한국현미경학회지 제41권 제1호 2011
Korean J. Microscopy 41(1), 31~35(2011)

물윗수염박쥐(*Myotis daubentinii ussuriensis*)의 정자미세구조

김 현 희, 이 정 훈[1,*]
경남대학교 교육대학원, [1]경남대학교 사범대학 과학교육과

Fine Structure of the Sperm in the *Myotis daubentonii ussuriensis*

Hyun-Hee Kim, Jung-Hun Lee[1,*]
Graduate School of Education, Kyungnam University, Gyeongsangnam-do 631-701, Korea
[1]Department of Science Education, Kyungnam University, Gyeongsangnam-do 631-701, Korea
(Received February 27, 2011; Revised March 21, 2011; Accepted March 21, 2011)

ABSTRACT

The fine structures of the sperm morphology in the *Myotis daubentonii ussuriensis* were observed by transmission electron microscope. The results showed that the sperm head revealed bullet shaped, the width was showed a slender more than toward the posterior region to anterior region of nucleus. The sperm head was about 4.5 μm in length, being about 2.0 μm in width. The nuclear length was 4.3 μm, occupied most of the sperm head. The nucleus and acrosome were separated by the apical body. The neck region was composed the basal plate, capitulum and segmented columns. The segmented columns were about 12 to 14 in number and connected with the outer dense fibers of the middle piece. The mitochondria sheath were arranged like the thread of a screw, and the total number of mitochondrial gyres were 57. The satellite fibers were observed irregularly among the outer dense fibers in the middle piece. Except the middle piece they are not observed in the principal and end pieces of the tail. In general, the tail show axoneme composed of a 9+2 microtubular pattern, and microtubules of the end piece were arranged irregularly.

Keywords : *Myotis daubentonii ussuriensis*, Sperm morphology

서 론

포유동물의 정자 형태는 저마다 많은 차이를 보이는데, 그 중 정자두부의 모양이 탄환형(*Myotis macrodactylus*: Lee, 2003; *Rhinolophus ferrumequinum korai*: Kim et al., 1999), 주걱형(*Miniopterus schreibersi fuliginosus*: Kim et al., 1999), 타원형(*Macaca mulatta, M. nemestrina*: Zmboni & Stefanini, 1970), 갈고리형(Golden hamster: Yanagimachi & Noda, 1970; *Niviventer rapit, Niviventer bukit, Maxomys whiteheadi, M. surifer, M. inas, Chiropodomys gliroides, Hapalomys longicaudatus, Bandicota bengalensis, Lenothrix canus*: Breed & Yung, 1986), 낫꼴형(*Rattus exulans, Rattus tiomanicus, Sundamys muelleri, Berylmys bowersii, Leopoldamys sabanus, Leopoldamys edwardsi*: Breed & Yung, 1986) 등 여러 가지 형태적 차이를 보인다. 또한 하등 척추동물의 정자와 고등 척추동물의 정자 형질을 비교해 보면 고등 척추동물 정자의 형질중 일부는 하등 척추동물 정자의 형질을 가지고 있기도 하는데 이는 체내수정, 체외수정을 하는 생물종의 관계와 그들의 유연관계를 이끌어 내는데 중요한 역할을 한다고 사료

이 연구결과물은 2010년도 경남대학교 학술연구장려금 지원에 의한 것임.
* Correspondence should be addressed to Jung-Hun Lee, Department of Science Education, Kyungnam University, 449 Woryeong-dong Masanhappo-gu, Changwon-si, Gyeongsangnam-do, 631-701, Korea. Ph : (055) 249-2243, Fax : (055) 249-2014, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

된다.

한편, 박쥐류 정자의 미세구조는 Fawcett & Ito (1965)에 의해 처음으로 밝혀진 이후로, 대익수아목 1종을 비롯하여 소익수아목의 10종(Mōri, 1995; Kim et al., 1999)에 대한 연구가 보고된 바 있으나, 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*) 정자의 미세구조에 관한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 투과전자현미경을 통하여 물윗수염박쥐 정자의 형태적 특징을 알아보고, 다른 박쥐류와 어떠한 차이점이 있는지 알아보고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료는 경북 영덕지역의 폐광동굴에 서식하는 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*)에 사용하였으며, 이들 박쥐들은 채집 즉시 실험실로 운반한 다음 에테르로 마취하여 부정소의 미부를 적출하였다. 적출된 조직은 3%-glutraldehyde (4°C Millonig's buffer, PH 7.4)로 두 시간 전고정시킨 다음 세절하여 완충액(4°C Millonig's buffer, PH 7.4)으로 10분 간격으로 2～3회 수세하였다. 수세가 끝난 조직편들은 1.33%-O_sO_4 수용액에 두 시간 후고정하였다. 고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충용액으로 2～3회 세척한 다음 알콜 농도 상승 순(65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%)으로 탈수한 뒤 Epon 812 혼합액으로 포매하여 굳혔다. 포매가 끝난 조직들은 utramicrotome (MT-6000; Sorvall, Dupont)을 사용하여 60～90 nm 두께의 초박절편을 만들어 Uranyl acetate 용액과 lead citrate용액으로 이중 염색한 다음 투과전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

결 과

1. 정자 머리

정자머리는(두부)는 핵의 후방부위에서 전방부위 쪽으로 갈수록 폭이 가늘어지며, 전체적인 두부의 모양은 탄환형(bull-shaped)의 형태를 취하고 있었다(Figs. 1, 3). 정자두부의 길이는 4.5㎛이며, 폭은 2.0㎛이다(Fig. 2). 핵은 그 중 4.3㎛로 정자두부의 대부분을 차지하고 있었다(Figs. 2-3). 또한 핵과 첨체는 apical body에 의해 분리되어져 있었다(Fig. 2).

2. 정자 꼬리

정자꼬리는 크게 경부(neck 혹은 connecting piece)를 비롯하여 중편부(middle piece)와 주편부(principal piece) 그리고 미부(end piece)로 구성되며, 정자경부는 기저판(basal plate), capitulum, 분절주(segmented columns) 등으로 구성되어져 있었다(Fig. 4). 그리고 12～14개의 가는 띠로 구성된 각각의 분절주는 중편부의 첫 번째의 외측섬유(outer dense fibers)와 연결되어져 있었다(Fig. 4).

중편부의 미토콘드리아 초(mitochondria sheath)는 나선상으로 배열되어져 있었으며(Fig. 4), 미토콘드리아 수는 57개이었다(Fig. 1). Satellite fibers는 외측섬유들 사이에 불규칙하게 관찰되어져 있었으며(Fig. 5), 중편부를 제외한 다른 부분에서는 관찰되지 않았다(Figs. 6-8).

외측섬유(outer dense fiber)는 환형으로 배열되어져 있었으며(Fig. 5), 축사는 전형적인 9+2구조이었다. 외측섬유는 1, 5, 6, 9번이 다른 것들보다 크게 관찰되었다. 주편부의 기시부에는 외측섬유가 축사를 둘러싸고 있었으나 주편부의 말단부로 갈수록 외측섬유들은 관찰되지 않으며(Fig. 6), 단지 축사들만이 관찰되었다(Fig. 7). 또한. 미부의 말단부의 미세소관(Microtubules)들은 불규칙하게 배열되어져 있었다(Fig. 8).

고 찰

일반적으로 포유동물의 정자 다양성은 정자두부와 꼬리에 근거하며, 그 모양과 크기 그리고 이들 구조물을 구성하는 요소들의 특징들에 의해 많은 차이를 보인다. 정자두부의 중심적 요소인 핵은 긴가락박쥐와 관박쥐의 경우, 핵이 두부에 차지하는 비(점유율)는 각각 정자두부의 1/2, 2/3정도 이었고(Kim et al., 1999), 큰발윗수염박쥐는 1/2 이상을 차지한 반면에(Oh et al., 1985) 본 연구에서는 핵이 정자두부의 대부분을 차지하고 있었다. 정자의 두부 모양에 있어서도 긴날개박쥐(*Miniopterus schreibersi fuliginosus*: Kim et al., 1999)는 주걱형인데 반해 큰발윗수염박쥐(*Miotis macroductylus*: Oh et al., 1985)와 관박쥐(*Rhinolophus ferrumequinum korai*: Kim et al., 1999) 그리고 본 연구종인 물윗수염박쥐(*Myotis daubentonii ussuriensis*) 모두는 탄환형의 정자두부를 가지고 있었다. 이와 같이 속(Genus) Level에서는 두부의 모양과 정자두부의 길이에 대한 상대적인 핵의 점유율 등에서 많은 차이를 나타내었다. 특히 본 연구종인 물윗수염박쥐는 이들 세 종의 정자들과 비교해 볼 때, 긴날개박쥐를 제외하고는 정자두부의 길이가 가장 짧았다.

일반적으로 포유류의 정자두부에서는 첨체가 관찰되며, 이들 첨체는 acromosome cap과 acromosome collar의 두 부분으로 나누어지는데, 이러한 증거는 다양한 종(boar, horse, ram, dog, cat, rabbit, hare, guinea pig)에서 관찰되었다(Nicander & Bane, 1962). 그러나 본 연구에서는 acromosome

cap과 acromosome collar의 영역이 뚜렷하게 구분되어 있지는 않았는데, 이는 SEM을 통해 관찰한다면 정확한 결과를 알 수가 있으리라 여겨진다. 포유류의 정자는 난자와 수정하기 위해서는 첨체내 가수분해 효소가 방출되어 난자의 난막을 분해하는 것으로 잘 알려져 있으며, 이러한 기작은 핵과 첨체사이에 존재하는 apical body에 의해 조절되는 것으로 보고되었다(Fawcett & Ito, 1965; Son et al., 1997). apical body의 존재는 본 연구에서도 이미 보고된 긴가락박쥐와 관박쥐(Kim et al., 1999), 큰발윗수염박쥐(Lee, 2003)의 경우와 동일한 결과를 얻었다.

이와는 대조적으로 경골어류의 한 종(담수열대어의 일종)인 *Pantodon buchholzi*에는 첨체가 존재하지 않는 대신(Van deurs & Lastein, 1972), 정자가 들어갈 수 있도록 난막에 수정돌기가 형성 되었는데(Cho & Reu, 1998), 수정돌기는 포유류동물에 있어 첨체의 역할과 같은 기능을 대신하는 것이라 여겨진다.

한편, capitulum형성은 정자형성과정 중 proximal centriole에 의해 이루어지는데(Zamboni & Stefanini, 1970), 설치류에 경우는 capitulum이 잘 발달되어져 있는 반면에, 영장목에서는 비교적 덜 발달되는 것으로 보고되어 있다(Stefanini & Zamboni, 1967). 또한 정자가 성숙되면서 운동성을 갖게 되는데 있어 capitulum이 연관성이 높은 것으로 알려져 있다(Hamasaki et al., 1994).

한편, 미토콘드리아의 회전수를 비교해 보면 정자 저장형에 속하는 일본산 관박쥐 정자의 경우 미토콘드리아 수가 160개(Oh et al., 1985), 한국산 관박쥐는 154개(Kim et al., 1999), 큰발윗수염박쥐는 117개(Oh et al., 1985), 긴날개박쥐는 76개(Kim et al., 1999) 그리고 본 연구종인 물윗수염박쥐는 57개로서 가장 적은 수치를 보였다. 관박쥐의 미토콘드리아 수는 다른 종에 비해 많은 반면에 외부생식기는 다른 종에 비해 짧은 것으로 보아 정자꼬리의 미토콘드리아와 외부생식기 길이와의 상관성이 있는 것으로 여겨진다. 이처럼 정자두부의 모양뿐 아니라 정자꼬리의 길이와 그 부속기관들의 구조적 역할이 정자 운동에 많은 영향을 미칠 것이라고 여겨지는 바, 탄환형의 정자 두부는 아마도 암컷 생식도관내에서 정자두부에 마찰을 줄여 정자가 빠르게 나아가는데 도움을 줄 것이라 사료된다. 본 연구종인 물윗수염박쥐는 정자저장형에 속하는 종으로서 미토콘드리아의 수는 오히려 지연착상형에 속하는 긴가락박쥐에 더 가까웠다. 이러한 차이는 암・수의 생식 유형에 따른 차이로 여겨지며, 특히 박쥐정자의 외부생식기의 길이와의 정자꼬리의 미토콘드리아의 상관성을 고려해 볼 때, 이는 일본산 관박쥐의 외부생식기의 길이는 물윗수염박쥐를 비롯한 다른 종의 박쥐종보다 훨씬 굵고 짧으며, 미토콘드리아의 수는 많은 반면에 물윗수염박쥐를 비롯한 다른종의 박쥐는 외부생식기의 길이가 가늘고 길며 미톤콘드리아수는 오히려 적다. 이러한 결과는 관박쥐의 경우 외부생식기가 굵고 짧기 때문에 암컷의 질 가까이에 정자들을 사출함으로써 정자의 미토콘드리아 수는 상대적으로 다른 박쥐류의 종보다 더 많아서 정자가 난자로 접근하기까지 더 많은 에너지를 필요로 하기 때문인 것으로 보여진다.

또한, 경골어류의 경우는 포유류에 비해 미토콘드리아수가 적은편인데(Van deurs & Lastein, 1972), 이는 어류와 포유류의 수정방법에 따른 것으로 여겨지며, 체내수정을 하는 포유류는 사출된 정자가 난자와 수정하기 까지 비교적 거리가 먼 반면, 체외수정을 하는 어류는 거리가 가깝기 때문일 것으로 여겨진다.

본 연구에서 중편부의 외측섬유 사이사이에 Satellite fiber가 관찰되었는데(Fig. 5), 이는 큰발윗수염 박쥐, 관박쥐에서도 동일한 결과를 나타내었으며, 일부 땃쥐과(Soricidae)와 두더지과(Talpidae)에서도 Satellite fiber가 관찰되었는데(Mori, 1994), 이와 같이 유연관계가 먼 종에서도 관찰된 반면에 오히려 긴가락박쥐와 검은큰집박쥐에서는 관찰되지 않았다. 이것으로 미루어 보아, Satellite fiber는 종간에는 큰 연관성이 없는 것으로 여겨진다. Satellite fiber의 유무에 따라 진화단계를 설명하기도 하나(Oh et al., 1985) 큰발윗수염박쥐와 본 연구의 물윗수염 박쥐에서는 관찰되는 것으로 보아 이는 윗수염 박쥐속에 속하는 종을 분류하는데 있어 하나의 기준이 될 것으로 여겨진다.

본 연구에서 축사의 구조는 9+2 system이며, 다른 박쥐에서도 동일한 결과를 보임을 알 수가 있었다(Fig. 5).

대부분의 종에 있어 외측섬유는 Nos. 1, 5, 6이 크다(Fawcett & Ito, 1965). 그러나 특이하게도 한국산 관박쥐와 긴가락박쥐 등 일부 박쥐종에서는 Nos. 1, 5, 6뿐만 아니라 No. 9도 크게 관찰된다고 보고된 바 있다(Kim et al., 1999). 물윗수염 박쥐의 경우에서도 관박쥐와 긴가락 박쥐처럼 외측섬유가 Nos. 1. 5. 6. 9이 다른 것보다 더 크다. 이상에서 살펴본 바와 같이 물윗수염박쥐의 정자두부의 모양과 크기 및 꼬리의 길이와 그 구조물의 특징인 요소는 종간의 유연관계와 정자의 진화방향을 모색하는 데 도움을 제공하리라 여겨진다.

참 고 문 헌

Breed WG, Yong HS: Sperm morphology of murid rodents from Malaysia and its possible phylogenetic significance. Am Mus Nat Hist 2856 : 1-12, 1986.

Cho JH, Reu DS: Ultrastructure study on the spermatogenesis of pale chub (*Zacco platypus*). Kor J Electr Micros 28 : 181-191, 1998.

Fawcett DW, Ito S: The fine structure of the bat spermatozoa. Am J Anat 116 : 567-610, 1965.

Hamasaki M, Wakimoto M, Maehara T, Matsco H: Three-dimensional structures of the neck region of the hamster spermatozoa in the caudal Epididymis. Arch Histol Cytol 57 : 59-65, 1994.

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 Electr Micros 29 : 1-10, 1999. (Korean)

Lee JH: Cell differentiation and Ultrastructure of the seminiferous epithelium in *Myotis macrodactylus*. Korean J Electr Micros 33: 25-39, 2003. (Korean)

Mōri T: Comparative sperm structure in bats (Chiroptera): Some taxonomic and adaptive implications. Mém Mus natn Hist nat 166 : 421-429, 1995.

Nicander L, Bane A: Fine structure of boar spermatozoa. Z Zellforsch 57 : 390-405, 1962.

Oh YK, Mōri T, Uchida TA: Spermiogensis in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumquinum nippon*. J Fac Agr Kyushu Univ 29 : 203-209, 1985.

Son SW, Lee JH, Cheon HM: Spermtogenesis in the korean daubenton's bat *Myotis daubentonii ussuriensis*. Dev Reprod 1 : 9-24, 1997. (Korean)

Stefanini M, Zamboni L: Fine structure of the connecting piece of the spermatozoon. Proc. 25th Ann. Meeting Electr. Micro. Soc. Amer. C. J. Arcenaux, ed., Claitor's Book Store, Baton Rouge, pp. 196-197, 1967.

Van deurs B, Lastein U: Ultrastructure of the spermtozoa of the Teleost *Pantodon buchholzi* with particular reference to the midpiece. J Ultrastr Res 42 : 517-533, 1972.

Yanagimachi R, Noda YD: Fine structure of the hamster sperm head. Am J Anat 128 : 367-388, 1970.

Zamboni L, Stefanini M: The fine structure of the neck of mammalian spermatozoa. Anat Rec 169 : 155-172, 1970.

＜국문초록＞

본 연구는 물윗수염박쥐 (*Myotis daubentonii ussuriensisi*)의 정자 미세구조적 특징을 알아보기 위하여 투과전자현미경 (TEM)으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

물윗수염박쥐 정자두부의 길이는 4.5 μm, 폭은 2.0 μm이었으며, 핵은 그 중 4.3 μm로 정자두부의 대부분을 차지하고 있었으며, 핵의 후방부에서 전방부쪽으로 갈수록 폭이 가늘어지며 두부의 전체적인 모양은 탄환형 (bull-shaped)을 취하고 있었다. 또한, 핵과 첨체는 Apical body에 의해 분리되어져 있었다.

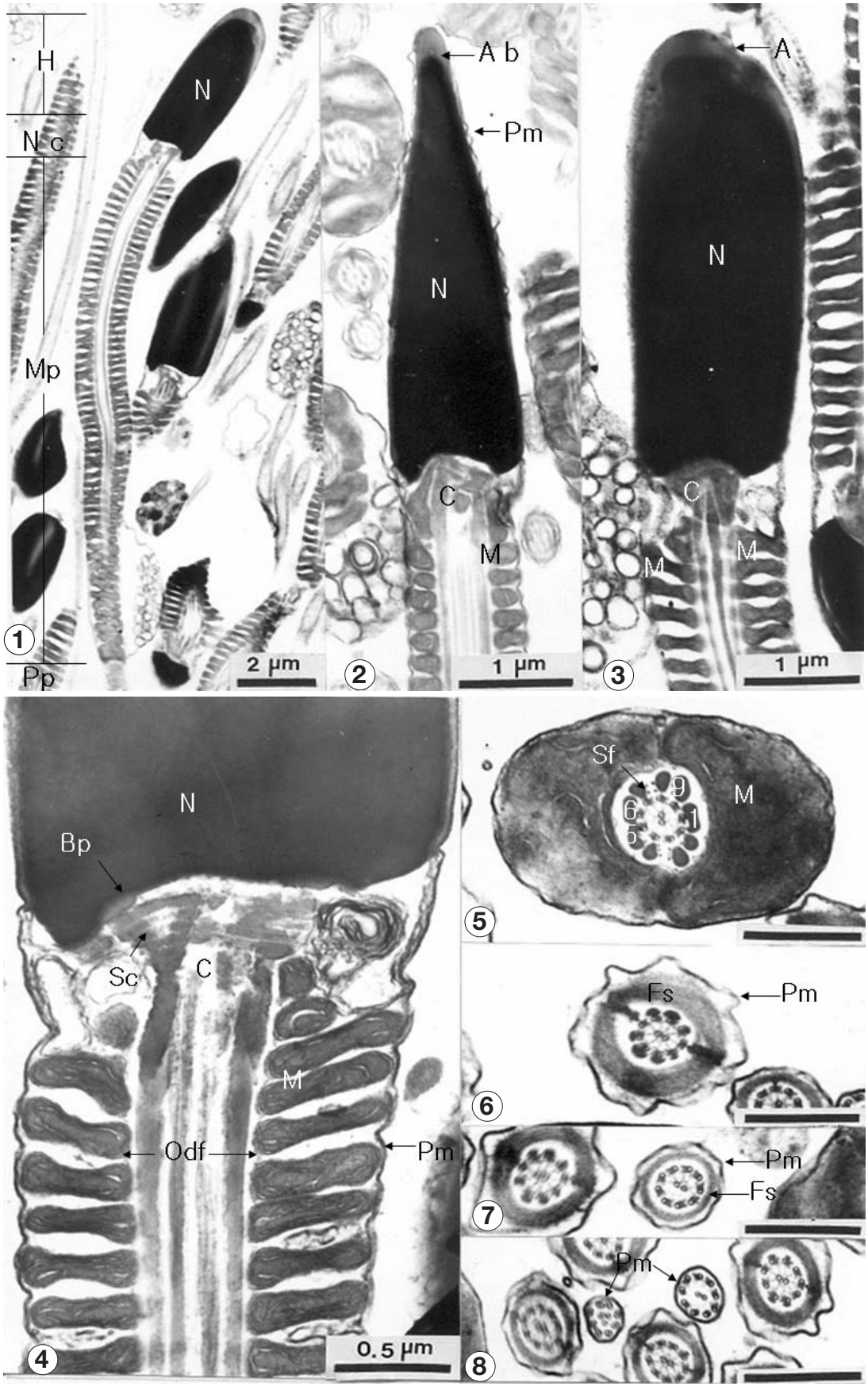
정자경부는 basal plate, capitulum, segmented columns으로 구성되어져 있었다. 12～14개의 가는띠로 구성된 Segmented columns들의 밑부분은 중편부의 외측섬유와 연결되어져 있었다. 중편부의 미토콘드리아 초들은 나선상으로 배열되어져 있었으며, 그 수는 57개이었다. Satellite fibers는 외측섬유들 사이에 불규칙하게 관찰되어 졌으며, 중편부를 제외하고 다른 부분에서는 관찰되지 않았다. 중편부의 외측섬유는 1, 5, 6, 9번이 다른 것보다 크며, 꼬리의 축사구조는 전형적인 9+2구조이었으며, 미부의 미세소관들은 불규칙하게 배열되어져 있었다.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-3. Transmission electron micrographs of the mature spermatozoa in the caudal epididymis of *Myotis daubentonii ussuriensis*. Sperm head had a bullet shaped (Figs. 1, 3). The shape of the sperm head was showed a slender more than toward the posterior region to anterior region of nucleus (Fig. 2). The mitochondrial sheath were arranged like the thread of a screw, and the total number of mitochondrial gyres were 57 (Fig. 1). Fig. 1 and 2 (longitudinal sections); Fig. 2 (parasaggital section). A, acrosome; Ab, apical body; H, head; Mp, middle piece; N, nucleus; Pm, plasma membrane of the sperm head; Pp, principal piece.

Fig. 4. Electron micrograph showing sperm head, neck region and middle piece. The segmented columns (Sc) were about 12 to 14 in number and connected with the outer dense fibers (Odf) of the middle piece. Bp, basal plate; c, capitulum; M, mitochondria; N, nucleus; Pm. plasma membrane.

Figs. 5-8. Transmission electron micrographs of the cross sections at various levels of sperm tail. Cross section of middle piece. Note well-developed satellite fibers (Sf) associated with the inner aspect of outer dense fibers 1 to 9. The outer dense fibers were surrounded by a pair of mitochondria, and Nos 1, 5, 6 and 9 outer dense fibers were larger than the others (Fig. 5). Cross section of principal piece. The satellite fibers was not observed in the principal piece, and fibrous sheath were seen (Fig. 6). Cross section of the tip of the principal piece. Note the fibrous sheath (Fs) are seen, but outer dense fibers was not seen (Fig. 7). Cross section of the .end piece. Note the microtubules (arrows) are arranged irregularly. M, mitochondria; Pm, plasma membrane (Fig. 8).


H
N
N c
Mp
Pp
1
2 μm
A b
Pm
N
C
M
2
1 μm
A
N
C
M
M
3
1 μm
N
Bp
Sc
C
M
Odf
Pm
4
0.5 μm
Sf
9
6
1
5
M
Fs
Pm
6
Pm
Fs
7
Pm
8