

한국산 땃쥐류 3종의 정자형성 및 이들의 계통 유연관계에 대한 소고찰

정순정 · 윤명희*

경성대학교 자연과학부

Spermatogenesis in three Korean shrews and notes on their phylogenetic significance

Soon-Jeong Jeong and Myung-Hee Yoon*

Division of Natural Sciences, College of Sciences, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

The cycle of the seminiferous epithelium and spermiogenesis in three species of the genus *Crocidura*, the lesser white-toothed shrew, *C. suaveolens*, the Japanese white-toothed shrew, *C. dsinezumi* and the big (=Ussuri) white-toothed shrew *C. lasiura*, in the breeding season were studied with the light and electron microscopes.

The three species examined are distinguished from each other in the morphology of the seminiferous epithelium and the spermiogenesis, suggesting that these morphological characteristics are useful for the identification of the species. *C. dsinezumi* and *C. lasiura*, however, share many characteristics which are not common in *C. suaveolens*, as follows: In both species, 1) the cycle of the seminiferous epithelium is composed of 10 stages against 11 stages in *C. suaveolens*; 2) the earliest intermediate type spermatogonia is observed at stage I against stage III in *C. suaveolens*; 3) the spermatids of step 5 is observed during the stages V~VI against stages V~VII in *C. suaveolens*; 4) the acrosomal extension occurs during the stages VIII~X against stages IX~XI in *C. suaveolens*; 5) the condensation of the nucleus occurs simultaneously whereas it begins from the middle and along the nuclear membrane in *C. suaveolens*; 6) the capitular length in acrosome phase is shorter (about $\frac{2}{3}$ of the diameter of the proximal centriole) than in *C. suaveolens* (longer than the diameter of the proximal centriole); 7) The length of the post nuclear cap is shorter (less than a half of the nucleus) than in *C. suaveolens* (about a half of the nucleus). Judging from the similarities in the spermatogenesis in *C. dsinezumi* and *C. lasiura*, the relationship between them seems to be close compared to those with *C. suaveolens*.

Key words – Spermatogenesis, spermiogenesis, *Crocidura suaveolens*, *C. dsinezumi*, *C. lasiura*

서론

땃쥐류(Soricidae)는 이빨 첨단부의 색, 이개의 길이, 꼬리

기부의 굵기 및 털 발생의 차이에 따라 보수적인 땃쥐아과(Soricinae)와 보다 특수화된 땃쥐아과(Crocidurinae)로 나뉘며[7], 한국에는 땃쥐아과의 2종과 땃쥐아과의 3종이 서식하는 것으로 알려져 있다[16]. 이 중 땃쥐아과의 3종은 외·내부의 형태적 형질에 따라 작은땃쥐(*Crocidura suaveolens*), 제주땃쥐(*C. dsinezumi*) 및 우수리땃쥐(*C. lasiura*)로 구분되

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : (051) 620-4642, Fax : (051) 620-4642

E-mail : yhyun@star.kyungsoong.ac.kr

며[15,30,31], 이들 3종에 대한 계통유연관계는 Han[13]에 의하여 수리분류학과 분자계통학적 측면에서 연구된 바 있다. 그는 외·내부 축정치의 계측학적 및 비계측학적 분석 결과로부터 우수리땃쥐와 제주땃쥐와의 유연관계는 작은땃쥐와의 유연관계보다 크다고 밝히고, mtDNA Cyt b의 염기배열의 비교로부터 작은땃쥐는 나머지 2종과 확실히 구분된다고 보고하고 있다.

한편, 포유류의 계통유연관계를 논하는 하나의 판정기준으로서 생식세포와 태아기관에 대한 형태를 들 수 있으며 이들 형질은 다른 세포나 기관에 비해 보수성이 강하고 외부환경으로부터의 영향을 받기 어렵다고 알려져 있다[3,21, 23,24,29]. 특히 세정관 내에서 관찰되는 정자의 형성과정은 종에 따라 특징적인 변화를 보이므로[1,3,20,24], Schuler와 Gier[28]는 세정관상피의 조직학적 연구를 통해서 prairie vole(*Microtus ochrogaster ochrogaster*) 및 이와 관련된 다른 종 간의 유연관계를 밝혔고, Franca 등[8]은 염소와 양 간의 유연관계를 밝힌 바 있다. 한편, 땃쥐류에 대해서는 정자형성과정의 미세구조에 대한 형태적 연구는 있으나[2,17,25], 계통유연관계의 규명을 시도한 연구는 매우 드물며, Kurohmaru 등[18]에 의해서 세정관상피의 미세구조와 lectin의 조직화학적 연구방법을 통하여 tree shrew(*Tupaia glis*)와 musk shrew(*Suncus murinus*) 사이의 유연관계를 밝힌 연구가 있을 뿐이다.

본 연구에서는 작은땃쥐, 제주땃쥐 그리고 우수리땃쥐의 세정관상피주기와 정자변태과정의 미세구조적 변화를 LM과 EM으로 조사하여 응생생식 pattern을 밝히고 이를 근거로 작은땃쥐, 제주땃쥐 및 우수리땃쥐 사이의 유연관계를 고찰하고자 한다.

재료 및 방법

일반적으로 온대지방에 서식하는 땃쥐류의 번식기는 2월에서 10월까지로 알려져 있으므로[5,11], 이 기간 중에 땃쥐류를 채집하였다. 즉 작은땃쥐 수컷 성체 3마리를 지리산에서 1999년 10월과 2000년 3월에, 우수리땃쥐 수컷 성체 7마리를 지리산 일대에서 1999년 6월, 10월 그리고 2000년 3월에 Sherman live trap을 이용하여 각각 생포하였다. 제주땃쥐 수컷 성체 3마리는 제주대학교 오홍식교수의 호의로 제주시 봉개동에서 1999년에 7월에 포획되었으며, 포획직

후 적출된 정소는 Millonig's phosphate buffer로 만든 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde의 혼합고정액(pH 7.4)에 각각 고정되어 경성대학교 실험실에 운송되었다.

포획된 땃쥐류를 실험직전 마취시켜 도살하였고, 각 개체별로 오른쪽 정소를 적출하여 1×1×1 mm 크기로 세절한 후, Millonig's phosphate buffer로 만든 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde의 혼합 고정액(pH 7.4)에서 약 24시간 고정하였고, 같은 buffer로 수세한 후 1.3% OsO₄로 후고정하고, 알콜 탈수와 아세톤 치환을 거쳐 Epon 812 혼합액으로 포매하여 중합하였다. 포매된 조직을 1μm로 자른 후 toluidine blue로 염색하고 생식세포의 발생단계의 구분은 Cavicchia와 Dym[4], Clemons와 Bustos-obregon[6], Gondos와 Zemjanis[10] 및 Abe 등[1]의 방법에 따랐다. 세정관상피주기를 결정하기 위하여, 각 개체의 정소 당 약 100개의 세정관 횡단상을 광학현미경으로 관찰하여 세정관상피주기의 stage 별 상대출현빈도를 산출하였다. 또한 정자변태과정의 미세구조를 관찰하기 위하여 포매된 조직을 60~90nm의 두께로 자른 후 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경(TEM, JEOL 100S)으로 관찰하였다.

결 과

세정관 상피주기

실험에 이용한 작은땃쥐, 제주땃쥐 및 우수리땃쥐에 대한 세정관 상피주기의 결정은 Abe 등[1], Adachi 등[2], Kurohmaru 등[17,18], Maeda 등[19]의 방법을 따랐으며, 선체의 형태, 핵의 모양, 핵의 크기, 핵의 염색 특성, 염색질의 상태, 감수분열상의 출현 그리고 정세포의 위치 등을 기준으로 하였다.

1) 작은땃쥐(*Crocidura suaveolens*)

세정관 상피주기는 11(I~XI) stage로 나뉘었고, 각 stage별 광학현미경상을 Fig. 1에 제시하였다. 각 stage별 상대출현빈도는 9.3, 6.2, 3.1, 14.4, 9.3, 14.4, 6.2, 9.3, 10.3, 13.4 및 4.1이었다(Table 1). 정자변태과정(spermiogenesis)은 Adachi 등[2], Kurohmaru 등[17,18]의 방법에 의해 다시 13 step으로 세분되었고, 각 step에 대해서는 후술하는 '정자변태과정의 전자현미경상'에서 상세히 기술하고자 한다.

Table 1. Diagrams of the cycle of seminiferous epithelium in three shrews examined

C. suaveolens

Stage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Relative frequency(%)	9.3	6.2	3.1	14.4	9.3	14.4	6.2	9.3	10.3	13.4	4.1
	10	11	12	13	13						
	1	2	3	4	5	5	5	6	7	8	9
	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	M
	A	A	In	In	In	B	L	L	L	Z	P
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

C. dsinezumi

Stage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Relative frequency(%)	9.0	6.0	3.0	20.0	20.0	4.0	6.0	13.0	13.0	6.0
	10	11	12	13	13					
	1	2	3	4	5	5	6	7	8	9
	P	P	P	P	P	P	P	P	P	M
	In	In	B	B	B	L	L	L	Z	P
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

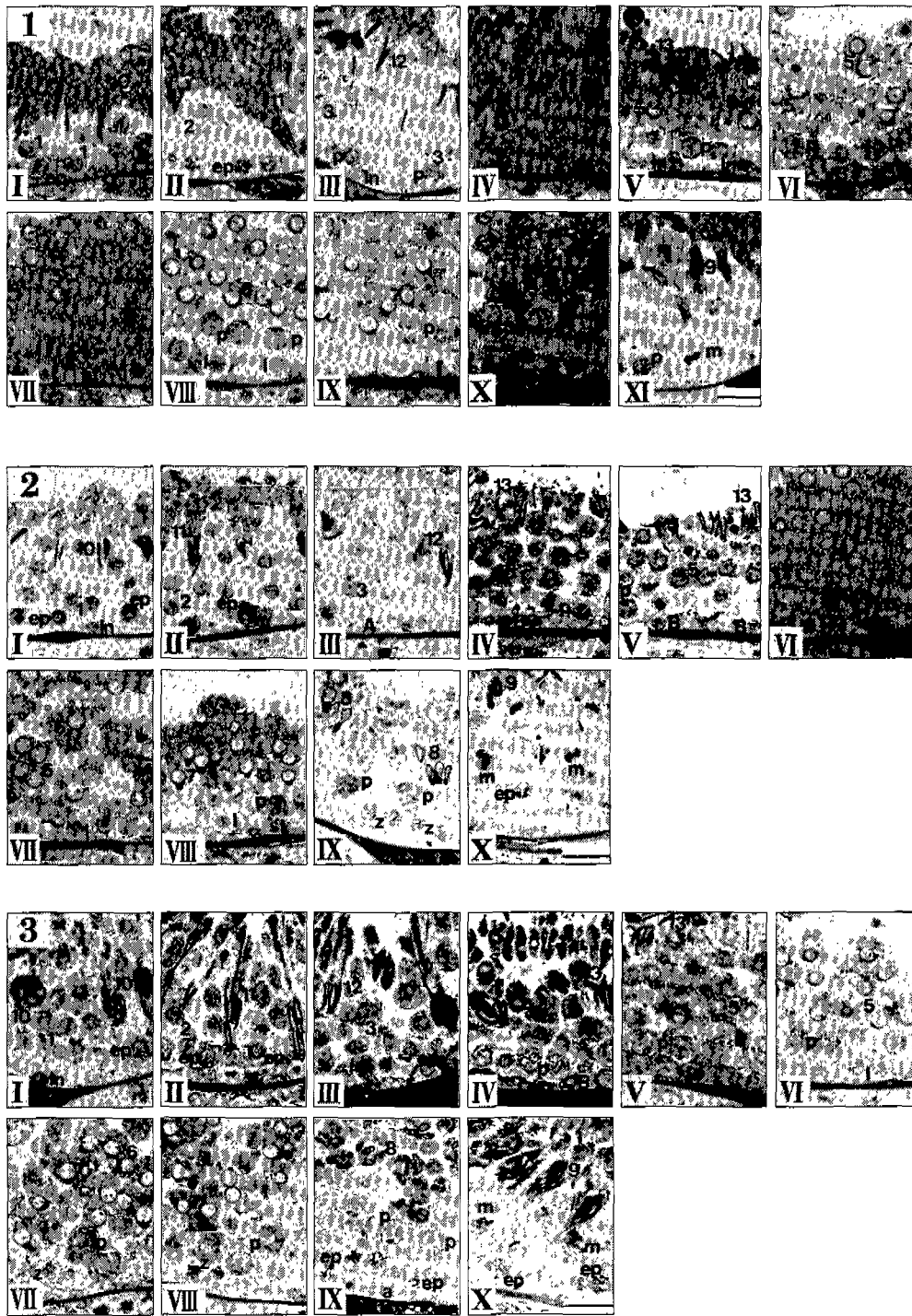
C. lasiura

Stage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Relative frequency(%)	11.7	9.1	5.2	15.6	19.5	10.4	3.9	6.5	10.4	7.8
	10	11	12	13	13					
	1	2	3	4	5	5	6	7	8	9
	P	P	P	P	P	P	P	P	P	M
	In	In	B	B	L	L	Z	Z	P	P
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

A, In and B, spermatogonia of A type, Intermediate type, B type, respectively; L, Z and P, primary spermatocytes in the leptotene, zygotene, pachytene, respectively; M, meiotic figure; 1~13, each step of spermatids.

A형 정원세포(type A spermatogonia)는 모든 stage에서 관찰되었다(Fig. 1와 Table 1). 이들은 분열하여 stage III에서 중간형 정원세포(intermediate spermatogonia)로 분화되어 stage V까지 관찰되었고, stage VI에서 B형 정원세포(type B spermatogonia)로 되었다. B형 정원세포는 분열하여 stage VII에서 세사기 정모세포(leptotene primary spermatocyte)로 되어 stage IX까지 관찰되었다. 세사기 정모세포는 stage X에서 접합기 정모세포(zygotene primary spermatocyte)로, stage XI에서 소형의 초기 태사기 정모세포(pachytene primary spermatocyte)로 변화되었다, 한편 세포의 크기가 약간 증가한 후기의 태사기 정모세포는 모든 stage에서 관찰되었다. Stage XI에서는 감수분열상이 관찰

되었는데 이는 제 1차 및 2차 정모세포의 감수분열상으로 생각되었다. 초기의 정세포(step 1)는 stage I에서 관찰되었으며, 둥글고, 핵의 상부에 작은 선체소낭(acrosomal vesicle)이 소수 관찰되거나 전혀 관찰되지 않기도 했다. 그러나 stage II에서는 좀 더 커진 선체소낭이 관찰되었으며(step 2), stage III에서는 이 소낭들이 점점 발달하여 핵막에 부착되었다(step 3). 이후 stage IV에서는 선체가 정세포를 덮기 시작하였으며(step 4), stage V~VII의 정세포에서는 둥근 핵의 상부 1/2이상이 농축되지 않은 선체로 덮여 있었다(step 5). 여전히 둥근형이지만 선체가 농축된 정세포는 stage VIII부터 선체의 첨단부를 기저막 방향으로 향하기 시작하였고(step 6), stage IX부터는 모두 기저막 방향으로 향하면서



Figs. 1~3. Light micrographs showing each stage(I~XI or I~X) of the cycle of the seminiferous epithelium in *C. suaveolens*(Fig. 1), *C. dsinezumi*(Fig. 2) and *C. lasiura*(Fig. 3).

A, In and B, spermatogonia of A type, Intermediate type, B type, respectively; l, z, ep and p, primary spermatocytes of the leptotene, zygotene, early pachytene and pachytene, respectively; m, meiotic figure; 1~13, each step of spermatids. Roman numerals indicate each stage of the cycle.

Scale bars = 1 μ m

선체가 신장되기 시작하였다(step 7). Stage X 이후, 정세포의 핵과 선체는 더욱 신장되었다(step 8). Stage XI에서는 정세포의 핵이 농축되기 시작하면서 세정관 중앙에 위치하였고, 선체는 최대길이에 도달하였으며, 핵과 선체는 모두 편평해졌다(step 9). Stage I에서 정세포의 핵은 완전히 농축되었으나 여전히 세정관의 중앙에 위치했으며(step 10), Stage II에서는 정세포의 선체 첨단부가 세정관의 기저층에 근접하였다(step 11). 한편, Stage III에서는 정세포의 선체 첨단부가 세정관 상피의 중간에 위치했으며(step 12), stage IV~V에서 정세포가 완전히 성숙되어 두부가 세정관의 내강에 위치하고 있었다(step 13).

따라서 stage I~V에서는 성숙된 정세포와 그 다음 세대의 초기 정세포가 함께 관찰되었으나 stage VI에서 성숙한 정세포가 세정관의 상피로부터 방출되므로 이후의 stage에서는 성숙한 정세포는 관찰되지 않았다.

2) 제주땃쥐 (*C. dsinezumi*)

제주땃쥐의 세정관 상피주기는 10(I~X) stage로 나뉘었

으며(Fig. 2), 각 stage별 상대출현빈도는 9.0, 6.0, 3.0, 20.0, 20.0, 4.0, 6.0, 13.0, 13.0 및 6.0 이었다(Table 1). 생식세포의 발생단계는 작은땃쥐와 유사하였으나, 다음과 같은 점에서 차이를 보였다(Table 2 참조). 첫째, 정원세포와 정모세포가 분화를 시작하는 시기, 즉 중간형 정원세포와 세사기의 정모세포가 관찰되기 시작하는 시기는 각각 stage I과 stage VI으로서, 작은땃쥐의 stage III과 stage VII에 비해 빠른 stage에서 관찰되었다. 둘째, 1/2 이상의 핵막이 아직 농축되지 않은 선체로 덮인 정세포(step 5)가 관찰되는 시기가 stage V~VI으로서, 작은땃쥐에서(stage V~VII) 보다 짧게 관찰되었다. 셋째, 선체가 신장되기 시작하여 최대길이에 도달하는 시기가 stage VIII~X로서, 작은땃쥐(stage IX~XI)보다 빠른 stage에서 관찰되는 점에서 제주땃쥐는 작은땃쥐와 구별되었다.

3) 우수리땃쥐 (*C. lasiura*)

우수리땃쥐의 세정관상피주기는 제주땃쥐에서처럼 10 (I~X) stage로 나뉘었으며(Fig. 3), 각 stage별 상대출현빈

Table 2. Comparisons of stages or steps of developmental germ cells, or some characteristics in spermatogenesis in seven shrews

	<i>Sorex</i>		<i>Crocidura</i>			<i>Suncus</i>
	<i>araneus</i> [26]	<i>watasei</i> [2]	<i>suaveolens</i>	<i>dsinezumi</i>	<i>lasiura</i>	<i>murinus</i> [17,22]
No. of stages	-	12	11	10	10	13
First appearance of intermediate type spermatogonia	-	III	III	I	I	I
First appearance of spermatocytes in the leptotene	-	VII	VII	VI	V	V
Spermatids in step 5	-	V-VII	V-VII	V-VI	V-VI	V-VII
Acrosomal extension	-	IX-X	IX-XI	VIII-X	VIII-X	IX-XI
Nuclear condensation	from the middle and along the membrane	-	from the middle and along the membrane	simultaneously	simultaneously	-
Acrosomal condensation	-	-	step 6	step 6	step 6-10	-
Capitular length / diameter of proximal centriole	> 1	-	> 1	2/3	2/3	-
Post-nuclear cap length / nuclear length	1/2	-	1/2	1/2 >	1/2 >	1/2 >

Roman numerals indicate each stage of the cycle.

도는 11.7, 9.1, 5.2, 15.6, 19.5, 10.4, 3.9, 6.5, 10.4 및 7.8 이었다(Table 1). 본 종의 생식세포의 발생단계는 전술한 2종과 유사했으나, 세사기 정모세포가 stage V에서 관찰되는 점에서 양 종과 구별되었다(Table 2 참조). 한편, 중간형 정원세포가 관찰되기 시작하는 시기, step 5의 정세포가 관찰되는 시기 및 선체가 신장되기 시작하여 최대에 도달하는 시기는 각각 stage I, V~VI 및 VIII~X로서, 제주딱쥐와 같은 경향을 나타내었다(Table 2 참조).

정자변태과정의 전자현미경상

실험한 3종 모두에서 정세포의 정자변태과정은 핵과 선체의 형태와 위치에 근거하여[1,2,17], 4 phase(폴지기, Golgi phase; 두모기, cap phase; 선체기, acrosome phase; 성숙기, maturation phase)로 나뉘었다. 이들 4 phase의 정자변태과정은 전술한대로 다시 13 step으로 세분되었으며, step 1~3의 정세포는 폴지기(Golgi phase)에, step 4~5의 정세포는 두모기(cap phase)에, step 6~10의 정세포는 선체기(acrosome phase)에, 그리고 step 11~13의 정세포는 성숙기(maturation phase)에 각각 속하였다.

1) 작은딱쥐

폴지기

Step 1에서 소수의 작은 선체소낭(acrosomal vesicles)이 둥근 핵의 주변에서 관찰되기 시작하였으나 보이지 않는 경우도 있었다. 그러나 step 2에서는 선체소낭이 뭉쳐져 점점 커졌으며, step 3에서는 커진 선체소낭이 핵막에 부착되었다(Fig. 4A). 또한 잘 발달된 골지체가 선체소낭 부근에서 계속 관찰되었고 사립체(mitochondria)가 세포 전체에 산재되어 있었다.

두모기

Step 4에서 선체소낭이 둥근 핵의 핵막 주위로 퍼져 표면을 덮기 시작하였으며(Fig. 4B), step 5에서는 핵막의 약 1/2을 덮어 선체모(acrosomal cap)를 형성하고 선체과립(acrosomal granule)의 농축도 시작되었다. 이 시기에 관찰된 사립체 역시 세포 전체에 산재되어 있었다.

선체기

Step 6에서 정세포의 핵은 여전히 둥글었으나 선체가 농축되었고, step 7에서는 농축된 선체가 길어졌다. step 8부터는 핵이 신장되기 시작하였고, 핵 기질 내에 전자밀도가

높고 거친 과립들이 핵의 중앙부와 핵막을 따라서 관찰되었다. Step 9에서는 핵의 중앙부와 핵막의 주변부가 심하게 농축되었으며, 선체로 덮인 핵의 상부 약 1/2 위치에서 핵륜(nuclear ring)이 관찰되었고, 선체 주위의 세포막과 지지세포(Sertoli cell) 사이의 세포 외층에서(ectoplasm specialization) 다수의 actin filament가 관찰되었다(Fig. 4C). 또한 후모(post-nuclear cap)의 길이는 핵 길이의 1/2 정도로 되었고, 경부의 근위중심체 상부에 근위중심체의 지름보다 긴 소두(capitulum)가 관찰되었다(Fig. 4C와 inset). 이후 step 10에서 핵의 농축이 많이 진행되었으며, 핵륜은 미부로 하강되어 경부 근처에서 관찰되었고 이와 함께 선체 주위의 actin filament로 덮인 부분이 핵의 기부까지로 넓혀졌다. 한편, 후모의 길이는 여전히 핵 길이의 1/2을 유지하고 있었다(Fig. 4D). 사립체는 선체의 반대편에 산재되어 있었다.

성숙기

Step 11에서 정세포의 핵과 선체는 매우 농축되어 있었고 핵륜은 경부보다 더 밑으로 하강했다. 또한 이 시기부터 사립체가 외측조대섬유를 따라 정렬되기 시작하였고 선체가 세정관 상피의 기저층 주변에서 관찰되었다. Step 12에서는 사립체가 매우 규칙적으로 정렬되었고 선체가 주로 세정관의 중간에 위치하였다(Fig. 4E). Step 13의 정세포는 step 12와 형태적으로 차이를 보이지 않았으나 선체가 대부분 세정관의 내강에서 관찰되었다.

2) 제주딱쥐

제주딱쥐에 대한 정자변태 중의 초기세구조적 변화(Fig. 5A~D)는 작은딱쥐와 거의 유사하였으나 다음과 같은 점에서 차이를 보였다(Fig. 4C, 4D 참조). 즉, 본 종의 경우 핵 기질은 전체적으로 균질하게 농축되기 시작했고, 소두(근위중심체 지름의 약 2/3)와 후모(핵 길이의 1/2 미만)의 길이보다 짧은 점에서 작은딱쥐와 구별되었다(Fig. 5C).

3) 우수리딱쥐

우수리딱쥐의 정자변태 과정은 위의 2종과 유사하였으나(Fig. 6A~E), 핵 기질이 균질하게 농축되고(Fig. 6C), 소두와 후모의 길이가 짧은 점(Fig. 6D)에서 작은딱쥐보다 제주딱쥐와 유사하였다. 그러나 선체의 농축기간이 step 6~10으로서 위 2종(step 6)보다 더 길며, 핵이 농축되는 시기(step 9)보다 더 지연된다는 점에서 위 2종과 구별되었다

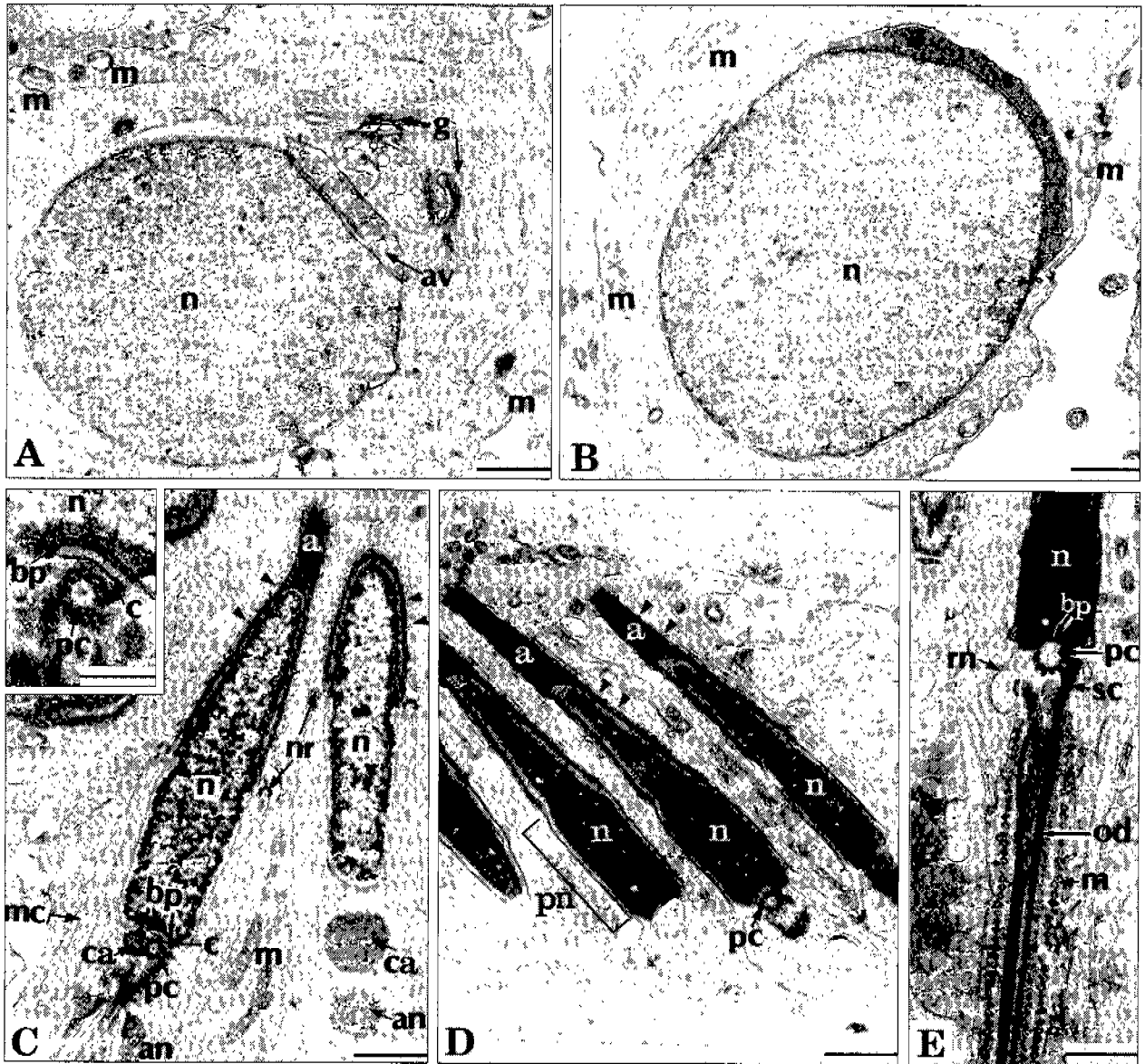


Fig. 4. Electron micrographs showing the spermiogenesis of *C. suaveolens*.

A) A spermatid of step 3(Golgi phase) with acrosomal vesicles(av) and the well-developed Golgi complex(g) near the nucleus(n). B) A spermatid of step 4(cap phase) with the acrosome surrounding about a quarter of the round nucleus. C) Spermatids of step 9(acrosome phase) in which the nucleus partially condensed in the middle and along the nuclear membrane, the nuclear ring(nr) around the base of the acrosome, ectoplasmic actin filaments(◄) between the Sertoli cell and the acrosome(ectoplasmic specialization), the capitulum(c) longer than the diameter of the proximal centriole(pc, inset) and the annulus(an) are observed. D) Spermatids of step 10(acrosome phase) with the condensed and extended acrosome and nucleus. The post-nuclear cap(pn) is observed about a half of the nucleus in length and the ectoplasmic specialization is extended to the base of the head. E) A matured spermatid of step 12(maturation phase) with orderly arrangement of the mitochondria(m). bp, basal plate; ca, centiole associated body; mc, manchette; od, outer dense fiber; rn, redundant nuclear membrane; sc, segmented column.

Scale bars = 0.1 μm and 0.05 μm (inset)

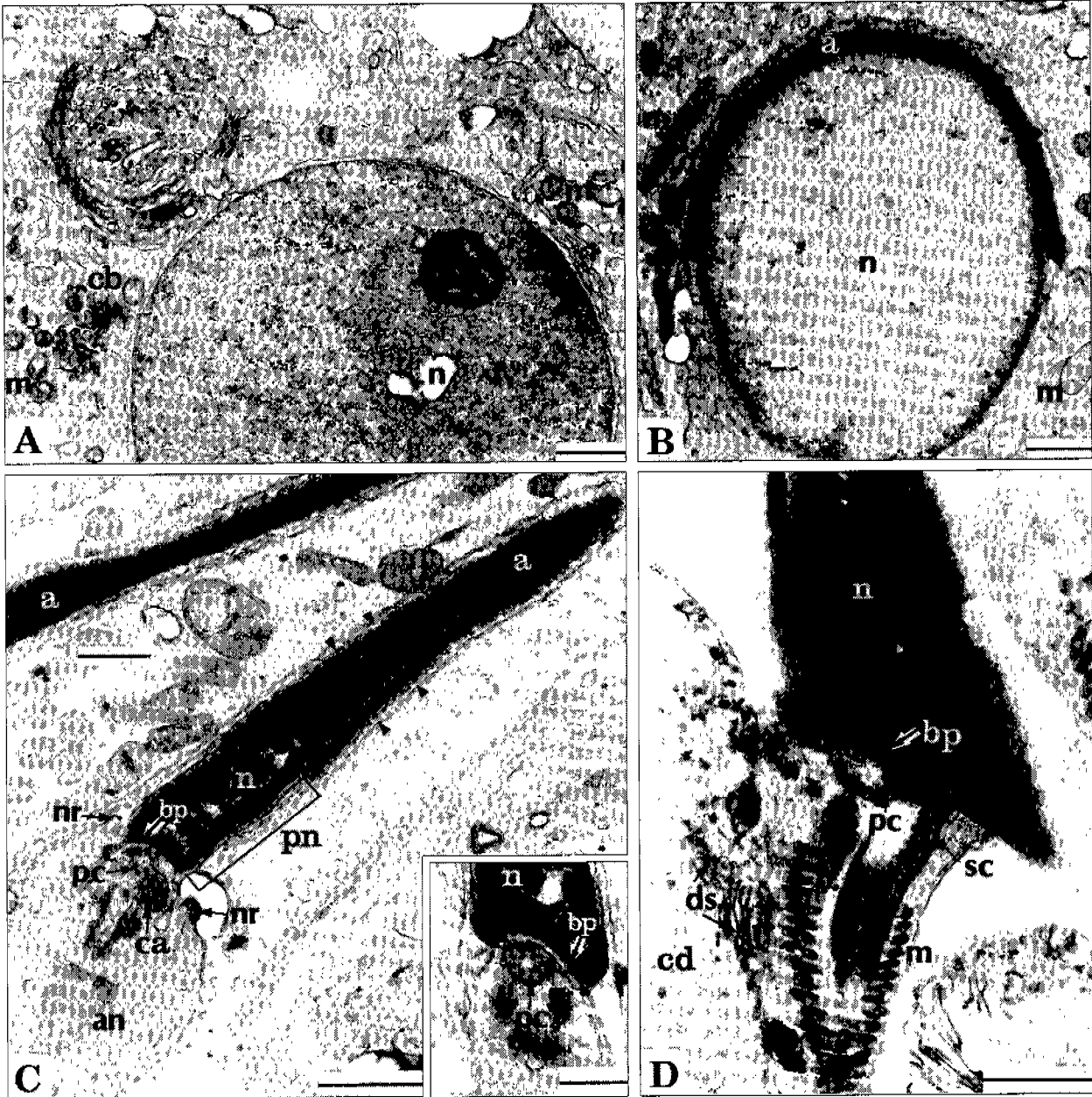


Fig. 5. Electron micrographs showing the spermiogenesis of *C. dsinezumi*.

A) A spermatid of step 1(Golgi phase) with the well-developed Golgi complex(g) near the nucleus(n). B) A spermatid of step 6(acrosome phase) with the condensed acrosome(a) surrounding more than a half of the round nucleus. C) Spermatids of step 10(acrosome phase) in which the condensed nucleus, the post-nuclear cap(pn) less than a half of the nucleus in length, the nuclear ring(nr) around the base of the head, the capitulum(c) about $\frac{2}{3}$ of the diameter of the proximal centriole(pc) in length(inset) and the annulus(an) are observed. The ectoplasmic specialization is observed around the head. D) A matured spermatid of step 13(maturation phase). The dictyosome-like structure(ds) is observed near the cytoplasmic droplet(cd) of the other spermatid.

bp, basal plate; ca, centiole associated body; cb, chromatoid body; mc, manchette; sc, segmented column; ◀, actin filament.
Scale bars = 0.1 μm and 0.05 μm (inset)

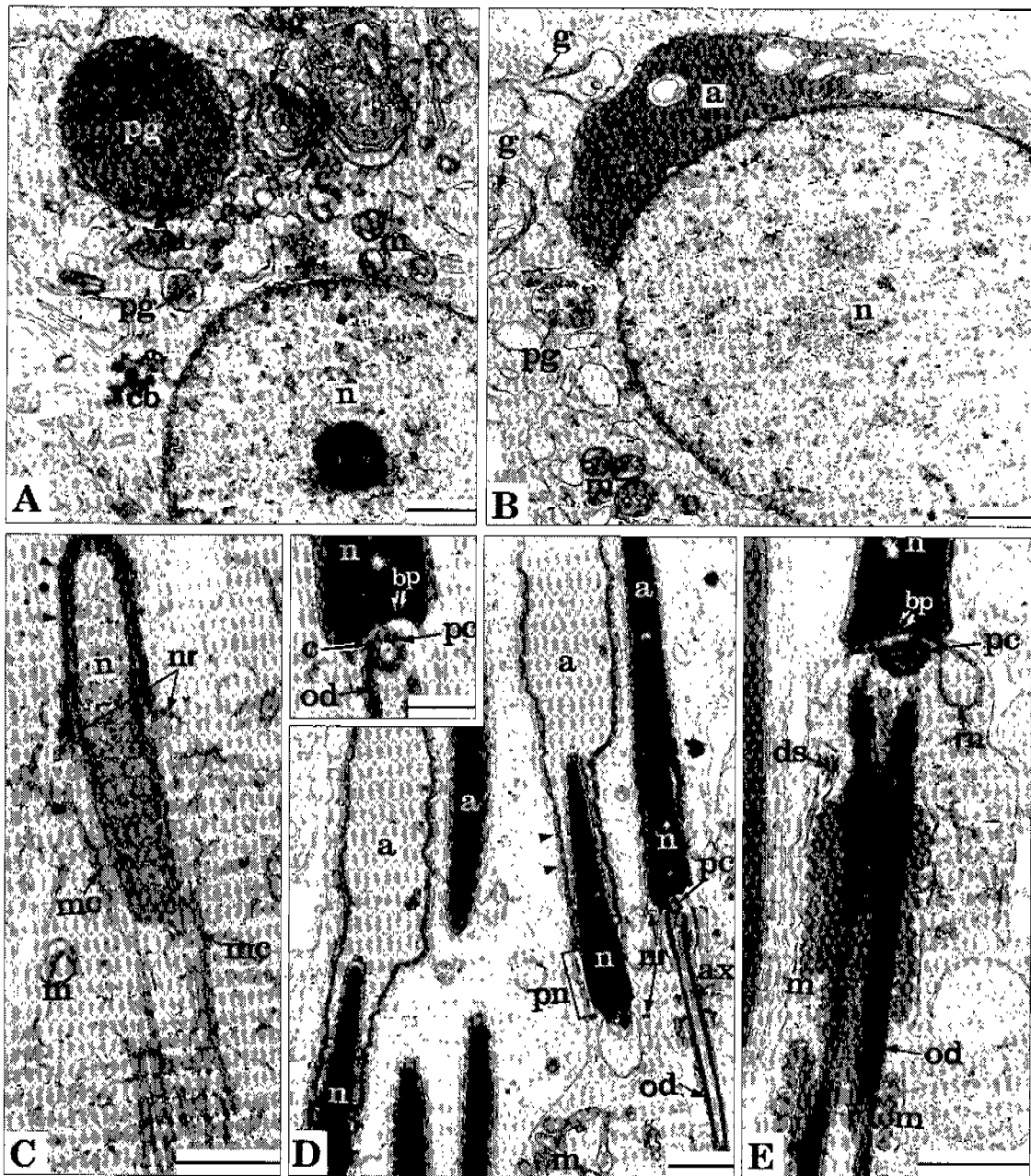


Fig. 6. Electron micrographs showing the spermiogenesis of *C. lasiura*.

A) A spermatid of step 2(Golgi phase) with proacrosomal granules(pg) and the well-developed Golgi complex(g) near the nucleus(n). B) A spermatid of step 4(cap phase) with the acrosome(a) attached to the nucleus. C) A spermatid of step 9(acrosome phase) with the uniformly condensed nucleus covered about a half with the acrosome. The nuclear ring(nr) is observed beneath the acrosome. D) Spermatids of step 10(acrosome phase) with the uniformly condensed nucleus covered with the uncondensed or moderately-condensed acrosome, the post-nuclear cap(pn) less than a half of the nucleus in length, the nuclear ring around the base of the head, the mitochondria(m) scattered in the cytoplasm, the capitulum(c) about $\frac{2}{3}$ of the diameter of the proximal centriole(pc) in length(inset), and the ectoplasmic specialization around the head. E) A matured spermatid of step 11(maturation phase) with orderly arrangement of the mitochondria along the outer dense fibers(od) and the axoneme(ax). bp, basal plate; cb, chromatoid body; mc, manchette; rn, redundant nuclear membrane; ◀, actin filament. Scale bars = 0.1 μm and 0.05 μm (inset)

(Fig. 6D).

고찰

땃쥐과(Soricidae)에 대한 계통 분류체계는 Repenning[26], Gureev[12], Reumer[27]에 의하여 주로 외·내부 형태에 근거하여 연구되었고, 이 중 Repenning[26]의 연구가 George [9]의 allozyme을 이용한 계통학적 연구에 의하여 지지된 바 있다. Repenning[26]에 의하면 땃쥐과는 뿔쥐아과(Soricinae)와 땃쥐아과(Crocidae)로 나뉘고, 뿔쥐아과는 땃쥐아과에 비해 분류학적으로도 생태학적으로도 원시적인 특징을 가지며, 뿔쥐아과에 속하는 12속 중 뿔쥐속(*Sorex*)이 땃쥐과 중에서 가장 원시적인 속으로 생각되고 있다[5, 9, 26]. 한편 땃쥐아과에는 8개의 속이 포함된다[5].

본 연구에서 실험한 작은땃쥐, 제주땃쥐 및 우수리땃쥐는 땃쥐아과의 땃쥐속 (*Crocidae*)에 속하며, 이들에 대한 계통적인 유연관계는 전술한대로 Han[13]에 의하여 수리분류학 및 분자계통학적으로 연구되어, 작은땃쥐는 나머지 두 종과 뚜렷이 구별되며, 제주땃쥐와 우수리땃쥐의 유연관계는 매우 크다고 생각되고 있다. 또한 부정소 미부 정자의 초미세구조의 비교[32]에서도, 작은땃쥐는 땃쥐아과에 속함에도 불구하고 뿔쥐아과의 형질을 보유하고 있어 뿔쥐아과의 원시적인 형질을 보유하는 종으로 간주되고 있으며, 제주땃쥐와 우수리땃쥐 양 종에 대한 정자의 초미세구조는 매우 유사하며 땃쥐아과의 전형적인 형질을 보유하고 있음이 보고된 바 있다.

이와 같은 경향은 본 연구에서도 밝혀졌다. 즉 제주땃쥐와 우수리땃쥐는 세사기 정모세포의 출현시기와 선체의 농축과정에서 차이를 보였지만, 이들은 작은땃쥐에 비하여 보다 많은 형질을 공유함이 밝혀졌다(Table 2 참조). 즉 이들은 첫째, 세정관 상피주기가 10 stage(I~X)로 나뉘지며(작은땃쥐에서는 11 stage), 둘째 중간형의 정원세포가 stage I에서 관찰되며(작은땃쥐에서는 stage III), 셋째 정자변태과정 중 step 5의 정세포(등근 정세포의 핵막의 1/2이상이 농축되지 않은 선체에 의하여 덮인 시기)가 stage V-VI에서 관찰되고(작은땃쥐에서는 stage V-VII), 넷째 선체가 신장되기 시작하여 최대의 길이에 도달하는 시기가 stage VIII-X이며(작은땃쥐에서는 stage IX-XI), 다섯째 핵 기질이 전반적으로 균질하게 농축되고(작은땃쥐에서는 핵의 중앙부

와 핵막의 주변부부터 농축됨), 여섯째 정자변태과정 중 선체기의 소두의 길이는 근위중심체 지름의 약 1/2이며(작은땃쥐에서는 근위중심체의 지름보다 김), 일곱째 후모 길이의 핵 길이에 대한 비율이 1/2보다 낮은 점(작은땃쥐에서는 약 1/2)에서 매우 유사하며, 작은땃쥐와는 구별됨이 밝혀졌다.

Table 2에는 위 3종의 특징을 뿔쥐아과의 땃쥐과 중 가장 원시적인 속의 한 종인 *Sorex araneus*[25], 매우 소형으로서 작은땃쥐와 형태적으로 매우 유사한[14] *Crocidae watasei* (= *C. horsfield watasei*)[2] 및 땃쥐아과 중 비교적 특수화된 속의 한 종인 *Suncus murinus*[17, 22]의 특징과 서로 비교하였다. 이 표에 의하면 작은땃쥐는 *S. araneus* 및 *C. watasei*와 유사함을 알 수 있다. 즉, 작은땃쥐는 핵 기질의 농축이 핵의 중앙부와 핵막의 주변부부터 시작되는 점, 소두의 길이가 근위중심체의 지름보다 긴 점, 및 후모의 길이가 핵 길이의 약 1/2인 점에서, *S. araneus*[25]와 유사하며, 이와 같은 특징들은 땃쥐속의 나머지 땃쥐류에서는 관찰되지 않고 있다. 이는 작은땃쥐의 정자가 뿔쥐아과의 원시적인 형질을 보유하고 있다고 보고한 Yoon과 Jeong[32]의 연구를 뒷받침하고 있다. 또한 중간형 정원세포, 세사기 정모세포 및 step 5 정세포가 출현하는 시기를 비교하면(Table 2), 작은땃쥐는 제주땃쥐나 우수리땃쥐보다 *C. watasei*[2]와 더 유사한 것을 알 수 있다.

S. murinus[17]는 세정관 상피주기가 13 stage로서 땃쥐속의 땃쥐류보다 길며, 세사기 정모세포의 출현시기가 비교적 빨라 세정관 상피주기의 중간 이전(V/XIII)에 나타나는 점에서, 중간 이후에 나타나는 땃쥐속의 땃쥐류(*C. watasei*, VII/XII, *C. suaveolens*, VII/XI, *C. dsinezumi*, VI/X, *C. lasiura*, V/X)와 구별된다(Table 2). 한편, 중간형 정원세포가 최초의 stage부터 출현하고[17], 성숙기 중의 후모의 길이가 핵 길이의 1/2 미만이라는 점[22]에서 *S. murinus*는 작은땃쥐보다 제주땃쥐나 우수리땃쥐와 더 유사함을 알 수 있다. 그러나 보다 정확한 유연관계를 밝히기 위해서는 앞으로 초미세구조에 대한 좀 더 상세한 연구가 수행되어야 할 것이다.

이상과 같이 본 연구에서 실험한 땃쥐류 3종에서 세정관상피주기 및 정자변태과정의 미세구조가 모두 달라, 이들 형질이 종 수준의 분류학적 형질로서 이용될 수 있음이 밝혀졌다. 더욱이 제주땃쥐와 우수리땃쥐의 경우 작은땃쥐에 비하여 더 유사한 점이 많아, 제주땃쥐와 우수리땃쥐의

유연관계가 작은땃쥐에 비하여 큰 것이 밝혀졌으며, 이와 같은 결과는 지금까지 수행되어 온 수리분류학, 분자계통학[13] 및 정자의 미세구조적 연구[32] 결과와 일치하였다. 그러나 땃쥐류의 체계적인 계통분류학적 유연관계를 밝히기 위해서는 앞으로 좀 더 많은 종들에 대한 정자형성과정 및 정자변태과정의 미세구조적 연구 및 분자계통학적 연구가 수행되어야 할 것이다. 한편, 정자변태과정 중 실험한 3종 모두에서 근위중심체의 상부에서 소두가 관찰되지만, 이들 3종의 부정소 미부의 완성된 정자[23,32]에서는 소두가 관찰되지 않아 흥미로우며, 소두가 정자완성과 더불어 어떻게 변화하는지에 대해서도 앞으로 더 상세한 연구가 있어야 할 것이다.

요 약

한국에 서식하는 땃쥐속 3종, 작은땃쥐 *Crocidura suaveolens*, 제주땃쥐 *C. dsinezumi* 및 우수리땃쥐 *C. lasiura*에 대한 번식기간 중의 세정관 상피주기와 정자변태과정을 광학파 전자현미경으로 비교 연구하였다.

세정관 상피주기 및 정자변태과정의 미세구조는 위 3종에서 차이를 보이므로, 이들 형질들이 종의 분류를 위한 중요한 형질로 쓰일 수 있음이 시사되었다. 한편 제주땃쥐와 우수리땃쥐는 작은땃쥐와는 확실히 구별되는 다음과 같은 많은 공통된 형질을 가지고 있었다. 즉 양 종은 첫째, 세정관 상피주기가 10 stage(I~X)로 나뉘지며(작은땃쥐에서는 11 stage), 둘째 중간형의 정원세포가 stage I에서 관찰되며(작은땃쥐에서는 stage III), 셋째 정자변태과정 중 step 5의 정세포가 stage V-VI에서 관찰되고(작은땃쥐에서는 stage V-VII), 넷째 선체가 신장되기 시작하여 최대의 길이에 도달하는 시기가 stage VIII-X이며(작은땃쥐에서는 stage IX-XI), 다섯째 핵 기질이 전반적으로 균질하게 농축되고(작은땃쥐에서는 핵막의 주변부와 중앙부부터 농축됨), 여섯째 정자변태과정 중 선체기의 소두의 길이는 근위중심체 지름의 약 1/2이며(작은땃쥐에서는 근위중심체의 지름보다 김), 일곱째 후모 길이의 핵 길이에 대한 비율이 1/2보다 낮은 점(작은 땃쥐에서는 핵 길이의 약 1/2)에서 매우 유사하며, 작은 땃쥐와는 구별되었다. 이상, 제주땃쥐와 우수리땃쥐에 대한 정자형성과정의 미세구조가 작은땃쥐에 비하여 매우 유사한 점으로부터 이들의 유연 관계가 작은땃쥐와의

유연관계에 비해서 더 큰 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Abe, K., L. Shen and H. Takano. 1991. The cycle of the seminiferous epithelium and stages in spermatogenesis in dd-mice. *Hokkaido Igaku Zasshi* **66**, 286-299.
2. Adachi, Y., M. Kurohmaru, S. Hattori and Y. Hayashi. 1992. Spermatogenesis in the Watase's shrew, *Crocidura watasei*. A light and electron microscopic study. *Exp. Anim.* **41**, 295-303.
3. Bedford, J. M. 1974. Biology of primate spermatozoa. pp. 97-139, In Lockett, W. P. (ed.), *Contributions to primatology*. Vol. 3, Karger, Basel.
4. Cavicchia, J. C. and M. Dym. 1978, Ultrastructural characteristics of monkey spermatogonia and preleptotene spermatocytes. *Biol. Reprod.* **18**, 219-228.
5. Churchfield, S. 1990. *The natural history of shrews*. pp. 1-11, A & C black Ltd., London.
6. Clemont, Y. and E. Bustos-Obregon. 1968. Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted in toto. *Am. J. Anat.* **123**, 237-248.
7. Corbet, G. B. 1978. *The mammals of the palaearctic region: a taxonomic review*, British Museum (Nat. Hist.) pp. 18-30, Cornell Univ. Press, London.
8. Franca, L. R., S. C. Becker-Silvia and H. Chiarini-Garcia. 1999. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue Cell* **31**, 274-280.
9. George, S. B. 1986. Evolution and historical biogeography of Soricine shrews. *Syst. Zool.* **35**, 153-162.
10. Gondos, B. and R. Zemjanis. 1970. Fine structure of spermatogonia and intercellular bridges in *Macaca nemestrina*, *J. Morph.* **131**, 431-446.
11. Godfrey, G. K. 1978 The breeding season of the lesser white-toothed shrew(*Crocidura suaveolens* Pallas, 1811) in Jersey. *Bull. Soc. Jersiaise.* **22**, 195-196.
12. Gureev, A. A. 1971. *Shrew (Soricidae) fauna of the world*. Academy of Science, U. S. S. R., Zoological Institute. "Nauka" Publ., House, Leningrad Branch, Leningrad.
13. Han, S. H. 1997. Phylogenetic study of the small mammals in Korea. Ph. D. Dissertation, Univ. of Hokkaido.
14. Imaizumi Y. 1970. *The handbook of Japanese land mammals*. pp. 148-195, Vol. 1, Shin-Shicho-Sha Co.,

- Ltd., Tokyo.
15. Jones, J. K. Jr. and D. H. Johnson. 1960. Review of the Insectivores of Korea. *Univ. Kansas Publ., Mus. Nat. Hist.* **9**, 551-578.
 16. Korean Society of Systematic Zoology. 1997. *List of animals in Korea (excluding insects)*. pp. 299, Academy press., Seoul.
 17. Kurohmaru, M., H. Kobayashi, S. Hattori, T. Nishida and Y. Hayashi. 1994. Spermatogenesis and ultrastructure of a peculiar acrosomal formation in the musk shrew, *Suncus murinus*. *J. Anat.* **185**, 503-509.
 18. Kurohmaru, M., S. Maeda, A. Suda, E. Hondo, K. Ogawa, H. Endo, J. Kimura, J. Yamada, W. Rerkamnuaychoke, N. Chungsamarnyart, Y. Hayashi, and T. Nishida. 1996. An ultrastructural and lectin-histochemical study on the seminiferous epithelium of the common tree shrew (*Tupaia glis*). *J. Anat.* **189**, 87-95.
 19. Maeda, S., H. Endo, J. Kimura, W. Rerkamnuaychoke, N. Chungsamarnyart, J. Yamada, M. Kurohmaru, Y. Hayashi and T. Nishida. 1996. Classification of the cycle of the seminiferous epithelium in the common tree shrew (*Tupaia glis*). *J. Vet. Med. Sci.* **58**, 481-484.
 20. Michael, H. R., J. R. Lynn and I. K. Gordon. 1995. Male reproductive system. pp. 636-645, In Coryell P. A. (ed.), *Histology-A text and atlas*. 3rd eds., Williams & Wilkins, Maryland.
 21. Mori, T. 1994. Phylogenetic implications of sperm ultrastructure in Japanese Insectivores, *Mamm. Sci. Japan.* **34**, 51-57.
 22. Mori, T. and T. A. Uchida. 1985. Fine structure of the spermatozoon of the house musk shrew, *Suncus murinus*, pp. 335-351, In Oda, S., J. Kitoh, K. Ota and G. Isomura (eds.), *Suncus murinus-Biology of the laboratory shrew*, Japan Sci. Soc. Press (JSSP), Tokyo.
 23. Mori, T., S. Arai, S. Shiraishi and T. A. Uchida. 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**, 1-12.
 24. Mossman, H. W. 1953. The genital system and the fetal membranes as criteria for mammalian phylogeny and taxonomy. *J. Mamm.* **34**, 289-298.
 25. Plöen, L., H. Ekwall and B. A. Afzelius. 1979. Spermogenesis and the spermatozoa of the European common shrew (*Sorex araneus* L.). *J. Ultrastruct. Res.* **68**, 149-159.
 26. Repenning, C. A. 1967. Subfamilies and genera of the Soricidae. *U. S. Geol. Surv. Prof. Pap.* **565**, 1-69.
 27. Reumer, J. W. F. 1984. Ruscinian and early Pleistocene Soricidae (Insectivora, Mammalia) from Tegelen (the Netherlands) and Hungary. *Scripta Geol.*, **73**, 1-173.
 28. Schuler H. M. and H. T. Gier. 1976. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the prairie vole (*Microtus ochrogaster ochrogaster*). *J. Exp. Zool.* **197**, 1-11.
 29. Uchida T. A and T. Mori. 1972. Electron microscope studies on the fine structure of germ cells in Chiroptera I. Spermogenesis in some bats and notes on its phylogenetic significance. *Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, **26**, 399-418.
 30. Won, P. H. 1967. *Illustrated encyclopedia and fauna and flora of Korea*. pp. 259-283, Vol. 7, Ministry of education, Korea.
 31. Yoon, M. H. 1992. *Wild animals*. pp.17-27, Daewonsa Publishing Co., Ltd., Korea.
 32. Yoon, M. H. and S. J. Jeong. 2001. Ultrastructure of epididymal spermatozoa in three Korean shrews. *Korean J. Life Science* **11**, 54-61.

(Received March 8, 2001; Accepted March 27, 2001)