

큰발웃수염박쥐 (*Myotis macrodactylus*)의 정상피세포의 분화와 미세구조

이 정 훈

경남대학교 자연과학대학 생명과학부

Cell Differentiation and Ultrastructure of the Seminiferous Epithelium in *Myotis macrodactylus*

Jung-Hun Lee

Division of Life Sciences, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

(Received January 6, 2003; Accepted January 24, 2003)

ABSTRACT

Cell differentiation and ultrastructural characteristics in the seminiferous epithelium of *Myotis macrodactylus* was investigated with the light and electron microscopes. Spermatogenesis has begun at April and finished at September. The nuclei of A spermatogonia (dark and pale type of spermatogonia) were oval, applied to the basal lamina, and surrounded by Sertoli cells. By comparison with other types of spermatogonia, the cell and nucleus of B type of spermatogonium is globular and larger than A types of spermatogonia. The nucleolus appears as a coarse and touches the nuclear membrane. The cell and nucleus of spermatocytes was globular and larger, but primary spermatocyte is larger than secondary spermatocyte. Spermiogenesis was divided according to the level of fine structural difference, into Golgi, cap, acrosomal, maturation and spermiation phases; Golgi, cap, acrosomal and spermiation phases were further subdivided into steps of early and late phase respectively, and maturation phase has only one step. Hence, the spermiogenesis has been divided into a total of nine phases. In the change of karyoplasm, the chromatin granules are condensed at late Golgi phase and completed at spermiation phase. The sperm tail began to develop in early Golgi phase and completed in spermiation phase. The process of degeneration of spermatogenic cells in the seminiferous tubules was continually observed from October, before the beginning of hibernation, to hibernation phase (November, December, January, February, March). Immatured spermatogenic cells in the seminiferous tubules have been engulfed by phagocytosis of Sertoli cells during period of degeneration. It is deduced that the adaptative strategy serves as the mechanism to regulate the effective use of energy to prepare for long hibernation and regulation of breeding cycle.

Key words : *Myotis macrodactylus*, Spermatogenesis, Spermiogenesis

이 논문은 2001년도 경남대학교 학술연구 조성비 지원에 의하여 편여진 것임

* Correspondence should be addressed to Dr. Jung-Hun Lee, Division of Life Sciences, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea. Ph.: 055-249-2243, FAX: 055-249-2238, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

박쥐류 정자의 미세구조는 Fawcett & Ito (1965)가 전자현미경을 이용하여 처음으로 제시하였고, 그 이후 정자형성과 정자변태 (Uchida & Mri, 1972; Oh et al., 1985a; Kim & Oh, 1991; Lee et al., 1992; Lee & Son, 1993; Son et al., 1995a, b; Son et al., 1997a), 세포 소기관의 형태 (Son et al., 1997b; Choi et al., 1998), 정자의 미세구조 (Kim et al., 1999), 수정 메카니즘과 수정능 획득 (Uchida & Mri, 1974; Oh et al., 1985b), 융성 생식유형 (Gustafson, 1979; Lee et al., 1993)과 자성 생식도관내 정자저장과 소멸 (Wimsatt et al., 1966; Racey & Potts, 1970; Mri & Uchida, 1980, 1982; Mri & Uchida, 1989; Kim & Oh, 1991; Lee & Son, 2000) 등이 보고되었다.

한편, 박쥐류의 수컷 번식주기와 관련하여 볼 때, 월별 변화에 따른 생식세포의 분화와 주기성에 관한 연구는 관박쥐 (Lee et al., 1993)를 제외하고는 구체적으로 제시된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 월별에 따른 큰발웃수염박쥐 (*Myotis macrodactylus*) 수컷의 세정관 정상피의 분화과정과 이들 정자형성세포의 미세구조적 특징을 통하여 다른 종과의 번식유형의 차이점을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

큰발웃수염박쥐 (*Myotis macrodactylus*) 수컷의 생식세포 분화과정과 미세구조를 알아보기 위하여 2002년 1월부터 2002년 12월까지 경남 일원의 폐광동굴에서 이들 박쥐를 채집하였고, 에테르 마취하에서 정소를 채취한 후 3%-glutaraldehyde (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4) 용액에 3시간 정도 담가둔 후 1~1.5 mm³ 크기로 세절한 후 다시 2시간 정도 고정하였다. 전고정 후 정소의 조직편들은 완충액 (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4)으로 수세한 다음 1.33%-OsO₄ (4°C, Millonig's buffer, pH 7.4) 용액에서 2시간 동안 후고정한 다음 동일한 완충액으로 수세하였다. 수세가 끝난 조직편들은 acetone 농도 상승 순으로 탈수하였

고, 탈수 후 Epon 812 혼합액으로 포매하여 굳힌 다음 ultramicrotome (MT-6000, Sorvall)을 이용하여 1 μm 두께로 자른 후 0.5%-toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 조직분화의 각 단계를 확인한 후 이어서 60~90 nm의 연속절편을 얻어 uranyl acetate 용액과 lead citrate 용액으로 이중 염색한 후 투과전자현미경 (TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

결 과

세정관 정상피세포의 분화과정

3월의 실험군에서는 다수의 Ad형 정원세포 (dark type of spermatogonium)와 Ap형 정원세포 (pale type of spermatogonium) 만이 관찰되었고 (Fig. 1a), 5월의 경우는 A형 정원세포 뿐만 아니라 처음으로 B형의 정원세포 (B type of spermatogonium)가 나타났다 (Fig. 1b). 3월과 5월의 세정관은 닫혀져 있었으며, 세정관 내에는 다수의 지방소적 (lipofuscin)이 산재해 있었고 내강은 닫혀져 있었다 (Fig. 1a, b). 7월의 세정관 내에는 제 1 감수분열의 단계의 제 1 정모세포 (primary spermatocyte)들이 기저막과 인접하여 있었으며, 정자변태과정의 초기단계인 원형의 정자세포들이 다수 존재하고 있었다 (Fig. 1c). 9월의 실험군에서는 성숙과정 중의 정자세포들이 다수 존재하고 있었으며 (Fig. 1d), 7월과 9월의 세정관 내강은 열려져 있었다 (Fig. 1c, d). 10월의 실험군에서는 정원세포들 (Ad, Ap, B)와 퇴화과정 중의 정원세포만이 관찰되었고, 내강은 3, 5월과 마찬가지로 닫혀져 있었으며, 수많은 지방소적이 세정관내에 내재되어 있었다 (Fig. 1e). 1월의 실험군에서는 극소수의 Ad형 정원세포와 퇴화중의 정원세포만이 관찰되었고, 수많은 지방소적이 세정관내에 내재되어 있었으며, 내강 역시 닫혀져 있었다 (Fig. 1f).

정자형성 세포의 미세구조적 특징

- 1) 정원세포 (spermatogonia; Ad, Ap, Intermediate, B types of spermatogonium)
A형 (Ad, Ap)의 정원 세포는 기저막 위에 위치하고

있으며, Sertoli cell에 의해 둘러싸여져 있으며, 이들 대부분의 세포는 거의 타원형이다. Ad형 정원세포는 길게 염색된 염색질을 함유한 타원형의 핵을 가지며, 하나 혹은 두 개의 핵소체들은 대부분 핵막에 인접되어 있다(Fig. 2a). Ap형 정원세포는 균질한 염색질을 갖는 핵을 소유하고 있으며, Ad형과는 대조적으로 염색질이 매우 약하게 염색되어져 있었다(Fig. 2b). 중간 정원세포(intermediate spermatogonium)는 타원형의 세포로서 핵막 근접부에 전자밀도가 높은 과립성 물질이 존재하고 있었다(Fig. 2c, Inset). B형 정원세포는 구형의 세포로서 A형보다 세포가 크며, Ap형과 마찬가지로 세포질이 밝고, 염색질이 고운 섬유상으로서 핵소체가 핵막에 인접되어 있었다(Fig. 2d).

2) 정모세포(spermatocytes)

제 1 감수분열 전기의 세사기(leptotene) 단계의 세포핵은 구형이며, 염색질(chromatin)이 응축하여 염색사로 되는 시기로서, 세포질 소기관들이 세포질 전역에 걸쳐 풍부하다(Fig. 3a), 쌍사기(zygotene)의 세포핵 역시 구형이며, 염색질은 더욱 응축하였으며, 상동염색체가 쌍을 이루기 시작하였다(Fig. 3b). 태사기(혹은 후사기, pachytene)에는 염색사는 더욱 굵고 짧아져서 2가 염색분체를 형성하였다(Fig. 3c, arrowheads). 복사기(diplotene)에는 상동염색체가 분리되어졌고(Fig. 3d), 곧 이어 이동기(diakinesis)에는 각각의 염색분체들이 더욱더 굵고 짧아졌으며, 염색분체들은 핵막 가까스로 이동되어졌고, 이때 인은 소실되어졌다(Fig. 3e). 제 1 감수분열 전중기에는 4분체는 서서히 핵의 중앙으로 이동되기 시작하였고(Fig. 3f), 중기에는 4분체가 방추사의 양극 사이에 있는 적도판에 완전히 배열하였다(Fig. 3g). 곧 이어 후기를 거쳐 말기에는 염색체들이 양극으로 이동하였고 핵막이 형성되기 시작하였다(Fig. 3h).

3) 정자세포(spermatids)

본 연구에서는 골지기, 두모기, 첨체기 및 이탈기를 각각 전·후기로, 성숙기를 1단계로 하여 정자변태의 전과정을 9단계로 구분하였다(Figs. 4-9).

(1) 골지기(Golgi phase)

골지전기(early-Golgi phase)

초기 정자세포의 핵은 대개 구형 또는 타원형이며

(Figs. 1c, 4a, b), 핵질은 고운 섬유상으로 핵 내부에 골고루 분산되어 있었고, 골기체를 비롯하여 활면소포체, 미토콘드리아 등의 소기관들이 세포질내에 고르게 산재되어 있었다. 골기체 아래쪽에 작은 골지소낭과 골지소낭 인접부에 첨체소포(arrowheads)가 핵 가까이 존재하고 있으나 아직 핵막과 융합되지 않았다(Fig. 4a). 특히 핵 후반자쪽에 정자의 편모(flagellum)가 세포질 밖으로 나와 있었다(Fig. 9a).

골지후기(late-Golgi phase)

골기체로부터 떨어져 나온 골지소낭들이 융합하고 또한 골지소포들과 융합되어 큰 첨체소포(arrowhead)를 형성하였고, 핵내 염색질 과립(chromatin granule)들이 다소 응축되기 시작하였다. 여전히 세포질내의 골기체를 비롯한 미토콘드리아들이 첨체소포 주변부에 인접부에 위치하고 있었다(Fig. 4b).

(2) 두모기(cap phase)

두모전기(early-cap phase)

첨체과립을 함유한 첨체소포(arrowhead)는 핵을 함입시키기 시작하였고, 첨체물질(acrosomal substance)은 아직 첨체소포 내부에 골고루 분산되지 않았다(Fig. 5a).

두모후기(late-cap phase)

이 시기에는 핵의 표면에 볼록렌즈상의 형태를 취한 첨체포(acrosomal vacuole)가 핵의 후방부로 향해 넓게 퍼지고, 미토콘드리아들이 더욱더 핵의 후방부로 이동되어 나타났었다(Fig. 5b).

(3) 첨체기(acrosomal phase)

첨체전기(early-acrosomal phase)

첨체소포내의 첨체물질들은 충분히 내재됨과 아울러 첨체를 완전히 형성하였고, 이때 외첨체막과 정자두부의 원형질막이 밀착되어 있었다. 직선상으로 뻗은 미세소관(microtubule)들이 핵의 장축에 부합하여 만세트(Fig. 6a, arrows)를 형성함과 동시에 만세트가 핵의 후방부로 길게 신장됨으로서 핵은 신장화되어졌다. 이와 때를 같이하여 상대적으로 볼록렌즈상의 첨체의 첨단부가 핵의 앞방향으로 돌출되어졌다. 그리고 핵내에는 불규칙하고 전자밀도가 높은 염색질 과립들이 원형으로 응축되어져 있었다(Fig. 6a).

첨체후기(late-acrosomal phase)

첨체초기로부터 형성된 첨체(acrosome)와 핵은 더

속더 길게 늘어남과 동시에 세장화 되어졌고, 침체가 핵의 후반부로 이동하여 핵 전장의 1/2부근에 접근하여 위치하고 있었으며, 핵륜도 핵의 중앙부위로 이동되어 나타났다(Fig. 6b).

(4) 성숙기 (maturation phase)

이 시기의 침체와 핵은 최대로 신장되고 핵내의 염색질은 더욱더 응축되어졌다. 핵륜(arrows)의 이동은 침체단계와 비교해 볼 때 다소 핵의 기저판 부위로 이동되어 나타났으며, 이 시기에는 세포질의 체적(부피)은 현저하게 감소되어졌다(Fig. 7)

(5) 이탈기 (spermiation phase)

이탈전기 (early-spermiation phase)

이 시기의 핵질은 전자밀도가 매우 높고 균질한 상태이며, 핵륜은 기저판 가까이에 인접되어 나타났다. 미토콘드리아는 축사를 중심으로 불규칙하게 배열되어 완전한 정자꼬리의 형태를 갖추지 않았다 (arrowheads). 즉, 서틀리 세포 (Sertoli cell)로부터 완전히 이탈되지 않고 경부 (neck region) 및 중편부 (middle piece)에 여전히 세포질 소적 (cytoplasmic droplet)을 함유한 채로 서틀리 세포의 세포질막과 결합되어 있었다(Fig. 8a, arrowheads).

이탈후기 (late-spermiation phase)

이 시기에서 핵륜의 이동은 핵의 기저판 아래로 내려오고 이와 때를 같이하여 미토콘드리아는 축사를 중심으로 나선형으로 감겨져 완전한 중편부를 형성하고 있었다(Fig. 8. large asterisks). 이 시기에는 이탈전기와는 달리 정자세포들은 정자두부만 서틀리 세포의 세포질에 싸여져 있거나 거의 모든 정자세포들이 세포질 소적을 남긴 채 정소 내강으로 배출되어진다(Fig. 9)

고 찰

주위환경 변화에 따른 생물의 반응과 적응전략은 번식유형에도 많은 영향을 미치며, 이에 따라 비계절적 번식형과 계절적 번식형으로 크게 대별된다. 특히 항온동물에 있어서, 주위 환경변화에 따라 정상적인 체온의 범위를 벗어나 변동하는 현상이나 특성을 갖는 동물을 이온(성)동물(heterothermy)이라 불리우며,

체온이 동물의 부위에 따라 다른 것을 부위적 이온성(regional heterothermy)이라 한다. 몇몇의 소형 조류나 포유류의 경우에는 휴식시 10°C 이상이나 낮은 체온(hypothermia)에서는 개체가 일시적인 둔마상태(torper)에 놓이게 되며, 이러한 현상이 종에 따라서는 일주기적 현상을 보이는 경우(daily torper)와 소형 포유류의 경우 특히 동면성 박쥐류는 긴 동면을 나기 위한 낮은 체온유지는 효율적인 에너지 이용에 따른 적응의 결과로서 계절적 현상을 보이는 경우(seasonal torper)가 있다. 이러한 주위 환경의 온도변화에 따른 체온조절은 생식세포 분화과정에도 많은 영향을 미친다.

동면성 박쥐류 중에서 관박쥐 수컷의 번식 pattern의 경우, 정자형성은 각성기인 4월부터 시작하여 동면 개시기 전의 10월까지 완료하며, 동면기(11월부터 이듬해 3월까지) 동안에는 미성숙 정자형성 세포의 퇴화과정이 일어난다는 점에서는 일반적인 포유류의 번식유형과는 다른 세정관 정상피의 주기성 가진다(Lee et al., 1993). 암컷의 경우에는, 사출된 정자가 긴 동면 동안에 수관관 협부에 저장되어 있다가 이듬해 난자를 만나 수정이 이루어지는데, 이들 정자의 생존 여부와 저장장소는 수정을 위한 일종의 메카니즘으로서 종속유지를 위한 번식 전략적 차원이기도 하다(Lee & Son, 2000).

본 연구의 결과에 의하면, 큰발웃수염박쥐(*M. macrodactylus*)의 월별에 따른 정자형성 과정은 4월부터 9월까지로 나타났으며(Fig. 1a-e), 정자형성세포의 퇴화과정이 10월부터 일어나기 시작하여 동면기인 11월, 12월, 이듬해 1월, 2월까지로 나타났는데, 관박쥐(Lee et al., 1993) 보다는 정자형성 개시기와 정자형성세포의 퇴화과정 시기가 1개월 정도 앞서 일어난다는 점에서 큰 차이를 보인다. 이는 아마도 이들 종의 서식 환경적 차이(서식지의 온도와 굴 입구의 방향과 길이 등)에 다소 영향을 보이기는 하나 오히려 그들의 생활습성에 더 많은 영향을 받는 것으로 여겨진다. 즉 관박쥐의 경우는 활동기나 동면기 때에는 군집을 이루어 생활하는 반면에 큰발웃수염박쥐는 제각기 한정된 장소에서 생활하기 때문에 긴 동면을 나기 위해 에너지 효율을 조절을 위해 더 빨리 동면을 취하는 것으로 여겨진다.

정자형성세포의 미세 구조적 특징에 있어서, A형 (Ad, Ap) 정원세포는 일반적인 포유동물과 사람 (Rowley et al., 1971)에서와 마찬가지로 타원형의 세포로서 기저막 위에 위치하며, Sertoli cell에 의해 둘러싸여져 있었다. Ad형 정원세포는 Ap형 정원세포보다 핵과 세포질의 전자밀도가 높은 (Fig. 2a, b). 반면에, B형의 정원세포는 구형의 세포로서 A형 정원세포보다 세포가 크며, Ap형과 마찬가지로 세포질이 밝고, 핵소체가 핵막에 인접하고 있었다 (Fig. 2d).

정모세포의 미세구조적 특징은 본 연구에서 제 1 감수분열 전기의 세사기 (leptotene), 쌍사기 (zygotene), 태사기 (혹은 후사기, pachytene), 복사기 (diplotene) 및 이동기 (diakinesis)와 증기, 후기만을 토대로 하였다. 정모세포는 정원세포보다 크고 구형이며, 더욱이 제 1 정모세포가 제 2 정모세포보다 크다.

특히 제 1 감수분열시의 인의 출현과 소멸에 있어서, 사람의 경우는 제 1 감수분열 전기의 태사기에는 핵소체가 출현하는데 (Solari & Tres, 1970), 본 연구에서는 제 1 감수분열 전기의 세사기부터 인이 출현하여 쌍사기, 태사기, 복사기까지는 여전히 존재하고 있었으며 (Fig. 3a-d) 이동기에는 인이 사라졌다. 이는 제 1 분열 전기 이전의 간기에 이미 DNA 복제 후 상동염색체 사이의 부분적 교차를 위해 핵소체내의 mRNA가 DNA를 주형으로 전사하기 위한 일련의 과정을 준비하기 위한 것으로 여겨진다.

제 1 감수분열 전기의 이동기 세포의 세포질과 내에 특이하게도 유염색질체 (chromatoid body)가 관찰되었다 (Fig. 3e), 그 후 정자변태 과정의 두모기 (Fig. 5b)와 침체기 (Fig. 6a)에서도 관찰되어졌다. 유염색질체는 일반적으로 정자형성의 전기동안에 처음으로 나타나는 조밀하게 염색되는 세포질구조물로서 기능은 잘 알려져 있지는 않다. 유염색질체의 기원에 관한 실험적 증거로서는 Fawcett et al. (1970)은 유염색질체가 정모세포들의 미토콘드리아내에서 발생한다고 제시하였고, Comings & Okada (1972)는 유염색질체가 인으로부터 기원되는 것이라고 제시하고 있는데, 그 실험적 증거로서는 쥐의 경우 정자형성과정 중 태사기와 복사기의 세포질에서 명확하게 나타나며, 핵막과 인접한 곳에 위치하고 있다는 점에서 이들 염색질체가 태사기와 복사기 세포의 인과 유사성이 있다

고 하였다. 본 연구의 결과에 의하면 정모세포발생 단계 뿐만 아니라 정자변태과정의 두모기와 침체기 단계의 정자세포 세포질내에 존재하는 것으로 미루어 보아 정자성숙에 관련한 물질이라 여겨지며, 이에 대한 조직화학적 연구가 선행된다면 보다 나은 정보를 얻을 것이라 여겨진다.

정자변태과정의 전과정을 살펴보면, 관박쥐 (Lee et al., 1992)와 긴날개박쥐 (Son et al., 1995a)는 10기, 물췌수염박쥐 (Son et al., 1997a)는 11기, 그리고 큰발웃수염박쥐 (Son et al., 1995b)는 본 연구에서와 같이 9기로서 가장 짧은데, 이러한 차이는 연구자의 주관적인 견해에 기인하는 것으로 보이나 근본적으로는 종 자체의 다양성과 특이성에 기인하며 (Pastisson & Lacorre, 1996; Ahlrichs, 1998; Franzen, 1998; Spott-Ehlers & Ehlers, 1998), 뿐만 아니라 이는 동면을 위한 에너지의 효율적 이용과 번식조절을 위한 일종의 메카니즘이라 여겨진다.

핵질의 변화에 있어서는, 물췌수염박쥐 (Son et al., 1997a)는 두모전기에서 시작하여 성숙기에 완전한 핵을 형성한 반면에 본 연구에서는 관박쥐 (Lee et al., 1992)의 경우와 마찬가지로 골지후기부터 응축하여 이탈기에 완전한 핵을 형성하였다.

특히 정자꼬리의 형성과 완성시기에 있어서, 관박쥐의 경우는 두모전기에서 형성되기 시작하여 성숙기에 완료되었으며 (Lee et al., 1992), 물췌수염박쥐 (Son et al., 1997a)와 본 연구에서는 골지전기부터 형성하기 시작하여 이탈기에서 완성되었다. 설치류에서도 동일한 양상을 보였는데, 대륙박쥐 (Son & Lee., 1996)와 흰넓적다리 붉은쥐 (Lee, 1996)에서도 골지전기부터 꼬리가 형성되기 시작하여 이탈기에 완전한 정자꼬리를 형성하였다. 이러한 사실로 미루어 보아 정자꼬리의 형성 시기는 초기 정자세포 단계인 골지 단계에서 형성하여 이탈기에 완성되어짐을 시사해 준다.

한편, 본 연구에서도 정자형성세포의 퇴화과정이 관박쥐와 마찬가지로 일어났다. 그러나 관박쥐의 경우는 동면개시시기인 11월부터 3월까지 세르틀리 세포의 식작용의 일환으로 점진적으로 일어난 반면에, 본 연구의 경우에는 동면개시시기 전인 10월부터 이듬해 2월까지 미분화 정자형성 세포들이 세르틀리 세포의

식작용에 의해 포식되어 졌는데 이는 동면을 위한 에너지 효율적 이용과 번식조절을 위한 적응 메카니즘이라 여겨진다.

참 고 문 헌

- Ahlrichs WH: Spermatogenesis and ultrastructure of the spermatozoa of *Seison nebaliae* (Syndermata). *Zoomorphology* 118 : 255-261, 1998.
- Choi BJ, Son SW, Lee JH, Lee KI: Electron microscopic observations on the endoplasmic reticulum and Golgi complex during spermiogenesis in the long fingered bat (*Miniopterus schreibersii fuliginosus* Hodgson). *Korean J Electr Microsc* 28 : 603-613, 1998.
- Comings DE, Okada TA: The Chromatoid body in mouse spermatogenesis: Evidence that it may be formed by the extrusion of nucleolar components¹. *J Ultrastr Res* 39 : 15-23, 1972.
- Fawcett DW, Ito S: The Fine Structure of Bat Spermatozoa. *Am J Anat* 116 : 567-610, 1965.
- Fawcett DW, Eddy E, Phillips DM: Observation on the fine structure and relationships of the chromatoid body in mammalian spermatogenesis. *Biol reprod* 2 : 129-153, 1970.
- Franzen Å: Spermiogenesis, sperm structure and spermatozeugmata in the gymnoleamatus bryozoa *Electra pilosai* (Bryozoa, Gymnolaemata). *Invertebr Reprod Develop* 34 : 55-63, 1998.
- Gustafson AW: Male reproductive patterns in hibernating bats. *J Reprod Fert* 56 : 317-331, 1979.
- Kim EJ, Oh YK: A study on the spermatogenesis and spermatozoa fate in the female reproductive tract of the Korean greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum korai*). *Korean J Electr Microsc* 21 : 14-28, 1991. (Korean)
- 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 schreibersii fuliginosus*). *Korean J Electr Microsc* 29 : 1-10, 1999. (Korean)
- Lee JH: Spermiogenesis in the Korean manchurian field mouse, *Apodemus speiosus peninsulae*. *Korean J Electr Microsc* 26 : 221-233, 1966. (Korean)
- Lee JH, Son SW: Periodic changes of the male reproductive organs and electrophoretic pattern of proteins in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J Electr Microsc* 23 : 30-60, 1993. (Korean)
- Lee JH, Son SW: Sperm storage and disappearance in the reproductive tract of the female Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai* during the hibernation. *Korean J Electr Microsc* 30 : 21-44, 2000. (Korean)
- Lee JH, Choi GJ, Son SW: Spermiogenesis in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J Electr Microsc* 22 : 97-117, 1992. (Korean)
- Môri T, Uchida TA: Sperm storage in the reproductive tract of the female Japanese long fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *J Reprod Fert* 58 : 429-433, 1980.
- Môri T, Uchida TA: Sperm storage in the oviduct of the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 27 : 47-53, 1982.
- Môri 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 tube-nosed bat, *Murina leucogaster*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 34 : 1-22, 1989.
- Oh YK, Mri T, Uchida TA: Spermiogenesis in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 29 : 203-209, 1985a.
- Oh YK, Mri T, Uchida TA: Prolonged survival of the Graafian follicle and fertilization in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *J Reprod Fert* 73 : 121-126, 1985b.
- Pastisson C, Lacorre I: Fine structure of the germination cells during the spermiogenesis of *Arion rufus* (Mollusca, Pulmonate Gastropoda). *Mol Reprod Devel* 43 : 484-494, 1996.
- Racey PA, Potts DM: Relationship between stored spermatozoa and the uterine epithelium in the pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *J Reprod Fert* 22 : 57-63, 1970.
- Rowley MJ, Bertin JD, Heller CG: The ultrastructure of four types of human spermatogonia. *Z. Zellforsch.* 112 : 139-157, 1971.
- Solari AJ, Tres LL: Ultrastructure and histochemistry of the nucleus during male meiotic prophase. In: *The human testis*. E. Rosenberg and Paulsen CA, eds., Plenum Press, New York, London, pp. 127-138, 1970.
- Son SW, Lee JH: Spermiogenesis in the red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*. *Korean J Biomed Lab*

- Sci 2 : 57-69, 1996. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Cheon HM: Spermiogenesis in the Korean Daubenton's Bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*). Dev Reprod 1 : 9-24, 1997a. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Choi BJ: Morphological changes of Golgi apparatus during spermiogenesis in the long fingered bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. Dev Reprod 1 : 133-139, 1997b. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Choi BJ, Shin WJ: Spermiogenesis in the long fingered bat (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*). Korean J Zool 38 : 405-416, 1995a. (Korean)
- Son SW, Lee JH, Shin WJ, Choi BJ: Spermiogenesis in the large footed bat, *Myotis macrodactylus*, Korean J Elect Microsc 25 : 96-110, 1995b. (Korean)
- Spott Ehlers B, Ehlers U: Characteristics of spermiogenesis and mature spermatozoa in *Gyratrix hermaphroditus* (Platyhelminthes, Rhabdocoela, Kalyptorhynchia). Zoolmorphol 118 : 169-176, 1998.
- Uchida TA, Mōri T: Electron microscope studies on the fine structure of the germ cells in Chiroptera. I. Spermiogenesis in some bats and notes on its phylogenetic significance. Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ 26 : 399-418, 1972.
- Uchida TA, Mōri T: Electron microscopic analysis of the mechanism of fertilization in Chiroptera. I. Acrosomal reaction and consequence to death of the sperm in the Japanese long fingered bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ 28 : 177-184, 1974.
- Wimsatt WA, Krutzsch PA, Napolitano L: Studies on sperm survival mechanism in the female reproductive tract of

hibernating bats. I. Cytology and ultrastructure of intra-uterine spermatozoa in *Myotis lucifugus*. Am J Anat 119 : 25-60, 1966.

< 국문초록 >

큰발웃수염박쥐 (*Myotis macrodactylus*)의 세정관 정상 피의 분화과정과 미세구조적 특징들은 알아보기 위하여 광학 및 전자현미경을 이용하여 조사하였다. 정자형성 과정은 4월부터 9월까지로 나타났다. 정자형성세포의 미세 구조적 특징에 있어서, A형 (Ad, Ap)의 정원세포는 기저막 위에 위치하며, Sertoli cell에 의해 둘러싸여져 있고, 대부분의 세포는 타원형이다. Ad형은 Ap형 보다 핵과 세포질의 전자밀도가 높은 것이 특징적인 반면에, B형의 정원세포는 구형의 세포로서 A형 정원세포 보다 세포가 크며, Ap형과 마찬가지로 세포질이 밝고, 거의 핵소체가 핵막에 인접되어 있다. 정모세포는 크고 구형이지만, 제 1 정모세포가 제 2 정모세포보다 다소 크다. 정자변태는 골지, 두모, 침체, 성숙 및 이탈기로 구분하였고, 세포구조물의 특징들에 의해 각각 전·후기로 다시 세분하여 전과정을 9(기)로 나누었다. 핵질의 변화는 골지후기부터 서서히 응축하기 시작하여, 이탈기에서 완전한 핵을 형성하였다. 정자꼬리의 형성시기는 골지전기에서 형성하기 시작하여 이탈기에서 완성되었다. 동면직전 10월부터 동면기 (11월, 12월, 이듬해 1, 2, 3월)까지는 정자형성 세포의 퇴화과정이 일어났다. 즉 미분화 정자형성 세포들은 세르톨리 세포의 식작용에 의해 포식되어 갔는데 이는 동면을 위한 에너지 효율적 이용과 번식조건을 위한 적응 메커니즘이라 여겨진다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1 (a-f).** Light micrographs showing the cell differentiation of the seminiferous epithelium in *Myotis macroductylus* by monthly. Spermatocytogenesis occurred from March to June, and spermiogenesis was from July to September. Especially, the degeneration of spermatogenic cells have begun at October and finished at March. Ad and Ap, dark and pale type of spermatogonia; B, B type of spermatogonium; Bl, basal lamina; L, lumen; Lf, lipofuscin; Ps, primary spermatocyte; Se, Sertoli cell; St, spermatid; ◀, degenerating spermatogenic cells. (a, March sample; b, May sample; c, July sample; d, September sample; e, October sample; f, January sample). All scale bars = 20 μm .
- Fig. 2 (a-d).** Electron micrographs showing the types of Ad (Fig. 2a), Ap (Fig. 2b), intermediate (Fig. 2c) and B (Fig. 2d) spermatogonia. Note the A types of spermatogonia were applied to the basal lamina, and surrounded by Sertoli cells. The nucleolus appears as a coarse and touches the nuclear membrane (Fig. 2a, 2b). The electron dense granule was located in near the nuclear membrane (Fig. 2c, Inset). By comparison with other types of spermatogonia, the cell and nucleus of B type of spermatogonium is larger than A types of spermatogonia. Bl, basal lamina; M, mitochondria; N, nucleus; No, nucleolus; Se, Sertoli cell; sER, smooth endoplasmic reticulum. ◀, electron dense granule. All scale bars = 2 μm , Inset = 0.5 μm .
- Fig. 3 (a-h).** Electron micrographs showing the leptotene (Fig. 3a), zygotene (Fig. 3b), pachytene (Fig. 3c), diplotene (Fig. 3d), diakinesis (Fig. 3e) stages in prophase (Fig. 3f), metaphase (Fig. 3g) and anaphase (Fig. 3h) of meiosis I. The nuclei of primary spermatocytes was oval. The changes of karyoplasm was continually condensed form leptotene to diakinesis, and the mitochondria show widened spaces in the cytoplasm. Note the nucleoli of prophase during meiosis has disappeared from diakinesis stage (Fig. 3e). C, centriole; Cb, chromatoid body; Chr, chromosome; M, mitochondria; Mt, microtubule; N, nucleus; No, nucleolus; Nm, nuclear membrane; No, nucleolus; sER, smooth endoplasmic reticulum. ◀, chromatid. All scale bars = 2 μm .
- Fig. 4 (a-b).** Electron micrographs showing the early (Fig. 4a) and late (Fig. 4b) Golgi phase. A vacuolization of the mitochondria (Fig. 4a, b) is seen in the cytoplasm of early round spermatids than primary spermatocyte development. The spermatid contains conspicuous Golgi apparatus and proacrosomal vesicles (Fig. 4a, arrowheads). Smooth endoplasmic reticulum (arrows) is abundant, but rough endoplasmic reticulum is rare. Note the large acrosomal vesicles (arrowheads) were not fused. G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus. All scale bars = 2 μm .
- Fig. 5 (a-b).** Electron micrographs showing the early (Fig. 5a) and late cap (Fig. 5b) phases. Note the acrosomal vesicles fused with nuclear envelope (Fig. 5a), and dispersed toward the centriolar pole of the nucleus (Fig. 5b). Ag, acrosomal granule; G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus; Se, Sertoli cell; sER, smooth endoplasmic reticulum. ◀, acrosomal vesicle. All scale bars = 2 μm .
- Fig. 6 (a-b).** Electron micrographs showing the early (Fig. 6a) and late (Fig. 6a) acrosomal phases. Note the appearance of manchette (small arrows) in early acrosomal phase and nuclear ring (large arrows), elongating nucleus and condensation of cylindrical chromatin granules of nucleus in late acrosomal phase. A, acrosome; M, mitochondria; N, nucleus; Se, Sertoli cell. All scale bars = 2 μm .
- Fig. 7.** Electron micrograph showing the spermatid of maturation phase. Nuclear ring is moved to the basal plate of nucleus. Note the condensation of chromatin granules and the more decrease of the volume of spermatid nucleus and cytoplasm than acrosomal phases. A, acrosome; M, mitochondria; N, nucleus; Se, Sertoli cell. ←, nuclear ring. Scale bar = 2 μm .
- Fig. 8.** Electron micrograph showing the spermiation phases. Note the sperm head surrounded by cytoplasm of Sertoli cells (arrowheads; early-spermiation phase) or the matured sperm (large asterisks; late-spermiation phase) just before the spermiation from the cytoplasm of Sertoli cell. L, lumen; N, nucleus; Se, Sertoli cell. Scale bar = 2 μm .
- Fig. 9 (a-b).** Electron micrographs showing the early round spermatid (Fig. 10a) and mature sperm (Fig. 10b). Note the sperm tail began to be develop in the early round spermatid and completed at late spermiation phase. A, acrosome; A, acrosome; Ax, axoneme; C, centriole; L, lumen; M, mitochondria; N, nucleus; ←, intercellular bridge. All scale bars = 2 μm .













