

## 韓牛精자의 成熟에 따른 微細構造의 變化

裴 大 植 · 金 鍾 旭  
忠北大學校 農科大學

### Changes in the Ultrastructure of the Spermatozoa Korean Native Cattle During Maturation.

D. S. Bae and J. W. Kim

College of Agriculture, Chung-Buk University

#### Summary

The maturation changes in morphology were studied with the spermatozoa collected from the testis and three successive parts of the epididymis in Korean native Cattle.

Acrosomal granules were observed in the testis. Avoiding the cap and acrosome phases, the tail base and the striated column of the neck were formed in spermatides.

The volume of the acrosome was decreased during transit from the testis to the epididymis. The cell membranes were also separated from the acrosome or damaged during the spermatozoan passage through successive parts of the reproductive tract. Cytoplasmic droplets were observed in the spermatozoa collected from various parts of the reproductive tract.

#### I. 緒 論

精자는 精巢의 曲細精管에서 生成되어, 精巢上體의 頭部·體部·尾部를 거치는 동안에 成熟된다. 이 동안에 精자는 形態學的·化學的·物理學的 變化를 받아 受精能力을 獲得한다.

近來 光學顯微鏡의 解像力의 向上·電子顯微鏡의 發達·組織化學의 發展·物理學的 測定技術의 向上 등으로 精자의 成熟 機轉이 밝혀 지게 되었다.

精자의 成熟過程中的 形態學的變化에 대하여는 주로 토끼를 對象으로 研究가 되었다(Bedford, 1963, 1965; Gaddum과 Glover, 1965; Fulka Koefoed-Johnsen, 1966; Paüfler와 Foote, 1968; Zamboni와 Stefanini, 1968; Zamboni 등 1968; Bedford와 Nicander, 1971). 소의 精자에 있어 Mukherjee와 Bhattacharya (1949)는 물소에 대하여, Branton 과 Salisbury (1947)는

Holstein과 Guernsey種에 대하여, Amann과 Almquist(1961)는 Holstein種에 대하여, Igboeli and Foote (1968)는 Holstein과 Angus種에 대한 精자의 成熟過程을 研究하였다. 한편 韓牛精자의 微細構造에 대하여는 裴大植(1979)의 報告가 있으나 한편, 韓牛 精자의 成熟에 대한 보고는 찾아 볼 수 없다.

이에, 精巢와 精巢上體 各部에서 採取한 精자를 電子顯微鏡으로 觀察하여, 成熟過程中的 形態變化를 밝히고져 本研究를 遂行하였다.

本 研究를 함에있어서, 各種 便宜를 提供하여준, 延世大學校 醫科大學의 李元榮·滕永健 兩教授와, 서울 市廳 農畜課의 李亨榮技士 및 畜產物檢査所 獸醫師 諸位에게 深甚한 謝意를 表한다.

#### II. 材料 및 方法

屠畜場에서 屠殺한 滿3歲의 健康한 韓牛 2頭로 부터

精巢를 摘出하여, 保温器에 넣어 迅速히 實驗室로 옮겨, Kim 등(1978)과 같은 方法으로 精巢·精巢上體의 頭部·體部·尾部의 4個部位를 切斷하여 細切한 다음, 15ml의 Krebs-Henseleit-Ringer 氏液 (Jones, 1971)에 넣어 10分間 放置하여 精子를 浮遊시켰다.

浮遊精子를 遠沈管에 옮겨, 700G로 15分間 遠心分離하여 上層液을 버린 다음, 다시 上記 Ringer 氏液을 넣고 700G로 15分間 遠心分離하여 洗滌 및 濃縮하였다 여기에, 0.2M 磷酸 緩衝液에 3% glutaraldehyde 液을 넣고, pH 7.4로 調整한 固定液을 붓고, 4°C에서 2~4時間 放置하여 精子를 固定하였다.

固定液을 遠心分離하여 除去한 다음, 磷酸緩衝液을 넣어 2回 洗滌하고, 1% osmium tetroxide 로 2時間 동안 再固定하였다. 試料을 다시 洗滌 濃縮한 다음, 2% 寒天을 넣어 精子를 凝集하여, 段階的인 濃度の 알코올로 脫水後, propylene oxide 로 완전히 脫水한 다음, Epon 812에 埋包하였다(Luft, 1961). 이것을 Sorvall MT 2B型 ultramicrotome 으로 유리칼에 의하여 試料의 超薄切片을 만들어, 飽和 uranyl acetate 와 lead citrate 로 染色하여 (Reynolds, 1953), Hitachi HU-11E型 電子顯微鏡으로 觀察하여 精巢 및 精巢上體內各部位別 精子의 形態를 比較하였다.

### III. 結果 및 考察

精巢에서는 精子形成 즉, 精母細胞發生과 精子完成이 일어나고, 精巢上體에서는 精子가 成熟됨으로(McDonald, 1939), 精子의 形態學的인 變化는 精巢에서 顯著하게 나타나고, 精巢上體에서는 극히 적은 變化만 일어 난다.

本 試驗에 있어서도, 精巢에서 採取한 精子에서는, 精子完成 初期의 여러가지 形態와 完成段階의 精子가 觀察되었으나, 精巢上體의 三個部位에서 採取한 精子 사이에는 큰 形態學的 差異를 찾기 어려웠다.

#### 1. 頭部

精巢에서는, 精子完成의 各단계가 觀察되었다. 즉, 尖體顆粒이 생기는 것이 보였고(그림 1, 2), 精子完成의 마지막 단계에 들어선 精子도 觀察되었다(그림 3, 4).

精子完成 단계는 골지期·頭帽形成期·尖體形成期·成熟期로 나눌 수 있는데(Steinberger and Steinberger, 1975), 本 試驗에서도 골지期(그림 1)와 頭帽形成期(그림 2)에서 尖體顆粒이 觀察되었으며, 尖體形成期の 마지막단계(그림 3)와 成熟期에 이른것(그림 4)도 觀察되었다.

精巢에서 採取한 精子는(그림 4) 精巢上體體部에서 採取한 精子(그림 5)에 비하여, 精子의 先端部에 있는

尖體의 量이 많고, 核이나 尖體等이 全般的으로 緊密하지 않은 감을 나타내었다. 이와 같이 尖體의 크기에 있어 精子가 精巢를 떠나 精巢上體를 거치는 동안에 적어지는 것은, Fawcett와 Hollenberg(1963)가 모트에서, Bedford (1963, 1965)가 토끼에서, Fawcett와 Phillips (1969)가 哺乳動物에서 報告한 바와 같다. Jones (1971)도 돼지 精子에 있어 精巢上體에서 尖體의 크기가 감소하는 것을 觀察하고, 尖體의 모양에 따라 精子의 成熟程度를 判定하였다. 이런 現象은 精巢上體의 水分吸收能(McDonald, 1969) 때문으로 생각되며, Lindahl와 Kihlström (1952), Lindahl와 Thunqvist (1965)와 Lavon 등 (1966)은, 精巢上體에서 精子가 成熟함에 따라 精子의 比重이 增加된다는 것을 報告한바 있다.

精巢에서 採取한 精子(그림 4)는, 精巢上體體部の 精子(그림 5, 6, 7)에 비하여, 尖體에 細胞膜이 密着되어 있었다. 精巢上體 精子의 細胞膜은 精巢上體 各部位를 通過하는 사이에 尖體로부터 遊離되거나(그림 6) 破壞되었다(그림 7). 한편, Hadek (1963)와 Bedford(1964)는 토끼에서, Zamboni와 Stefanini (1968)와 Zamboni 등(1968)은 토끼와 마우스에서, Jones (1971)는 돼지에서 이와 같은 事實을 觀察하였으나, 이런 細胞膜이 尖體로부터 遊離하는 것은 固定方法의 差에문이지 本質的인 것은 아니라고 結論하였다. 그러나, 本 實驗에 있어서는 實驗 全過程을 통하여 同一한 固定液을 썼는데도, 이런 結果를 얻은 것으로 보아, 成熟過程中的 細胞膜의 遊離는 固定液의 差에 의한 것이 아니라 本質的인것으로 생각된다. 이런 事實은 Kim 등 (1978)이 밍크에서도 觀察한바 있다.

#### 2. 頸部

精巢에서 採取한 試料에서는 尾部的 基礎가 形成되는 것과(그림 8), 橫紋이 있는 髓柱가 觀察되었다(그림 9). 精子完成은, 골지期·頭帽形成期·尖體形成期·成熟期の 順으로 이루어진다고 Steinberger와 Steinberger (1975)가 쥐의 경우에 報告한바 있으나, 本 實驗에서는 하나의 精子細胞內에서 尖體形成은 觀察되지 않은 채, 尾部的 基礎와 頸部的 髓柱가 觀察된 것으로 보아 精子完成段階는, 一般的으로는 尖體가 形成되고 尾部가 생기나, 경우에 따라서는 變則的으로 尾部가 먼저 형성되는 것이 아닌가 여겨진다. 이것은 또한 원숭이와 사람(Steinberger와 Steinberger, 1975)의 경우나, 소(Kramer, 1960)에 있어서의 一般的인 단계와도 다르다. 한편, 本 實驗에 있어, 頭部가 없는 尾部만 있는 畸形精子를 觀察하였거나, 頭部の 切片이 收容되지 않은 精子細胞의 一部分을 觀察하였을 가능성도 있다.

精巢上體尾部에서 採取된 精子의 頸部에서는 約30개

의 橫紋이 있는 髓柱(그림 10)와 基本中心粒(그림 11)이 觀察되었다. 精巢上體 頭部の 精子的 頸部에서는 細胞質滴이 觀察되었다. 韓牛에 있어서는 本試驗에서는 髓柱가 있는 橫紋數는 다른 哺乳動物이나, 다른 品種의 소보다 많았으며, 成熟한 精子에서도 基本中心粒이 있었다(張翼 金, 1979).

### 3. 尾部

電子顯微鏡으로 觀察한 超薄切片속에 들어가는 精子는, 觀察者가 追蹤하는 데로 配置할 수 있는 것이 아니고, 전혀 偶然히 收容되므로 특히 精子 尾部的 全長에 걸친 縱斷面을 얻기는 매우 어렵다. 따라서, 精子가 精巢에서 나와 精巢上體 各部位를 通過하는 사이에 일어나는, 尾部的 微細構造의 變化를 찾아 내기는 어렵다. 다만, 細胞質滴이 精子的 頸部에서 中片部末端으로 移動하는 것이 觀察되었다.

細胞質滴은, 精巢上體 頭部에서 採取된 精子的 頸部(그림 12)에 있었고, 精巢上體 體部 精子的 頸部(그림 5)와, 精巢上體 尾部 精子的 絲粒體軸 末端에도 있었다(그림 13)

精子가 精巢에서 生成되어, 精巢上體를 거치는 동안에 일어나는 各樣한 形態學的變化는 細胞質滴의 移動이다(Branton과 Salisbury, 1947; Rao와 Hart, 1948; Mukherjee와 Bhattacharya, 1949; Amann과 Almquist, 1962b). Branton과 Salisbury(1947)는 소(Holstein과 Guernsey種)에 있어서, 細胞質滴은 精子가 精巢上體體部에서 尾부로 移動하는 사이에 顯著하게 감소한다고 보고하였다.

한편, Amann과 Almquist(1952)는 Holstein種 소에서, Elwishy(1973)는 나귀와 말에서, Bedford(1965)·Orgebin-Crist(1957)·Pauller and Foote(1968)는 토끼에서, 精子가 精巢上體 頭部로부터 體부로 移動하는 동안에 細胞質滴이 없어진다고 하였다. Nicander(1957)도 말·양·소의 精子의 頸부에 있는 細胞質滴은 精巢上體 頭部에서 떨어져 나간다고 하였다.

그러나, 本試驗에 있어 細胞質滴이 精巢上體 各部位에서 採取한 精子에서 觀察되어, 一定한 傾向을 나타내지 않은 것은 多數의 精子를 觀察하여 이를 統計處理하지 않은 때문으로 생각된다. Jones(1971)는, 精子의 成熟過程에 따라 精巢上體의 어느部位에 局限되어 있는 것이 아니라, 精巢上體內에서도 成熟段階가 다른 것이 어느 程度 混合된다고 하였다.

細胞質滴 자체는 골지體의 殘餘物이 들어 있으며(Gresson과 Zlotnik, 1945), 細胞質滴은 精子의 中片部에만 있는 것으로 보아 Mukherjee와 Bhattacharya(1949)는, 이것이 中片部에 대한 營養成分일 것이라고 推論하였다. 細胞質滴의 存在는 精子의 運動성과는 直

接的인 關係는 없지만(Bedford, 1957), 精子의 成熟程度를 나타내는 一種의 尺度로 쓰인다(McDonald, 1969).

## IV. 要 約

韓牛 精子의 成熟過程中的 微細構造의 變化를 究明하기 위하여, 滿2歲의 韓牛 2頭의 精巢·精巢上體 頭部·體部·尾部에서 採取한 精子를 電子顯微鏡으로 觀察한 結果는 다음과 같다.

精巢에서는 尖體顆粒의 形成이 觀察되었다. 또한 尖體形成이 보이지 않은 채, 尾部的 基礎 및 頸部の 髓柱가 形成되는 것이 觀察되었다.

精子가 精巢에서 形成되어 精巢上體의 各部位를 通過하는 사이에, 尖體의 量이 減少하고, 細胞膜이 遊離 또는 破壞되었다.

細胞質滴은 精巢나 精巢上體 各部位에서 採取한 精子에서 發見되었다.

## V. Literature Cited

1. Amann, R.P. and J.O. Almquist. 1962. Reproductive capacity of dairy bulls. VII. Morphology of epididymal sperm. J. Dairy Sci., 45: 1516~1526.
2. Bedford, J.M. 1953. Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis. J. Reprod. Fert., 5: 169~177.
3. Bedford, J.M. 1964. Changes in the fine structure of the rabbit sperm head during passage through the epididymis. Proc. V. Int. Congr. Anim. Reprod. Trento., 3: 397~402.
4. Bedford, J.M. 1965. Changes in fine structure of the rabbit sperm head during passage through the epididymis. J. Anat., 99: 891~901.
5. Bedford, J.M. 1967. Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa from different regions of the rabbit epididymis. J. Exp. Zool., 166: 271~282.
6. Bedford, J.M. and L. Nicander. 1971. Ultrastructural changes in the acrosome and sperm membranes during maturation of spermatozoa in the testis and epididymis of the rabbit and monkey. J. Anat., 108: 527~543.
7. Branton, C. and G.W. Salisbury. 1947. Morphology of spermatozoa from different levels of the reproductive tract of the bull. J. Anim.

- Sci., 6 : 151~160.
8. ElWishy, A.B. 1975. Morphology of epididymal spermatozoa in the ass (*Equus asinus*) and stallion (*Equus caballus*). *Z. Tierzüchtg. Züchtungsbiol.*, 92 : 67~72.
  9. Fawcett, D.W. and R.O. Hollienbergl. 1953. Changes in the acrosome of guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 60 : 276~292.
  10. Fawcett, D.W. and D.M. Phillips. 1939. The fine structure and development of the neck region of the mammalian spermatozoon. *Anat. Rec.*, 165 : 153~184.
  11. Fulka, J. and H.H. Koefoed-Johnsen. 1936. The influence of epididymal passage in rabbits on different spermatozoon characteristics including fertilizing capacity. *Ann. Rept. R. Vet. Agric. Coll. Steril. Inst. (Copenhagen)*, 213~225.
  12. Gaddum, P. and T.D. Glover. 1965. Some reactions of rabbit spermatozoa to ligation of the epididymis. *J. Reprod. Fert.*, 9 : 119~130.
  13. Gresson, A.R. and I. Zlotnik. 1945. A comparative study of the cytoplasmic components of the male germ-cells of certain mammals. *Proc. R. Soc. Edinb. B.*, 62 : 137~170.
  14. Hadek, R. 1933. Study on the fine structure of rabbit sperm head. *J. Ultrastruct. Res.*, 9 : 110~122.
  15. Igboeli, G. and R.H. Foote. 1968. Maturation changes in bull epididymal spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, 51 : 1703~1705.
  16. Jones, R.C. 1971. Studies of the structure of the head of boar spermatozoa from the epididymis. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 13 : 51~64.
  17. Kim, J.W., M.S. Ahmad and W.D. Kitts. 1978. Ultrastructural changes of mink (*Mustela vison*) spermatozoa during maturation. *Korean J. Anim. Sci.*, 20 : 463~484.
  18. Kramer, M.F. 1950. Spermatogenesis bij de stier. *Dz. Diergeneesk. Rijksuniversiteit te Utrecht*, p.183.
  19. Lavon, U., R. Volcani, D. Amir and D. Danon. 1966. The specific gravity of bull spermatozoa from different parts of the reproductive tract. *J. Reprod. Fert.*, 12 : 597~599.
  20. Lindahl, P.E. and J.E. Kihlström. 1952. Alterations in specific gravity during the ripening of bull spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, 35 : 393~402.
  21. Lindahl, P.E. and L.O. Thunqvist. 1955. Specific gravity of epididymal and ejaculated bull spermatozoa and of their parts. *Experientia*, 21 : 94~95.
  22. Luft, J.H. 1951. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Cell Biol.*, 9 : 409~414.
  23. McDonald, L.E. 1959. *Veterinary endocrinology and reproduction*. Lea & Febiger, Philadelphia.
  24. Mukherjee, D.P. and P. Bhattacharya. 1949. Study of spermatozoa from different levels of the malereproductive tracts of the sheep, goat and buffalo. *Proc. Zool. Soc. Bengal.*, 2 : 149~161.
  25. Nicander, L. 1957. Studies on the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymides in stallions, rams and dults. *Acta Morph. Neerl. Scand.*, 1 : 337~362.
  26. Orgebin-Crist, M.C. 1957. Maturation of spermatozoa in the rabbit epididymis. Fertilizing ability and embryonic mortality in does inseminated with epididymal spermatozoa. *Ann. Bioll. Anim. Biochim. Biophys.*, 7 : 373~389.
  27. Paüfler, S.K. and R.H. Foote. 1968. Morphology, motility and fertility of spermatozoa recovered from different areas of the ligated rabbit epididymides. *J. Reprod. Fert.*, 17 : 125~137.
  28. Rao, C.K. and G.H. Hart. 1948. Morphology of bovine spermatozoa. *Am. J. Ver. Res.*, 9 : 117~124.
  29. Reynolds, E.S. 1933. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17 : 208~212.
  30. Steinberger, E. and A. Steinberger. 1975. Spermatogenic function of the testis. pp. 1~9 in R.O. Greep and E.B. Astwood (eds.), *Handbook of physiology*, Sect. 7 : Vol. V. Am. Physiol. Soc. Washington.
  31. Zamboni, L. and M. Stefanini. 1958. On the configuration of the plasma membrane of the mature spermatozoon. *Fertil. Steril.*, 19 : 570~

32. Zamboni, L., M. Stefanini and T. Hando. 1968. Fine structure of mammalian sperm in the epididymis and semen. pp. 229~232 in 6th Int. Congr. Anim. Reprod. AI. Paris.
33. 裴大植, 金鍾旭, 1979. 韓牛精子的微細構造에 관한 研究, 韓畜會誌 41 投稿中.

### The Explanation of Figures

- Fig. 1. The spermatid of the testis in Golgi phase showing an acrosomic granule (AG) and the fine granular chromatin (GC). 24,000X.
- Fig. 2. The spermatid in cap phase showing a football-shaped acrosomic granule (AG), the base of the acrosome (BA), and the base of the manchette (MA). Many granular chromatins (GC) have been condensed in the nucleus. 24,000X.
- Fig. 3. The spermatid in the acrosome phase showing many densed granules (DG). 32,000X.
- Fig. 4. The spermatid in maturation phase showing the elongated nucleus (N) composed of a condensed homogenous electron dense material. The acrosome (AC) is enlarged in the apical part of the nucleus (N). The cell membrane (CM) apposes to the acrosome and the nuclear ring (NR) is clearly visible. 32,000X.
- Fig. 5. The sagittal section of the corpus spermatozoan head showing the condensed acrosome

(AC). The space between the nucleus (N) and the acrosome is narrow, and the cell membrane (CM) is separated from the acrosome. However, the cell membrane is adhered to the postacrosomal sheath (PS). A cytoplasmic droplet (CD) is seen at the tail of the spermatozoa. 36,000X.

Fig. 6. The corpus spermatozoan head showing the separated and partly damaged cell membrane (CM). 18,000X.

Fig. 7. The damane (CM) is seen in a corpus spermatozoan. 18,000X.

Fig. 8. The formation of a tail base (TB) is seen in a spermatid of the testis. No acrosomic granule or the base of a spermatozoan head is appeared in this cell. 24,000X.

Fig. 9. A striated column (SC) of the neck is forming in a spermatid of the testis. 32,000X.

Fig. 10. The lateral section of the neck region of the cauda spermatozoa showing the capitulum (C) and the striated columns (SC). There are many stria in the column. 48,000X.

Fig. 11. The sagittal section of the neck of the cauda spermatozoa showing a proximal centriole (PC). 48,000X.

Fig. 12. The caput spermatozoa showing a cytoplasmic droplet (CD). 24,000X.

Fig. 13. The sagittal section of the head and the neck of the cauda spermatozoa showing a cytoplasmic droplet (CD). 12,800X.





