 외측섬유들 사이에 satellite fiber가 존재하지 않았다(Fig. 6a). 외측섬유 역시 관박쥐와 마찬가지로 말굽모양으로 배열되어 있었고, 1, 5, 6, 9번이 다른 것보다 컸었다(Figs. 6a-c). 축사의 구조는 전형적인 9+2구조를 취하고 있었다(Figs. 6a-e). 주편부의 기시부와 중간부분에서는 섬유초가 외측섬유들을 둘러싸고 있었으나(Figs. 6b, c), 미부의 기시부에서는 외측섬유들이 존재하지 않고 축사들만이 관찰 되었다(Fig. 6d). 그리고 미부의 중간부에서는 섬유초가 관찰되지 않았으며(Fig. 6e), 미부의 말단부(끝부분)에서는 축사들의 팔은 존재하지 않고 미소관들만이 불규칙하게 배열되어져 있었다(Fig. 6f).

고 찰

일반적으로 포유류의 정자는 두부와 미부의 주요한 두 부분으로 구성되어 있다. 미부는 다시 경부, 중편부, 주편부, 미편부(말단부)의 4부분으로 나뉜다(Lee & Son, 1997).

포유류 정자의 두부는 정자변태과정 중 성숙단계에서 거의 원래의 모양으로 이루어지고, 제일 마지막 단계에서 거의 완성된 모양이 만들어지며(Lalli & Clermont, 1981; Lee & Son, 1997), 부정소의 두부에서 미부까지 통과하는 동안 정자의 모든 부분이 거의 성숙해 완전해진다(Rodríguez & Bustos-

Obregón, 1994; Lee & Son, 1997).

Lee (1996)는 두부의 형태는 미세관 형태가 핵의 형태변화에 미치는 결과로서 나타나고, 대개 포유동물의 경우 포환형을 가지는 반면에 설치류의 경우 Fan형 (Phillips & Bedford, 1985; Kurohmaru et al., 1994) 및 낫꼴 형 (Yanagimachi & Noda, 1970; Son & Lee, 1995)을 가진다고 설명했다. 본 연구에서는 관박쥐의 두부의 모양은 탄환형 (bullet shape; Figs. 2a, 7a)이었고, 긴가락박쥐는 주걱형 (spatulate shape; Figs. 5a, 7c)이었다.

첨체는 수정직전에 난자의 투명대를 통과하기 위하여 쓰인다 (Lee, 1996). 그러나 경골어류 정자에는 첨체가 존재하지 않는데 (Cho & Reu, 1998), 이런 종의 난자에는 정자두부 크기 정도의 난문이 존재하여 정자의 진입통로로서의 기능을 수행하는 것으로 여겨진다 (Cho & Reu, 1998).

Apical body는 첨체모와 핵의 바깥층 사이에 위치한 전자밀도가 높은 구조물로 수정에 중요한 위치를 차지하는데 (Fawcett & Ito, 1965; Son et al., 1997), 이는 난막과 첨체가 반응하는 동안에 hydrolyase의 방출을 조절하기 위한 기작과 난의 투명대를 통과하기 위한 기계적인 관통을 돕는 것으로 여겨진다 (Olson & Wintrey, 1994; Son et al., 1997).

Hoffman et al. (1987)은 작은 갈색박쥐 (*Myotis lucifugus*)에 있어서 원형질막이 두부 전체를 느슨하게 둘러싸고 있다고 설명하였는데, 본 실험의 두 종에서도 동일한 형태를 나타냈다 (Figs. 1, 4). 그러나 난막과 실제적으로 융합을 하는 적도절 부분에는 원형질막이 핵막과 밀착되어 있었다 (Figs. 1, 4).

경부는 대부분 정자에 있어서 구조적으로 아주 복잡한 영역이다 (Fawcett & Ito, 1965; Lee & Son, 1997). 그리고 기능적으로 정자의 운동에 있어서 방향을 유도하는 아주 중요한 역할을 하는 부분이다 (Lee & Son, 1997). Lee & Son (1997)은 동줄쥐 (*Apodemus agrarius coreae*)의 정자에 있어서 기저판 인근, 핵막 위에 있는 첨체 영역 인근 그리고 중편부의 첫번째 미토콘드리아 인근에 microfilaments 구조물이 존재하여 정자의 운동성에 도움을 주고, 이 구조물은 segmented column들을 둘러싸고 있다고 설명하였다.

정자의 중편부에 존재하는 미토콘드리아는 정자의 운동성을 위한 에너지를 공급하며 (Olson & Wintrey, 1992), 산화과정을 촉진하고 ATP 생산과 세포내에 분배하는 능력을 증가시키는 것으로 알려져 있는데 (Keyhani & Lemanski, 1981), 일본산 관박쥐와 긴가락박쥐 경우에서의 미토콘드리아의 수는 각각 160개, 78개로 구성되어져 있어 (Oh et al., 1985) 일본산 관박쥐가 약 2배 정도로 많은 숫적 차이를 나타내었는데, Oh et al. (1985)과 Son et al. (1997)은 박쥐에 있어서 미토콘드리아의 수와 크기는 동면하는 동안 암컷 생식도내에서 정자가 오랫동안 생존하기 위한 것과 밀접한 관계가 있다고 기술하였다. 즉, 관박쥐에 있어서 미토콘드리아의 수는 같은 생식 패턴의 다른 박쥐 수보다 상당히 많지만 크기는 같은 생식 패턴의 박쥐의 크기보다 훨씬 작은데 이것은 크기가 작지만 그 수가 많음으로서 보충이 되는 것으로 보인다고 설명하였다. 한편, 어류에 있어서 경골어류강에 속한 동자개 (*Pseudobagrus fulvidraco*, Lee, 1998)와 긴물개 (*Squalidus gracilis majimae*, Lee & Kim, 1998) 등의 미토콘드리아 수는 각각 약 20개와 10개 정도이다. 이는 어류들은 대개 물속에서 체의 수정을 하기 때문에 정자 자체의 운동성이 체내 수정을 하는 종들보다 많이 필요로 하지 않기 때문이 아닌가 생각된다.

Oh et al. (1985)은 satellite fiber가 외측섬유의 외피가 벗겨져 발생이 되고, 이 구조물은 굵은 외측섬유들의 신장력을 증가하기 위함이며, 이 구조물의 양에 있어서 계속적이고도 단계적인 감퇴는 동물의 진화와 관계가 있을 것으로 설명하였다. 본 연구에 있어서, 관박쥐의 경우 satellite fibers가 존재하였는데 (Fig. 3a), *Myotis macrodactylus*, *Myotis nattereri*, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*, *Pipistrellus abramus* 등의 박쥐의 정자에는 관찰이 되지 않았다 (Oh et al., 1985). 더욱이 Oh et al. (1985)은 일본산 큰발 옷수염박쥐의 양이 일본산 관박쥐의 양보다 적기 때문에 큰발 옷수염박쥐가 진화학적으로 더 진화를 했다고 설명한 반면에, Son et al. (1997)은 한국산 큰발 옷수염박쥐 (Son et al., 1995)와 마찬가지로 한국산 물윗수염박쥐에도 satellite fiber가 존재하기 때문에 이 구조물의 양으로만 가지

고 진화를 설명한다는 것은 어렵다고 설명하였다.

Soricidae (땃쥐과)에 있어서 satellite fiber는 5번과 6번의 외측섬유 주위에 산재해 있고, 중편부의 길이가 길며, 가느다랗고 물결모양의 apical body를 가진다. 반면에 Talpidae의 경우 중편부의 길이가 짧고, 짧은 손가락 모양의 apical body를 가지나, satellite fiber는 Soricidae와 마찬가지로 5번과 6번의 outer dense fiber 주위에 산재해 있다(Mōri, 1994). 그러나 본 연구에서 판박쥐의 경우 외측섬유 1번부터 9번까지 균등하게 분포되어 있다(Fig. 3a).

이상의 관찰 결과를 종합하여 볼 때 정자의 외형 및 내부 구조적 특징들이 생식패턴과 관련이 있을 것으로 여겨지나, 이에 대한 생리학적 연구가 이루어 진다면 정확한 관련성을 밝혀낼 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Cho JH, Reu DS: Ultrastructural Study on the Spermatogenesis of Pale Chub (*Zacco platypus*). Kor J Electron Microscopy, 28(2):181-191, 1998. (Korean)
- Fawcett DW, Ito S: The Fine Structure of Bat Spermatozoa. Am J Anat 116:567-610, 1965.
- Hoffman LH, Wimsatt WA, Olson GE: Plasma membrane structure of bat spermatozoa: observations on epididymal and uterine spermatozoa in *Myotis lucifugus*. Am J Anat 178(4):326-334, 1987.
- Keyhani E, Lemanski LF: Mitochondrial morphology in the spermatozoa of the Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. J Cell Sci 50:449-461, 1981.
- Kurohmaru M, Kobayashi H, Hattori S, Nishida T, Hayashi Y: Spermiogenesis and ultrastructure of a peculiar acrosomal formation in the musk shrew, *Suncus murinus*. J Anat 185:503-509, 1994.
- Lalli M, Clermont Y: Structural changes of the head components of the rat spermatid during late spermiogenesis. Am J Anat 160:419-434, 1981.
- Lee JH: Spermiogenesis in the Korean Manchurian field mouse, *Apodemus speiosus peninsulae*. Kor J Electron Microscopy 26(2):221-223, 1996. (Korean)
- Lee JH, Son SW: Morphological Characteristics of Sperm in the Korean Striped Field Mouse, *Apodemus agrarius coreae*: Possible Role of Sperm Neck in the Movement of Sperm Head. Kor J Biol Sci 1:371-379, 1997.
- Lee YH: Ultrastructure of Spermatozoa in the Bagrid Catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Teleostei, Siluriformes, Bagridae). Kor J Electron Microscopy 28(1):39-48, 1998.
- Lee YH, Kim KH: Spermatozoal Ultrastructure and Phylogenetic Relationships of Subfamily Gbioninae (Cyprinidae, Teleostei) 1. Ultrastructure of the Spermatozoa of the Korean Slender Gudgeon *Squalidus gracilis majimae*. Kor J Electron Microscopy 28(1):63-71, 1998.
- Mōri T: Phylogenetic Implications of Sperm Ultrastructure in Japanese Insectivores. Mammalian Science 34(1):51-57, 1994.
- Mōri T, Son SW, Yoon MH, Uchida TA: Prolonged survival of the Graafian follicle accompanied with sperm storage and the subsequent early development in the female greater tubenosed bat, *Murina leucogaster*. J Fac Agr Kyushu Univ 34(1·2):1-22, 1989.
- Mōri T, Uchida TA: 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, 1982.
- Oh YK, Mōri T, Uchida TA: Spermiogenesis in the Japanese Greater Horseshoe Bat, *Rhinolophus ferrumquinum nippon*. J Fac Agr Kyushu Univ 29(4):203-209, 1985.
- Olson GE, Winfrey VP: Structure of acrosomal matrix domains of rabbit sperm. J Ultrastruct Biol 112:41-48, 1984.
- Olson GE, Winfrey VP: Structural organization of surface domains of sperm mitochondria. Mol

- Reprod Dev 33:89-98, 1992.
- Phillips DM, Bedford JM: Unusual features of sperm ultrastructure in the musk shrew, *Suncus murinus*. J Exp Zool 235:119-126, 1985.
- Rodríguez H, Bustos-Obregón E: Seasonal and epididymal maturation of stallion spermatozoa. Andrologia 26:161-164, 1994.
- Son SW, Lee JH: Spermogenesis in the Korean striped field mouse, *Apodemus agrarius coreae*. Kor J Zool 38(3):395-404, 1995. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Cheon HM: Spermogenesis in the Korean Daubenton's Bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*). Dev Reprod 1:9-24, 1997. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Shin WJ, Choi BJ: Spermogenesis in the large-footed bat, *Myotis macrodactylus*. Kor J Electron Microscopy 25(1):96-110, 1995. (Korean)
- Son SW, Yoon MH, Mōri T, Uchida TA: Sperm storage in the reproductive tract and prolonged survival of the graafian follicle in the female orange whiskered bat, *Myotis formosus tsuensis*, of Korea. J Mamm Soc Japan 12(1·2):1-14, 1987.
- Uchida TA: A review on affinity in Chiroptera. Mammalian Science 6:13-27, 1964.
- Uchida TA, Mōri T, Son SW: Delayed capacitation of sperm in the Japanese house bat, *Pipistrellus abramus*. J Mamm Soc Japan 13(1):1-10, 1988.
- Yanagimachi R, Noda TD: Fine Structure of the hamster sperm head. Am J Anat 128:367-388, 1970.

<국문초록>

본 연구는 정자저장형에 속하는 한국산 관박쥐와 지연착상형에 속하는 한국산 긴가락박쥐 정자들의 형태를 각각 비교 관찰하였다. 정자두부의 형태에 있어서, 관박쥐는 긴 탄환형이었고, 긴가락박쥐는 주걱형이었다. 관박쥐는 두부의 2/3부분이 핵으로 이루어져 있었고, 긴가락박쥐는 1/2부분이 핵으로 이루어져 있었다. Segmented column들은 관박쥐의 경우 12~14층으로 이루어져 있었고, 긴가락박쥐의 경우 10~12층으로 이루어져 있었다. 특히 satellite fiber의 경우 관박쥐는 중편부의 외측섬유들 사이에 존재하고 있지만, 긴가락박쥐는 존재하지 않았다. 이상의 관찰 결과에서 볼 때 이들 박쥐정자의 외형 및 내부 구조적 특징들이 생식패턴과 관련이 있을 것으로 여겨진다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Electron micrograph showing sagittal section of the cauda epididymal spermatozoon of the *Rhinolophus ferrumequinum korai*. The nucleus was surrounded by the acrosome, and they were separated by the apical body. A, acrosome; Ab, apical body; C, capitulum; M, mitochondria; N, nucleus; Pm, plasma membrane. Scale bar=0.5 μm
- Fig. 2(a-c).** Electron micrographs showing longitudinal section of the cauda epididymal sperm head, connecting piece, middle piece and principal piece. Note the bullet-shaped sperm head of the *R. ferrumequinum korai* (2a). The segmented columns of the *R. ferrumequinum korai* were 12 to 14(2b). The axoneme of the middle piece were surrounded by mitochondria. The annulus appeared at the end of mitochondria (2c). A, acrosome; Af, axial filament; An, annulus; Bp, Basal plate; C, capitulum; Fs, fibrous sheath; M, mitochondria; Ms, membranous scroll of neck; N, nucleus; Odf, outer dense fiber; Pc, proximal centriole; Pm, plasma membrane; Pr, posterior ring; Sc, segmented column. Scale bars=1 μm

- Fig. 3(a-f).** Electron micrographs showing cross section of cauda epididymal sperm tail at various levels in the *R. ferrumequinum korai*. The mitochondrial bundles of middle piece were composed of a pair of arms (3a, b). Also note well-developed satellite fibers associated with the inner aspect of fibers 1 to 9 (3a). The outer dense fibers were arranged in a horseshoe fashion, and Nos. 1, 5, 6, and 9 of the outer dense fibers were larger than the others (3b). In the principal piece, the outer dense fibers were surrounded by the fibrous sheath, and the mitochondria did not exist at the principal piece (3c). The outer dense fibers were not observed at the first portion of the end piece (3d), and the mid (3e) and end (3f) of end piece, fibrous sheaths and longitudinal columns disappeared. Fs, fibrous sheath; M, mitochondria; Odf, outer dense fiber; Pm, plasma membrane; Lc, longitudinal column; Sf, satellite fiber. Scale bars=0.1 μ m
- Fig. 4.** Electron micrograph showing sagittal section of the cauda epididymal spermatozoon of the *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. The nucleus was surrounded by the acrosome, and they were separated by the apical body like the *R. ferrumequinum korai*. A, acrosome; Ab, apical body; C, capitulum; M, mitochondria; N, nucleus; Pm, plasma membrane. Scale bar=0.5 μ m
- Fig. 5(a-c).** Electron micrographs showing longitudinal section of the cauda epididymal sperm head, connecting piece, middle piece and principal piece. Note the spatula-shaped the *M. schreibersi fuliginosus* (5a). The head and neck were separated by the basal plate that was adherent to the envelope, and the segmented columns were 10 to 12 (5b). The axoneme of the middle piece were surrounded by mitochondria, and the annulus appeared at the end of mitochondria like in that of the *R. ferrumequinum korai* (5c). A, acrosome; Af, axial filament; An, annulus; Bp, basal plate; C, capitulum; Fs, fibrous sheath; M, mitochondria; Ms, membranous scroll of neck; N, nucleus; Odf, outer dense fiber; Pc, proximal centriole; Pm, plasma membrane; Pr, posterior ring; Sc, segmented column. Scale bars=0.5 μ m
- Fig. 6(a-f).** Electron micrographs showing cross section of cauda epididymal sperm tail at various levels in the *M. schreibersi fuliginosus*. The mitochondrial bundles of middle piece were composed of a pair of arms (6a). The outer dense fibers were arranged in a horseshoe fashion, and Nos. 1, 5, 6, and 9 of the outer dense fibers were larger than the others like in that of the *R. ferrumequinum korai* (6b). In the principal piece, the outer dense fibers were surrounded by the fibrous sheath, and the mitochondria did not exist at the principal piece (6c). The outer dense fibers were not observed in the first portion of the end piece (6d). The fibrous sheaths and longitudinal columns disappeared at the mid (6e) and end (6f) portions of end piece. Fs, fibrous sheath; M, mitochondria; Odf, outer dense fiber; Pm, plasma membrane; Lc, longitudinal column; Sf, satellite fiber. Scale bars=0.1 μ m
- Fig. 7(a-e).** Diagrams showing sperm head, neck and middle piece of the *R. ferrumequinum korai* and the *M. schreibersi fuliginosus*. Note the bullet-shaped sperm head of the *R. ferrumequinum korai* (7a) and spatula-shaped *M. schreibersi fuliginosus* (7c). The segmented columns of the *R. ferrumequinum korai* were 12 to 14 in number (7d), and those of the *M. schreibersi fuliginosus* were 10 to 12 (7e). A pile of the satellite fibers in middle piece of *R. ferrumequinum korai* was associated with the inner aspect of all the fibers, but that of *M. schreibersi fuliginosus* was not (7b). A, acrosome; Ab, apical body; Ax, axoneme; Bp, basal plate; C, capitulum; H, head; M, mitochondria; Ms, membranous scroll of neck; Mp, middle piece; N, nucleus; Ne, neck; Odf, outer dense fiber; Pm, plasma membrane; Pr, posterior ring; Sc, segmented column; Sf, satellite fiber.





