

대륙밭쥐 (*Clethrionomys rufocanus*) 정자의 미세구조 관찰

이 정 훈*

경남대학교 과학교육과

Ultrastructural Observation on the Sperm of the Grey Red-black Vole, *Clethrionomys rufocanus*

Jung-Hun Lee*

Department of Science Education, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea
(Received April 1, 2009; Accepted June 22, 2009)

ABSTRACT

To investigate the morphological characteristics of spermatozoa of the grey red-black vole (*Clethrionomys rufocanus*) belonging to the subfamily Cricetinae, subgenus *Clethrionomys* were examined by scanning and transmission electron microscopes. The sperm head of *C. rufocanus* was an ax or hatchet in shape with a curved single dorsal hook. The total length of *C. regulus* sperm was 95.8 μm . The length of sperm head was 7.8 μm , and the tail (88.0 μm) consisted of four major segments: the neck (1.0 μm), middle piece (22.0 μm), and principal piece plus end piece (65.0 μm), respectively. The segmented columns were about 10~12 in number. The number of gyres of mitochondria ranged from about 170 to 178. The post-nuclear cap occupied about a half of nucleus. The equatorial segment is located between the post-nuclear cap segment and acrosomal cap on the nuclear surface. Nos. 1, 5 and 6 of the outer dense fibers were larger than the others. A fibrous sheath and longitudinal column of the principal piece were in evidence, but the fibrous sheath was not seen at the end piece. In conclusion, the morphological structures of sperm head and tail may be useful information to patterning of sperm evolution and classifying of species.

Keywords : *Clethrionomys rufocanus*, Sperm, Acrosome, Mitochondrial gyres

서 론

동물이 진화의 과정으로 체외수정으로부터 체내수정이라는 수정양식과 수정획득을 얻기 위해서는 정자구조의 획기적인 변화가 필요로 하며, 점성이 높은 체액 중에서 정자가 운동하기 위해서는 적응적인 변화가 요구된다 (Franzén, 1970; Nicander, 1970). 일반적으로 정자 머리는 구형에서 탄환형으로 신장되고, 경부의 후방으로 다수의 미토콘드리아

를 갖는 것으로 진화해 왔으며, 이러한 정자두부의 모양과 꼬리 발달은 암컷의 번식주기와 생식도관내의 적응과도 밀접한 관계가 있음을 의미한다.

포유동물의 정자머리 형성은 성숙기 동안에 극도로 변화되어지며, 이탈기의 마지막 단계에서 완전한 형태를 취하게 되는데 (Lalli & Clermont, 1981), 정자의 성숙은 부정소(정소상체) 두부에서 미부 쪽으로 일어나는 점진적이고도 복잡한 과정을 통해 이루어진다 (Rodríguez & Bustos-Oberegón, 1994). 다양한 생물 종의 정자 형태는 저마다 많은 차이를

본 논문의 2007학년도 경남대학교 학술진흥연구비 지원에 의해 이루어졌음.

* Correspondence should be addressed to Jung-Hun Lee, Department of Science Education, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea. Ph.: (055) 249-2243, Fax: (055) 249-2014, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

보이며, 이러한 차이는 각각의 생물 종이 갖는 생식양식과 매우 밀접한 관계가 있다.

한편, 설치류의 정자 형태에 관한 연구는 Friend (1936)가 광학현미경으로 mouse와 rat의 정자구조를 처음으로 상세히 기술한 이후 전자현미경을 이용한 쥐과(Murine) 설치류(Rodents) 정자의 미세구조에 관한 다수의 연구가 보고되어져 있으나(Nicander, 1970; Yanagimachi & Noda, 1970; Breed & Sarafis, 1979; Breed, 1980; Sarafis et al., 1981; Breed, 1983; Flaherty & Breed, 1983; Flaherty et al., 1983; Breed, 1984; Flaherty, 1987; Flaherty & Breed, 1987; Breed et al., 1988; Yang et al., 1991; Breed, 1995; Breed et al., 2000; Breed, 2004, 2005; Lee & Mōri, 2006), 국내에 서식하고 있는 대륙밭쥐속(genus *Clethrionomys*)의 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus*) 정자의 미세구조에 관한 연구는 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 주사 및 투과전자현미경으로 이들 정자의 미세구조를 통하여 다른 설치류 정자와의 차이점을 알아보고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

대륙밭쥐는 지리산(해발 800~900 m 지점)에서 Sherman 트랩으로 3개체(체중, 30~35 g)를 채집하여 사용하였다. 이들 재료는 채집 즉시 실험실로 운반하여 ethyl ether로 마취시킨 후 각 개체의 부정소 조직을 적출하였다. 주사전자현미경 관찰을 위하여, 먼저 부정소 조직을 적출한 다음 슬라이드 글라스 위에 도말하여 5~10분간 실온에서 방치한 후, 0.1 M Millong's buffer (pH 7.4)로 슬라이드 위의 부유액을 제거시킨 다음 3% glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2시간 정도 전고정 하였다. 전고정이 끝난 후 동일한 완충액(4°C, pH 7.4, Millonig's buffer)으로 10분 간격으로 각각 3회 세척하였다. 세척 후 알코올 농도 상승 순(60, 70, 80, 90, 95, 100%)으로 탈수한 다음 hexamethyldisilazane (HMDS)으로 치환하였다. 치환이 끝난 조직들은 Ion coater에서 Pt로 1분 30초 동안 코팅한 후 주사형 전자현미경(FESEM, S-4200, Hitachi)으로 관찰하였다. 투과전자현미경 관찰을 위하여, 먼저 부정소 조직을 적출한 다음 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2

시간 정도 고정시킨 다음 백막을 제거한 후 부정소 조직을 1~1.5 mm³ 두께로 세절하여 다시 3% glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2시간 정도 고정하였다. 고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액(4°C, pH 7.4, Millonig's buffer)으로 10분 간격으로 각각 3회 세척하였다. 세척이 끝난 조직편들은 1.33% OsO₄ (pH 7.4, Millonig's buffer)으로 2시간 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직은 동일한 완충액으로 다시 10분 간격으로 각각 3회 세척한 다음 알코올 농도 상승 순(60~100%)으로 탈수하였고, 탈수가 끝난 조직은 Epon 812 혼합액으로 포매하였다. 포매가 끝난 조직편들은 ultramicrotome을 사용하여 60~90 nm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 전자염색 후 투과형 전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 75 kV에서 관찰하였다.

결 과

한국산 대륙밭쥐 정자의 형태적 특징들은 다음과 같았다(Tables 1, 2, Figs. 1~3, Text-fig. 1).

1. 정자머리(Sperm head)

정자머리는 마치 도끼모양의 형태를 갖는 낫꼴형(falciform shape)의 형태를 취하고 있었다(Table 1, Fig. 1, Inset, Text-fig. 1). 첨체의 첨단부는 낫시 바늘과 같이 뾰족하며 굽어져 있었다(Fig. 1, Inset, Text-fig. 1, Fig. 3a). 정자 머리의 길이는 약 7.8 μm이었으며, 핵의 길이는 7.4 μm 폭은 4.0 μm, 첨체와 첨체 하 공간의 폭은 0.4 μm이었다(Table 1). apical body의 영역을 덮고 있는 첨체의 끝은 가늘고 긴 예리한 바늘 끝과 같은 구조로 되어져 있었다(Fig. 2a, b). 핵과 첨체사이에 존재하고 있는 apical body 역시 끝이 가늘고 긴 원뿔모양으로 선단부가 돌출되어져 있었다(Fig. 1, Fig. 2c, Text-fig. 1). 핵 후단부 덮개(post-nuclear cap, Pc)는 핵의 1/2을 점유하고 있었으며(Inset in Fig. 1, Fig. 2f (small arrows), Text-fig. 1), 적도절(equatorial segment, Es)은 핵의 중앙부위에 위치하며(Inset in Fig. 1, Fig. 2f, Text-fig. 1), 첨체덮개(acrosomal cap, Ac)는 정자머리의 약 1/4을 덮고 있었다(Inset in Fig. 1, Text-figs. 1). 핵의 형태는 후단부에서

Table 1. Sperm head size and shape, and the tail length of *Clethrionomys rufocanus*

Species	Head (μm)				Tail (μm)					Author
	L	W	Nl	S	Tl	Ncl	Mp	Pp+Ep	NoMg	
<i>Clethrionomys rufocanus</i>	7.8±0.12	4.0	7.4	A/or H	88.0	1.0	22.0±0.14	65	170~178	Present study

A, ax; H, hook; L, length; Mp, middle piece; Ncl, neck length; Nl, nuclear length; NoMg, total number of mitochondrial gyre; Pp+Ep, principal piece plus end piece; S, sperm head shape; Tl, tail length; W, width.

전단부 쪽으로 갈수록 얇은 판구조를 취하고 있었으며 (Figs. 2f-i), 날카롭게 굽은 하나의 dorsal hook를 가지는 반면에 ventral hook는 존재하지 않았다 (Fig. 1, Inset, Fig. 3a).

2. 정자경부 (Sperm neck)

정자 경부(목)의 주요 성분으로는 핵의 아래면과 접하고 있는 기저판(basal plate)을 비롯하여 (Fig. 1, Fig. 3b), 기저판 아래면의 소두(capitulum)와 근위중심체(proximal centriole)와 원위중심체(distal centriole), 이들 중심체들의 외곽에는 9개의 segmented columns, Sc; 분절주(와))가 존재하고 있었으며, 이들 1개의 분절주는 10~12개 정도의 마디(segment)로 구성되어 있다. 특히 기저판은 전자밀도가 높은 물질로 되어 있으며, 각각의 분절주는 9개의 외측치밀 섬유(outer dense fiber)와 각각 결합되어 있었다 (Fig. 1, Fig. 3b).

3. 정자꼬리 (Sperm tail)

정자의 꼬리의 전체 길이는 약 88.0 μm 정도로서, 경부(1.0 μm), 중편부(22.0 μm), 그리고 주편부와 미부(65 μm)로 구성되며 (Table 1), 중편부의 끝은 annulus가 링 구조를 형성하고 있었다 (Fig. 3a). 중편부의 미토콘드리아의 수는 약 174 (170~178)이었다 (Table 1, Fig. 3a). 외측 치밀 섬유는 9개로 구성되어 있으며, Nos. 1, 5, 6의 섬유가 다른 섬유들 (2, 3, 4, 7, 8, 9) 보다도 크다 (Fig. 3d). 섬유초(fibrous sheath, Fs)와 지주(longitudinal column, Lc)는 주편부에는 존재하나 (Fig. 3e), 주편부의 말단영역에서는 섬유초만 관찰되어졌으며 (Fig. 3f) 미부에는 9+2 구조의 미세소관만 존재하고 섬유초와 지주는 존재하지 않았다 (Fig. 3g).

고 찰

대부분의 포유동물에 있어서, 정자머리의 형태는 난형 혹은 주걱형 인데 반해, 설치류에 속하는 종들은 끝이 날카로운 갈고리 모양 혹은 낫꼴 모양의 정자머리를 가지며, 핵을 비롯한 침체하 영역과 침체 물질을 갖는다 (Friend, 1936; Fawcett, 1970; Lalli & Clermont, 1981; Breed, 1983; Flaherty & Breed, 1983; Breed, 1984; Lee & Mōri, 2006). 대개 체내 수정을 행하는 포유동물의 정자들은 이들 요소(핵과 침체하 영역 및 침체물질)들을 공통적으로 가지고 있기는 하나 종에 따라 그 형태와 물질의 조성에 차이를 나타낸다.

오스트레일리아산 *Pseudomys* 속의 정자는 크게 두 가지 유형의 형태적 차이 즉 정자머리가 갈고리를 갖는 형과 가지지 않는 형으로 대별된다. (1) 갈고리를 갖는 형에 속하는 종은 *Pseudomys australis*의 정자를 비롯하여 *P. desertor*, *P. fumeus*, *P. hermannsburgensis*, *P. higginsi* 그리고 *P. nanus*들

로서 이들의 정자머리 모양은 양 측면이 평평하며, 낫꼴형 (falciform type)으로서, 특이하게도 한 개의 dorsal hook와 두 개의 ventral hook의 돌기물을 갖는 공통적인 특징 이외에도 한 개의 ventral spike(혹은 ventral spur)을 가지고 있다 (Breed & Sarafis, 1979; Greed, 1980; Sarafis et al., 1981; Breed, 1983; Flaherty, 1987; Flaherty & Breed, 1987; Breed et al., 2000). *P. apodemoides*와 *P. gracilicaudatus*정자들은 이들 공통적인 특징들 이외에도 ventral spike를 가지고 있지는 않다. 또한 *P. novaehollandiae*의 경우는 ventral spike를 가지고 있지 않은 반면에, 한 개의 긴 dorsal hook만을 가진다 (Breed, 1983). (2) 갈고리를 가지고 있지 않은 형에 속하는 종(*P. pilligaensis*, *P. delicatulus*, *P. shorridgei*) 중에서 *P. pilligaensis*정자는 침체가 정자머리의 약 3/4을 덮고 있는 것이 특징적이며, *P. delicatulus*정자는 서양배 모양(pear-shaped)의 머리를 가지며, *P. shorridgei*정자는 주걱형(spatulate-shaped)의 머리를 갖는 것이 특징적이다 (Breed, 1983). 본 연구 종인 대륙밭쥐 (*Clethrionomys rufocanus*)는 대개의 설치류 중에서 보여주는 바와 같이 낫꼴모양의 정자머리를 취하고 있기는 하나 오히려 전체적인 모양은 도끼모양의 형태로서 (Table 1, Fig. 1, Inset, Text-fig. 1, Fig. 3a), dorsal hook를 가지는 반면에 ventral hook를 가지고 있다는 점에서 차이를 나타내었다 (Fig. 1, Inset, Fig. 3a).

Ventral hook의 발생에 관한 연구는 *Pseudomys australis*의 정자에서 잘 묘사되어 있는데 (Flaherty & Breed, 1987), ventral hook는 정자변태과정의 12~13 단계에서 출현하는데, 12 단계에서 정자두부는 거의 완성되어지나, 침체는 완전하게 응축되지 않고, 침체하 공간에는 약간의 부드러운 물질을 함유한 상태를 존재하며, 13 단계에서는 명확하게 구별되는 변화를 나타낸다. 즉, 핵과 침체기질은 완전하게 응축되고, dorsal hook는 굽어져서 성숙한 정자의 형태에 도달하게 된다. 2개의 ventral hook는 완전하게 신장되고 이때 dorsal hook에는 6 nm 정도의 filament가 나타난다. 이러한 filament의 출현으로 인해 hook가 굽혀지게 된다. 한편, 정자의 ventral hook의 형태형성은 NBD-phalloidin으로 처리 후 관찰한 결과 등쪽(등면)에는 나타나지 않은 반면에 (Flaherty et al., 1983), 배쪽(배면)에서 actin filament가 극대됨을 확인하였다 (Flaherty & Breed, 1987). 그러나 몇몇의 포유동물의 정자세포의 침체하 공간에서 actin filament가 존재하고 있다는 보고가 있기는 하나 대부분의 종에 있어서 부정소의 정자에서는 중합되지 않은 상태의 액틴이 존재하는 것으로 보고된 바 이는 정자변태 동안 필라멘트의 기능이 상실되었거나 정자가 부정소에 도달하기 전에 중합되지 않음을 시사해준다 (Baccetti et al., 1980; Halenda et al., 1984; Flaherty et al., 1986; Vogl et al., 1986). 이 구조물은 hook의 형태형성뿐만 아니라 수정 동안에 ventral hook의 형태 유지에 중요한 역할을 수행하는 것으로 추론하였다

Table 2. Comparison of size and shape of the sperm head, and sperm tail length in Eurasian rodents 22 species, and laboratory 2 species, and Korean rodents 3 species

Species	Sperm head (μm)			Sperm tail (μm)			Total length of the sperm	Authors
	Total sperm head length	Sperm head shape	Ventral spur	Total tail length	Midpiece of tail length	Principal piece and endpiece tail length		
<i>Pseudomys australis</i>	9.0	F (three-hook type)	+ (one)	111.0	23.0	88~93	120~125	(1), (2), (3), (4), (5), (6)
<i>Bandicota bengalensis</i>	11.5	F (apical hook)	-	138.0	43.0	95.0	149.5	(7)
<i>B. indica</i>	5.0	G (non-hook)	-	58.0	15.0	43.0	63.0	(7)
<i>B. savilei</i>	5.0	G (non-hook)	-	50.0	12.0	38.0	55.0	(7)
<i>Leopoldamys sabanus</i>	12.0	F (projecting apical hook)	-	170.0	65.0	105.0	182.0	(7)
<i>Maxomys bartelsii</i>	12.0	F (apical hook)	-	157.0	32.0	125.0	169.0	(7)
<i>M. whitebeadi</i>	12.0	F (apical hook)	-	119	22.0	97.0	131.0	(2), (7)
<i>M. surifer</i>	10.5	F (apical hook)	-	105.0	35.0	70.0	115.5	(7)
<i>Millardia meltada</i>	2.0	F (short hook)	-	‡	‡	‡	‡	(7)
<i>Niviventer cremoriventer</i>	9.0	F (apical hook)	-	110.0	35.0	75.0	119.0	(2), (7)
	9.0			105.0	35.0	70.0	114.0	
<i>N. culturatus</i>	12.0	F (apical hook)	-	157.0	62.0	95.0	169.0	(7)
<i>Tokudaia osimensis</i>	6.0	P (non-apical hook)	-	72.0	15.0	57.0	78.0	(7)
<i>Bunomys chrysocomus</i>	10.0	RH (apical hook)	-	145.0	45.0	100.0	155.0	(7)
<i>B. fratrorum</i>	7.5	F (apical hook)	-	120.0	30.0	90.0	127.5	(7)
<i>Paruromys dominator</i>	11.0	F (apical hook)	-	137.0	32.0	105.0	148.0	(7)
<i>Micromys minutus</i>	5.0	P (non-hook)	-	59.0	12.0	47.0	64.0	(7)
<i>Vandeleuria oleracea</i>	‡	F (rostral hook)	+ (one)	‡	‡	‡	‡	(7)
<i>Apodemus argenteus</i>	7.0	F (apical hook)	+ (one)	115.0	25.0	90.0	122.0	(7)
<i>A. agrarius</i>	10.0	F (apical hook)	+ (one)	120.0	20.0	100.0	130.0	(7)
<i>A. semotus</i>	9.0	F (apical hook)	+ (one)	119.0	22.0	97.0	128.0	(7)
<i>A. speciosus</i>	10.0	F (apical hook)	+ (one)	120.0	25.0	95.0	130.0	(7)
<i>A. agrarius coreae</i>	8.0	FH (apical hook)	+ (two)	125.5	29.5	95.0	133.5	(8)
<i>A. spaciosus peninsulae</i>	7.8	FH (apical hook)	+ (two)	116.3	22.5	93.0	124.1	(8)
Mouse (ddY strain)	7.3	H (apical hook)	+ (two)	124.2	24.5	99.5	131.5	(8)
Rat (Wistar strain)	12.0	F (apical hook)	+ (one)	180.0	64.0	116.2	192.0	(8)
<i>Clethrionomys rufocanus</i>	7.8	A or H (apical hook)	-	88.0	23.0	65.0	95.8	(9)

A, ax; F, falciform; FH, fish hook; G, globular; H, hatchet; P, paddle-shape; RH, rostral hook; +, existence; -, no existence; ‡, no data; (1), Breed & Sarafis (1979); (2), Breed (1980); (3), Sarafis et al., (1981); (4), Flaherty (1987); (5), Flaherty & Breed (1987); (6), Breed et al. (2000); (7), Breed (2004); (8), Lee & Mōri (2006); (9), Present study.

(Flaherty & Breed, 1987).

몇몇의 설치류 정자의 머리 모양에 있어서, *Bandicota indica*와 *B. savilei*는 대개 작은 공 모양의 구형의 형태를, *Tokudaia osimensis*와 *Micromys minutus*정자는 라켓 혹은 노 모양의 형태를, *Bunomys chrysocomus*, *B. fratrorum* 그리고 *Paruromys dominator*의 정자는 각각 부리를 갖는 갈고리 형태를 가지는 것을 제외하고(Breed, 2004)는 대개의 설치류 종들은 갈고리 혹은 낫꼴형의 정자머리를 가지고 있

었다(Table 2).

한편, *Pseudomys* 속의 *Pseudomys australis*, *P. desertor*, *P. fumeus*, *P. hermannsburgensis*, *P. higginsi* 그리고 *P. nanus* (Sarafis et al., 1981; Breed, 1983; Flaherty, 1987; Flaherty & Breed, 1987; Breed et al., 2000)와 *Vandeleuria* 속의 *Vandeleuria oleracea*와 *Apodemus* 속의 *Apodemus argenteus*, *A. agrarius*, *A. semotus*, *A. speciosus* (Breed, 2004) 그리고 rat (Lee & Mōri, 2006)의 정자들은 ventral spur를 한 개만 갖는

것과는 달리 mouse (ddY strain), 등줄쥐와 흰넓적다리 붉은 쥐는 모두 끝이 뾰족하고 굽은 낚시바늘 형 (curved fish hook shape)의 정자머리와 두 개의 ventral spur를 가지고 있다는 점에서 차이를 나타내었다 (Lee & Mōri, 2006). 이처럼 유라시아에 서식하는 *Apodemus* 속에 속하는 정자라 할 지라도 구조적으로 다소 차이를 보이는데 이러한 정자의 형태적인 변화는 암컷의 생식도관내의 적응에 따른 결과라고 여겨지며, 또한 번식생리와 관련이 있으리라 여겨진다. 특히, 인도산 *Millardia melhada*의 경우 apical hook형이긴 하나 정단부가 매우 짧은 반면에, 타이완산 *Apodemus semotus*와 *A. argenteus* (Breed, 2004)는 정자머리의 형태가 한국산 등줄쥐와 흰넓적다리 붉은쥐 (Lee & Mōri, 2006)와 매우 흡사한 구조를 가지고 있었다. 이러한 점으로 미루어 보아 지리적으로 다소 격리된 오스트레일리아 *Apodemus* 속의 종과는 달리 대륙으로 접한 종들이 더 유연관계가 있음을 의미한다.

유라시아산과 아프리카산 설치류의 정자머리는 대개 좌우 상칭으로 편평하며, 가로로 절단했을 때 삼각형의 긴 apical hook를 가진다 (Breed, 2005) 본 연구에서도 가로로 절단했을 때 삼각형의 apical hook를 가지고 있었다.

포유동물의 정자는 두 개의 주요한 부분 즉 머리와 꼬리 부분으로 구성되며, 꼬리는 다시 경부, 중편부, 주편부와 미부의 4 영역으로 세분된다. 오스트레일리아산 *Pseudomys australis*의 정자경부와 꼬리의 주편부와 미부는 실험용 mouse (*Mus musculus*; Fawcett, 1970, 1975)의 정자구조와 매우 유사하며 (Sarafis et al., 1981), 본 연구 중인 대륙밭쥐의 경우는 다소 차이를 나타내었다. 즉, *Bandicota* 속의 *Bandicota indica*, *B. savilei*와 *Micromys* 속의 *Micromys minutus*를 제외하고는 정자가 길이가 다른 설치류 종보다도 매우 짧은 것이 특징적인 요소라고 여겨진다 (Table 2).

본 연구에서, 정자경부를 구성하는 요소로는 전자밀도가 높은 물질로 된 기저판을 비롯하여 10~12개의 띠로 구성된 segmented columns은 1번, 2번 그리고 9번이 결합된 모습을 나타낸 반면에 중편부에서 각각 분리되어져 있었다. segmented columns의 아래 끝에 밀착된 말 밥굽형의 형태를 갖는 9개의 외측섬유들은 *Bandicota* 속의 *Bandicota bengalensis*와 *B. indica*, *Paruromys* 속의 *Paruromys dominator*, *Tokudaia* 속의 *Tokudaia osimensis*, *Apodemus* 속의 *Apodemus agrarius* (Breed, 2004), *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, 그리고 mouse (ddY strain) 등은 (Lee & Mōri, 2006) 모두 유사한 형태를 취하고 있기는 하나, 크기에서 다소 차이를 보인다. 즉, Mouse와 rat (Lee & Mōri, 2006) 그리고 *Rattus arbentiventer* (Breed, 2004)와 비교해 볼 때, rat와 *Rattus arbentiventer*는 중편부의 미토콘드리아의 크기가 다른 설치류의 종과 비교해 볼 때 매우 작다는 점, 외측섬유의 모양과 크기에 있어, 1, 5, 6번의 섬유가 다른 것보다 크

다는 점 그리고 satellite fibers를 함께 가진다는 공통적인 특징을 가지고 있었다. 반면에 *Bandicota bengalensis*, *B. indica*, *Tokudaia osimensis*, *Paruromys dominator*, *Apodemus agrarius* (Breed, 2004), *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae* (Lee & Mōri, 2006), 그리고 대륙밭쥐는 매우 유사한 구조를 가지고 있었다.

외측섬유의 크기에 있어서, 대부분의 설치류를 비롯하여 *Bandicota indica*, *Paruromys dominator*, *Tokudaia osimensis* 그리고 *Apodemus agrarius* (Breed, 2004), *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, 그리고 mouse (Lee & Mōri, 2006)의 경우 1, 5, 6, 9번이 큰 반면에 *Bandicota bengalensis*, *Rattus arbentiventer* (Breed, 2004), Mouse와 rat (Lee & Mōri, 2006) 그리고 본 종에서는 1, 5, 6번의 외측섬유가 다른 것보다 더 크다는 점을 알 수가 있었다.

Satellite fibers의 기원은 외측섬유의 외피가 탈피로 인해 생기며, 이러한 구조물은 굽은 외측 섬유들의 신장력을 증가시키기 위함이다. 이 구조물의 양적인 감퇴는 동물의 진화와 관계가 있음을 설명하고 있는데, 즉 satellite fibers의 양적 차이에서 볼 때, 일본산 큰밭쥐수염 박쥐의 양이 일본산 집박쥐의 양보다 적기 때문에 큰밭쥐수염 박쥐가 더 진화된 생물이라고 설명하였다 (Oh et al., 1985). 그러나 관박쥐의 경우 (Kim et al., 1999) 이러한 구조물을 가지는 반면에, 긴날개 박쥐, 흰배밭쥐수염 박쥐는 이러한 구조물을 가지고 있지 않았다. 또한 한국산 큰밭쥐수염박쥐 (Son et al., 1995)와 마찬가지로 물밭쥐수염 박쥐에서도 이 구조물이 존재하기 때문에 양적인 것만으로 진화를 설명하기 어렵다고 설명하였다 (Son et al., 1997). 그럼에도 불구하고, 설치류 정자들은 정자의 진화에 있어서 몇 가지의 경향을 나타내는데, 즉 핵의 변화는 각 분류군에 따라 차이점을 나타내며, 편모의 비대함을 들 수가 있다. 이러한 두 가지의 경향을 기초로 해서 대개 원시형의 정자는 타원형 또는 원형의 두부와 짧은 편모를 가지는 것으로부터 (Roldan et al., 1991) 점차적으로 핵과 편모를 구성하는 구성요소들이 복잡하게 형태변화(변형과 소실)를 통하여 진화해 왔다. 대부분의 설치류 종에 있어서 정자머리는 apical hook를 가지며, nesomyid, cricetid, gerbilline 설치류들은 부리를 갖는 갈고리형의 정자머리와 첨체물질을 대부분 가지고 있다. 반면에, 극소수의 설치류 종에서는 정자머리의 형태가 고도의 다양성을 보이는데, 일반적으로 apical hook가 없는 것으로 진화해 왔음을 알 수가 있다 (Breed, 2005). 이처럼 정자의 형태와 크기, 그리고 정자의 수적인 차이의 진화는 아마도 암컷 생식도관 내에서의 생리와 정자경쟁에 따른 두 가지의 중요한 선택적인 영향에 의해 이루어진다 (Roldan et al., 1991). 본 연구에서는 Breed (2005)의 견해와 정자의 형태적 특징을 기초로 하여 볼 때, 이미 발표된 한국산 *Apodemus* 2종 (*A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*), Mouse (ddY strain),

Rat (Wistar strain) 그리고 본 연구중인 대륙밭쥐 정자머리와 경부 및 꼬리의 형태적 특징을 통해 정자의 진화과정을 추측해 보면, 이미 보고된 *Apodemus* 2종은 유연관계가 깊은 종(근연종)이며 (Lee & Mōri, 2006), ventral spur의 유무 정도와 미토콘드리아의 크기와 수적인 차이 그리고 정자꼬리의 형태와 길이 등을 종합하여 볼 때, 한국산 등줄쥐 (*A. agrarius coreae*)와 흰넓적다리 붉은쥐 (*A. speciosus peninsulae*) → Mouse (ddY strain) → Rat (Wistar strain) → 대륙밭쥐 (*C. rufocanus*) 순으로 더 진화된 종이라 여겨진다.

이상에서 살펴보았듯이, 정자머리와 꼬리의 형태적인 특징과 구조적인 변화는 정자의 진화 pattern과 종을 분류하는데 유용한 정보를 제공하리라 여겨진다.

참 고 문 헌

- Baccetti B, Bigliardi E, Burrini AG: The morphogenesis of the vertebrate perforatorium. *J Ultrastruct Res* 71 : 272-287, 1980.
- Breed WG: Further observations on spermatozoal morphology and male reproductive tract anatomy of *Pseudomys* and *Notomys* species (Mammalia: Rodentia). *Trans Roy Soc S Aust* 104 : 51-55, 1980.
- Breed WG: Variation in sperm morphology in the Austrian rodent genus, *Pseudomys* (Muridae). *Cell Tissue Res* 229 : 611-625, 1983.
- Breed WG: Sperm head structure in the Hydromyinae (Rodentia: Muridae); a further evolutionary development of the subacrosomal space in mammals. *Gamete Res* 10 : 31-44, 1984.
- Breed WG: Variation in sperm head morphology of murid rodents of Africa: Phylogenetic implications. In: Jamieson BGM, Ausio J, Justine J-L, eds., *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy*. *Mém Mus Natn Hist Nat* 166 : 409-420. 1995.
- Breed WG: The spermatozoon of Eurasian murine rodents: Its morphological diversity and evolution. *J Morphol* 261 : 52-69, 2004.
- Breed WG: Evolution of the spermatozoon in murid rodents. *J Morphol* 265 : 271-290, 2005.
- Breed WG, Cox GA, Leigh CM, Hawkins P: Sperm head structure of a murid rodent from Southern africa: The red veld rat *Aethomys chrysophilus*. *Gamete Res* 19 : 191-202, 1988.
- Breed WG, Idriss D, Oko RJ: Protein composition of ventral processes on the sperm head of Australian Hydromyine rodents. *Biol Reprod* 63 : 629-634, 2000.
- Breed WG, Sarafis V: On the phylogenetic significance of spermatozoal morphology and male reproductive anatomy in Australian rodents. *Trans Roy Soc S Aust* 103 : 127-135, 1979.
- Fawcett DW: A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol Reprod (Suppl 1)* : 90-127, 1970.
- Fawcett DW: The mammalian spermatozoa. *Devl Biol* 44 : 394-436. 1975.
- Friend GF: The sperms of the British Muridae. *Q J Microsc Sci* 78 : 419-443, 1936.
- Flaherty SP: Further ultrastructural observations on the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis* (Rodentia: Muridae). *Anat Rec* 217 : 240-249, 1987.
- Flaherty SP, Breed WG: The sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*: Ultrastructure and effects of chemical treatments. *Gamete Res* 8 : 231-244, 1983.
- Flaherty SP, Breed WG: Formation of the ventral hooks on the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*. *Gamete Res* 17 : 115-129, 1987.
- Flaherty SP, Breed WG, Sarafis V: Localization of actin in the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*. *J Exp Zool* 225 : 497-500, 1983.
- Flaherty SP, Winfrey VP, Olson GE: Localization of actin in mammalian spermatozoa: a comparison of eight species. *Anat Rec* 216 : 504-515, 1986.
- Franzén A: Phylogenetic aspects of the morphology of spermatozoa and spermatogenesis. In: Baccetti B, ed, *Comparative Spermatology*, pp. 29-46. *Accademia Nazionale dei Lincei*, Rome. 1970.
- Friend GF: The sperms of the British Muridae. *Q J Microsc Sci* 78 : 419-443, 1936.
- Halenda RM, Primakoff PM, Myles DG: Evidence for the presence of actin in guinea pig spermatogenic cells and its loss prior to formation of mature sperm. *J Cell Biol* 99 : 394A, 1984.
- Kim SS, Lee JH, Son SW, Choi BJ: Morphological comparison of spermatozoa in the Korean greater Horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) and long-fingered bat (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*). *Korean J Electron Microscopy* 29 : 1-10, 1999. (Korean)
- 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, Mōri T: Ultrastructural observations on the sperm of two *Apodemus* species, *Apodemus agrarius coreae* and *Apodemus speciosus peninsulae*, in Korea. *J Fac Agr Kyushu Univ*, 51 : 125-133, 2006.
- Nicander L: Comparative studies on the fine structure of vertebrate spermatozoa. In: Baccetti B, ed, *Comparative Spermatology*, pp. 47-56. *Accademia Nazionale dei Lincei*, Rome, 1970.
- Oh YK, Mōri T, Uchida TA: Spermiogenesis in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 29 : 203-209, 1985.
- Rodríguez H, Bustos-Oberegón E: Seasonal and epididymal maturation of stallion spermatozoa. *Andrologia* 26 : 161-164, 1994
- Roldan ESR, Vitullo AD, Gomendio M: Sperm shape and size: Evolutionary processes in mammals. In: Baccetti B, ed, "Comparative spermatology 20 years after", *Serono Symposia Publication from Raven Press*, pp. 1001-1010, 1991.

- Sarafis V, Lambert RW, Breed WG: Sperm head morphology of the plains mouse *Pseudomys australis*. J Reprod Fert 61 : 399-401, 1981.
- Son SW, Lee JH, Chon HM: Spermiogenesis in the Korean daubenton's bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*) Dev Reprod 1 : 9-24, 1997. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Shin WJ, Choi BJ: Spermiogenesis in the large-footed bat, *Myotis macrodactylus*. Kor J Electr Microsc 25 : 96-110, 1995. (Korean)
- Vogl AW, Grove BD, Lew GJ: Distribution of actin in Sertoli cell ectoplasmic specializations and associated spermatids in the ground squirrel testis. Ant Rec 21 : 331-341, 1986.
- Yanagimachi R, Noda YD: Fine structure of the hamster sperm head. Am J Anat 128 : 367-388, 1970.
- Yang BG, Jeong HD, Koh HS: Sperm morphology of two species of the Genus *Apodemus* (Rodentia, Mammalia) in Korea, Korean J Zool 34 : 59-63, 1991.

< 국문초록 >

Cricetinae 아과 *Clethrionomys* 아속에 속하는 한국산 대륙밭쥐 (*Clethrionomys rufocanus*)의 정자의 형태적 특징을 알아보기 위하여 주사 및 투과형전자현미경으로 관찰하였다. *C. rufocanus* 정자머리의 모양은 날카롭게 굽은 하나의 dorsal hook를 가지며, 전체적인 머리모양은 마치 도끼모양의 형태를 취하고 있었다. *C. rufocanus* 정자의 전체길이는 95.8 μm 이었으며, 정자머리의 길이는 7.8 μm , 꼬리는 88.0 μm 이었다. 꼬리는 경부(1.0 μm), 중편부(22.0 μm), 주편부와 미부(65.0 μm)로 각각 구성되어 있었다. 분절주(segmented columns)는 약 10~12개의 마디로 이루어져 있었으며, 미토콘드리아의 수는 약 170~178개 정도이었다. 첨체 후 덮개는 핵의 1/2을 점유하고 있었으며, 적도절은 핵 표면의 첨체 후 덮개(post-nuclear cap)와 첨체덮개(acrosomal cap) 사이에 위치하고 있었다. 1, 5, 6번의 외측섬유들은 다른 것보다 더 크며, 섬유초(fibrous sheath)와 종 지주(longitudinal column)은 주편부에서 관찰되어졌으며, 미부에서는 섬유초가 존재하지 않았다. 이상의 결과로 미루어 보아, 정자두부와 꼬리의 형태적인 구조는 정자의 진화 패턴과 종을 분류하는데 유용한 정보를 제공하리라 여겨진다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Transmission and scanning electron micrographs showing the caudal epididymal spermatozoa of *Clethrionomys rufocanus*. The sperm head of *C. rufocanus* has an ax or hatchet shape with a sharply curved single dorsal hook. The apical body (Ab) were covered by acrosomal cap (Ac) (inset in Fig. 1). The basal plate (Bp) is adherent to the envelope, defining the implantation fossa and forming the site of attachment of the flagellum to the sperm head. Small arrows indicates a boundary line between en equatorial segment (Es) and acrosomal cap. Arrowheads are boundary line between the post-nuclear cap (Pc) and en equatorial segment (Inset in Fig. 1). Note the post-nuclear cap possess about a half of nucleus. The equatorial segment is located between the post-nuclear cap segment and acrosomal cap (arrowheads) on the nuclear surface. M, mitochondria; N, nucleus; Pr, posterior ring; Sc, segmented columns. All scale bars=2 μ m.

Fig. 2. (a-i). Sperm heads and midpiece from *C. rufocanus*. The curved dorsal hook roughly triangular in cross-section (2a, 2b), is invariably composed of an acrosome. The parasagittal (2c, 2d, 2e and 2g), longitudinal (2f) and cross-sections (2h, 2i) of acrosome, anterior and posterior region of the nucleus, and anterior region of the middle piece. A, acrosome; Ab, apical body; M, mitochondria; N, nucleus; \blacktriangleleft , acrosomal cap; \leftarrow , post-nuclear cap. All scale bars=0.5 μ m.

Text-fig. 1. Diagrammatic representation, based on scanning and transmission electron microscopy of perpendicular (such as Fig. 1) section of the epididymal spermatozoon in *C. rufocanus*. In Text-fig. 1 sections a-a, b-b, c-c, d-d, e-e, f-f, g-g, h-h, and i-i are shown in Fig. 2a, b, c, d, e, f, g, h and i, respectively. The equatorial segment (Es) is located between the post-nuclear cap (Pc) segment and acrosomal cap (Ac) on the nuclear surface.

Fig. 3. (a-g). Longitudinal (3a and 3b) and cross (3c, 3d, 3e, 3f and 3g) sections of sperm head, neck, middle piece, principal piece and end piece in *C. rufocanus*. The mitochondria are arranged at the sides of axoneme regularly, and mitochondrial gyres were 170~178 (3a). The annulus (arrows) has appeared at the end of mitochondria in midpiece (3a). The basal plate (Bp) was adherent to the nuclear envelope, defining the implantation fossa. The segmented columns (Sc) were surrounded by redundant membranous scroll (Ms), and adjacent outer membrane of the first mitochondria of the middle piece (3b). Several segmented columns (Sc) were fused (Fig. 3c) in the neck region. Nos. 1, 5 and 6 of the outer dense fibers (Of) were larger than the others in the middle piece (3d). The fibrous sheath (Fs), longitudinal column (Lc) and outer dense fibers in the principal piece were seen (3e). The fibrous sheath are observed, but the outer dense fiber not observed in the end of principal piece (3f). The fibrous sheath (Fs) was not seen at the end piece (3g). A, acrosome; Ax, axoneme; C, capitulum; H, sperm head; M, mitochondria; Mp, middle piece; N, nucleus; Nc, neck; Ne, nuclear envelope; Pm, plasma membrane. Pr, posterior ring (Figs. 3a, 3b: Scale bars=5 μ m; Figs. 3c-3g: All scale bars=0.5 μ m).





