

고추잠자리 精子完成의 電子顯微鏡的 研究

白 景 基·崔 春 根·李 國 範

(延世大·理工大·生物學科)

An Electron Microscopy of Spermiogenesis in the Dragonfly, *Crocothemis servilia* Drury

Kyong Ki Paik, Choon Keun Choi and Kuk Bum Lee

(Dept. of Biology, Yonsei University)

(1972. 8. 30 수락)

ABSTRACT

Ultrastructures of spermiogenesis in other invertebrates were investigated by several workers (Anderson, et al., 1967; Bloch, et al., 1964; Christen, 1961; Gatenby, et al., 1959; Paik, et al., 1968; Silveira, 1964; Yasuzumi, 1957) but spermiogenesis of dragonfly has not been reported previously. Testes and vas deferentia of the Korean dragonfly, *Crocothemis servilia*, were used for electron microscopic study of spermiogenesis.

Materials were prefixed for 1-2 hours at 3°C in 1.25% glutaraldehyde buffered to pH 7.2 with 0.2M sodium cacodylate buffer. Fixed tissue was washed twice in 0.2M cacodylate buffer and was subsequently postfixed for 2 hours at 3°C in 1% osmium tetroxide buffered to pH 7.2 with 0.4M sodium cacodylate buffer solution. Specimens were dehydrated in graded ethyl alcohol, and finally embedded in epoxy Epon resin. Thin sections prepared from all the blocks were doubly stained; first in uranyl acetate and then in lead citrate. All thin sections were examined with a Hitachi HS-7S electron microscope. The results of this study were summarized as follows.

1. Along the condensation of chromatin in nucleus, the shape of nucleus was changed from spherical shape to ellipse and cone cell type.
2. During the elongation of nucleus and the migration of cytoplasm, the nucleus removed to the one side of spermatid and began to invaginate from the posterior portion of nucleus.
3. There are ring centrioles in invaginated portion and axial filaments

derived from centriole extend to the tail through the tailward half of spermatid.

4. In the cross sections the axial filament consisted of a central sheath, a central fibril, and 9 peripheral doublets.

緒論

觀察結果

無脊椎動物의 精子完成에 관한 研究는 이미 여러 학자들에 의하여 행해진 바 있다. 即 Bloch 등(1964)은 베뚜기를 材料로 하여, Kaye 등(1961), Lee(1964), Lee, Don 등(1967), Moses(1961), Yasuzumi 등(1966)은 개새에서, Yasuzumi(1960)는 게를, Silverira 등(1964), Christen(1961) 등은 扁形動物에서, Anderson 등(1967)과 Gatenby 등(1959)은 環形動物, Shoup(1967)는 초파리, Paik 등(1969)은 肝豆石托마를 材料로 각기 다른 動物들의 精子形成과 完成過程에서 일어나는 약간의 差異點들에 대하여 연구보고한 바 있으나 고추잠자리(*Crocothemis servilia Drury*)의 精子完成에 관해서는 문헌상으로 찾아볼 수 없었으며 다른 無脊椎動物에서 볼수 없던 精細胞의 특수한 形태적인 分化相을 발견할 수 있었기에 연구결과를 보고하는 바이다.

實驗材料 및 方法

實驗에 사용된 재료는 韓國產 고추잠자리(*Crocothemis servilia*)로서 腹部尾端兩側에 존재하는 精巢와 輸精管을 解剖顯微鏡下에서 떼어내어 0.2M sodium cacodylate buffer 溶液으로 pH를 7.2로 조정한 1.25% glutaraldehyde 溶液에서 1~2時間 2~3°C 冷室에서 前固定하였으며 상기 緩衝液으로 洗滌한 다음 1% 四酸化오스미움酸(pH 7.2)으로 2시간 後固定하였다. 二重固定된 試料를 ethanol 系列로서 脱水하고 propylene oxide로서 치환시킨 후 Epon 812 混合液으로 包埋한 것을 MT-2型 Porter Blum microtome과 JUM ultramicrotome을 사용하여 超薄切片을 만들었으며 切片을 水酸化鉛과 醋酸우라닐로서 二重染色한 후 HITACHI HU-11E型과 HS-7S型 電子顯微鏡으로 관찰하였다.

A. 精細胞의 構造

成熟分裂을 완성한 初期의 精細胞들은 모양이 일정치 않은 不整形으로 서로 치밀하게 밀집되어 있어 細胞間 物質은 거의 찾아볼 수 없으며 長徑이 約 4.5μ, 短徑이 約 2.6μ 정도의 크기이며 球形의 核(直徑 約 2.1μ)을 갖고 있다. 核은 電子密度가 짙게 나타나는 직경 約 0.47μ의 仁을 갖고 있으며 核內에는 均一하게 분포되어 있는 5Å 정도의 斑點狀의 染色質이 존재하고 있다(Fig.1).

核에 비하여 비교적 소량인 細胞質에는 유리 ribosome 들이 분산되어 있으며 層板狀의 核周體가 뚜렷한 구조를 하고 있고(Figs. 1, 3). 小胞體는 극히 드물어서 成熟過程이 좀더 진행된 精細胞에서야 滑面小胞體의 상태로서 細胞質一端에 나타나고 있을 뿐이다(Fig.1). 中心體는 核의 一極에 존재하고 있으며(Fig.2) 原形質膜은 초기에는 뚜렷한 二重膜 構造를 하고 있으나 과정이 진행되면서 細胞全體가 길게 신장되므로서(Fig.2) 原形質膜 構造는 不分明하게 나타나고 있다가 核質의 密度가 짙어지며 顆粒狀으로 변해감에 따라 原形質膜의 구조가 다시 뚜렷해지고 있다(Fig.3).

B. 核質의 分化

核質의 變化는 精子完成過程에서 가장 뚜렷하게 나타나고 있다. 精細胞 初期에는 電子密度가 낮으며 均一分布相을 이루고 있던 染色質은 細胞가 漸次로 伸長되면서 核膜이 消失되며(Fig. 2) 核質은 濃縮되기始作하여 電子密度가 높은 染色質로 變해가며 이때에 가서는 消失되었던 核膜도 膜構造를 다시 갖게되어 核은 細胞의 一極端으로 移動하게 된다(Fig.3). 이때까지의 核의 크기는 直徑 約 2μ의 球形이었으나 細胞의 上端으로 移動한 核은 核質이 顆粒狀의 染色質로 變하게 되며 核의 形態도 球形에서 橢圓形으로 變하여 길이 約 2.6μ, 幅이 約 1.7μ으로 상당히 커지며 核의 長軸尾部에서陷入現象이 일어나陷入된 部位에도 球形에 가까운 中心粒(ring centriole)이 存在하게 되며

그것에 連해서 軸系가 나타나고 있어 마치 괄대기 모양을 하고 있다(Fig. 4). 楕圓形이던 核의 모양은 길이 約 3.8μ , 幅이 約 1.5μ 程度의 圓錐形의 核으로 分化되며(Fig. 5), 核質은 繼續해서 約 45\AA 程度의 顆粒形의 染色質로 存在하고 있지만 精子의 完成段階에 들어가면 核質은 完全히 濃縮된 狀態의 omoiphilic material로 되어 精子의 頭部를 形成하게 된다(Figs. 7, 8).

C. 細胞質의 分化 및 精子의 構造

核質의 分化와 더불어 細胞質의 變化도 일어나게 되는데 먼저 細胞를 둘러싸고 있는 두께 約 30\AA 程度의 原形質膜은 精細胞 初期에는 膜構造가 뚜렷하다가 染色質이 濃縮되기 始作하면서 膜이 伸長되어 二重膜의 構造가 없어졌다가 顆粒狀의 染色質이 생기면서부터 다시 膜이 뚜렷해 진다(Figs. 1, 2, 3). 核이 細胞의 一極端으로 치우치며 核長軸의 尾部에서 陷入이 일어나는 段階가 되면 細胞質의 陷入部位에는 中心體에서 分離된 中心小粒이 자리잡게 되며 中心粒에서 分化된 軸系가 中終片과 尾部를 通하여 鞭毛의 끝까지 뻗게 된다(Figs. 4, 5). 中心粒과 軸系를 中心으로兩側으로 層板狀의 構造를 하고 있는 滑面小胞體와 極少量의 미토콘드리아가 空胞狀으로 變形된 狀態로 存在하고 있으며 細胞質全般에 걸쳐서 遊離타이보좀들이 多數分布하고 있다(Figs. 5, 9). 끝지體는 初期 精細胞 때에는 空胞狀과 層板狀構造를 하고 細胞質內核部近에 나타나다가 精子完成段階에 가서는 核長軸前端에서 尖體顆粒(acrosomal granule) 狀態가 되었다가(Fig. 4) 나중에 尖體를 形成하게 된다. 軸系의 橫斷面構造를 보면 中央에 圓形班點狀의 中心纖維가 있으며 그것을 둘러싸고 正圓形의 9個의 突起를 가진 環即 中心鞘이 있으며 中終片과 尾部에서는 약간의 細胞質이 存在하고 있을 뿐이다(Fig. 10). 核質과 細胞質의 分化結果精子完成의 最後過程을 見게되어 尖體, 核, 中終片을 둘러싸고 있는 細胞質의 減少를 隨伴하게 되는데(Figs. 8, 9) 完成된 精子의 頭部前端에는 acrosomal cap에 依해서 見여 있는데 尖體의 앞部分은 뾰족하여 길이가 約 0.8μ , 幅이 約 170\AA 程度로서 核質의 電子密度보다는 조금 낮은 密度로서 뚜렷이 나타나고 있다(Fig. 9).

acrosomal cap은 또한 겉으로 看은 原形質膜에 의해서 싸여 있으나 그 細胞質內에는 特記할 만한 細胞質性 物質은 찾아볼 수 없었다.

論 議

고추잠자리(*Crocothemis servilia*)의 核質 分化過程에서 일어나는 染色質의 特殊한 濃縮現象은 다른 無脊椎動物에서 아직 論議되지는 않았다. Silveira 등(1964)은 扁形動物과 Paik 등(1969)은 肝디스토마에서 核의 染色質이 分化되는 過程에는 核膜의 消失과 더불어 核의 二重膜內에 非染色性의 隣接囊이 形成되어 核質과 細胞質의 隔離現象이 일어난다고 밝힌바 있으나 고추잠자리의 精細胞에서는 核膜의 消失에 따라 染色質의 濃縮度가 달라지고 있으며 顯著한 細胞의 伸長現象이 일어나는 있으나 核質과 細胞質과의 隔離現象은 觀察되지 않았다. 核의 모양이 球形에서 楕圓形으로, 楕圓形에서 圓錐形으로 變해 가면서 核質에서도 染色質의 濃度나 모양에 顯著한 差異가 나타나고 있음을 他無脊椎動物에서는 볼 수 없던 매우 興味 있는 事實이다. 그러나 Kaye 등(1961), Lee(1964), Moses(1961), Yasuzumi(1966)등이 精子에 鞭毛가 없는 無脊椎動物인 加재에서 精子의 끄리가 생기지 않는 特殊한 構造的 變化像을 밝히기는 했으나 精子에 뼈모가 있는 다른 無脊椎動物에서의 變化像는 中心粒, 미토콘드리아의 集團尖體 등에서 뚜렷한 差異點을 나타내고 있다. 한편 尖體의 成形에 있어서, Silveira(1964) 등은 扁形動物에서는 尖體가 形成될 先端部位에 鞭毛가 位置한다고 말하였으며, Paik 등(1969)은 肝디스토마에서 많은 囊狀으로構成된 끝지體에 依하여 精子完成最後期에 尖體가 形成된다고 하였으며 Lee 등(1967)은 *Aspiculuris tetraphtera*에서는 尖體와 비슷한 假足을 形成한다고 하였으나 고추잠자리에서는 肝디스토마에서와 類似하게 먼저 核部近에 있던 層板狀의 끝지體가 過程이進行되어 核이 細胞의 一極端으로 移動하는 時期에 核의 先端으로 移動을 하여 dense body인 尖體顆粒으로 되었다가 尖體를 形成하는 것 같다.

Silveira 등(1964)은 4個의 中心小粒 中에서 2個가 각기 2個의鞭毛를 만든다고 하였으며 Anderson 등(1967)은 *Lumbricus terrestris*에 있어서 2個의 中心粒 중 末端 中心粒으로부터 軸系가 放出된다고 報告하였고 Paik 등(1969)은 肝디스토마의 鞭毛는 班點狀의 미토콘드리아에 감싸여 核 및 細胞質의 伸長과 더불어 中心粒으로부터 軸系가 形成된다고 밝힌바 있다. 고추잠자리에서도 Figs. 4, 5에서 보는 바와 같이 中心粒에서부터 軸系가 形成되는 것 만은 틀림이 없으나 中

心粒에서 어떤 機作에 依해서 軸系가 形成되는지에 대해서는 細胞生理學의 研究가 더 必要할 것으로 생각된다.

Postwald 등(1966)은 *Spirorbis*에서 미토콘드리아가 融合되어 中心粒子를 둘러싸는 4개의 chondriosphere를 形成한다고 하였으며 Anderson 등(1967)은 *Lumbricus terrestris*에서 6개의 미토콘드리아가 集合되어 六角의 틀을 形成한다고 하였고 Silvera 등(1964)은 扁形動物에서 桿狀의 미토콘드리아가 核과 平行하게 位置하며 그 속에는 傾斜진 構이 있다고 말한바 있으며, 肝디스토마에서는 5~6個의 미토콘드리아가 融合되어 終端面에서 斑點狀의 橫紋을 가진 圓錐形으로 나타나며 軸系를 둘러싸고 있다고 報告된 바 있으나 *Crocothemis servilia*의 精細胞에서는 軸系의 兩側으로 構이 뚜렷하지 않은 空胞狀의 變形된 미토콘드리아가 나타나고 있음 뿐이다. 完成된 精子에 있어서 肝디스토마에서는 先端部 가까이에 原形質膜에 陷入된 部位의 圓形고리 모양인 核環部가 形成된다는 報告가 있었는데, Anderson 등(1967), Gatenby 등(1959), Lee 등(1967)은 각기 다른 동물에서 이 核環部는 中心粒에서부터 起因되는 것이라고 밝혔으며, Silveira(1964)는 原形質膜 바로 內面의 外皮質로 부터 核環部가 形成된다고 하였으나 고추잠자리의 精子에서는 고리모양의 核環部는 發見할 수 없었으며 頭部를 싸고 있는 薄은 原形質膜만이 存在하고 있었다.

要 約

고추잠자리(*Crocothemis servilia* Drury)의 精子完成過程을 宪明하기 爲하여 本研究에 着手한 바, 다른 無脊椎動物의 精子完成過程에서 이미 밝혀진 構造들과 比較해 가면서 特殊한 分化相을 觀察한 結果, 첫째 核의 染色質이 漸次 濃縮되기 始作함에 따라서 核의 모양도 球形에서 楕圓形으로, 楕圓形에서 圓錐形으로 變하였으며 둘째로 核이 細胞의 一極端으로 移動하고 核의 尾部가 陷入되어 셋째 中心粒이 核 陷入部位에 位置하여 여기에서부터 軸系가 形成된다. 넷째는 골지體에서 起因된 尖體顆粒은 核의 先端으로 移動되어 결국 尖體를 形成하게 된다.

文 獻

Anderson, W. A., A. Weissman and R. A.

- Ellis, 1967. Cytodifferentiation during spermiogenesis in *Lumbricus terrestris*. *J. Cell Biol.* 32: 11-26.
- Balinsky, B. I., 1965. An Introduction to Embryology. Chapt. 3, Spermatogenesis. p.41-48, W. B. Saunders Co.
- Bloch, D.P. and S. D. Brack, 1964. Evidence for the cytoplasmic synthesis of nuclear histone during spermiogenesis in the grasshopper, *Chortophaga viridifasciata* (DE GEER). *J. Cell Biol.* 22: 327-340.
- Bradke & Don Lee, 1963. Special feature of spermatogenesis in *Lumbricus terrestris*. *Anat. Rec.* 13: 145-360.
- Christen, A. L., 1961. Fine structure of an unusual spermatozoa in the flatworm (plaziostonium). *Biol. Bull.* 121: 416.
- Gatenby, J. Bronte and A. S. Dalton, 1959. Spermiogenesis in *Lumbricus herculeus*. An electron microscope study. *J. biophys. biochem. Cytol.* 6: 1.
- Kaye, G. L., G. D. Pappas, G. Yasuzumi, and H. Yamamoto, 1961. The distribution and form of the endoplasmic reticulum during spermatogenesis in the crayfish, *Cambaroide japonicus*. *Z. Zellforsch.* 53: 159-171.
- Lee, K. J., 1964. The fine structure of the crayfish mature sperm. *J. Nara Med. Assoc.* 15: 243-250.
- Lee, Don et al., 1967. The structure and development of the spermatozoon in *Aspicularisis tetraptera* (nematoda). *J. Cell Sci.* 2: 537-544.
- Moses, M. J., 1961. Spermiogenesis in the crayfish (*Procambarius clarkii*). I. Structural characterization of the mature sperm. *J. biophys. biochem. Cytol.* 9: 222-228.
- Paik, K. K. et al., 1969. An electron micro-

- cope of spermiogenesis in *Clonorchis sinensis*. *Kor. J. Elec.* **1**(1):35-42.
- Postwald, Herbert, E., 1966. Blebbing of the nuclear envelope during spermiogenesis in *Spirobis morchi*. *Anat. Rec.* **154**: 403.
- Shoup J. R., 1967. Spermatogenesis in wild type and in a male sterility mutant of *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* **32**: 663-666.
- Silveira, M. and K. P. Peter, 1964. The spermatozooids of flatworm and their microtubular systems. *Protoplasm* **59**: 240.
- Yasuzumi, G., 1960. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. VII. Spermatid differentiation in the crab, *Eriocheir japonicus*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**: 73-78.
- Yasuzumi, G. and Lee, K.J., 1966. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. XVI. The microtubular structure and of thiamine pyrophosphatase activity in premature sperm of the Japanese crayfish. *Zeitsch. Zellforsch.* **73**: 384-404.

Explanation of Figures

Fig. 1. Early spermatids compacted together very tightly. The spermatid nucleoplasm is homogeneous and a low density. $\times 15,000$

Fig. 2. Electron micrograph of a elongated spermatid. Nuclear envelope is disappeared and protoplasmic double membrane is obscure. $\times 18,000$

Fig. 3. Electron micrograph of an advanced spermatid, showing the condensation of the nucleoplasm. Nucleus begins to transfer into the one portion of the cell. $\times 20,000$

Figs. 4,5. Early differentiation of spermatozoon. While the nucleus is elongated, the chromatin is condensed into the granular shape. One ring centriole and axial filament observed in the invaginated portion of the nucleus. $\times 23,000$,

$\times 23,000$

Figs. 6,7. Vertical section of an advanced spermatids. Granular shaped chromatin changed gradually into a high density. $\times 18,000, \times 23,000$

Figs. 8,9. In the longitudinal section of late stage mitochondria are fused beside axial filament. The nucleus has condensed into a flat dense disk and the small acrosome observed in the tip of the sperm nucleus. $\times 18,000, \times 18,000$

Fig. 10. Cross section of head part and tailward half of the head. Nucleus, plasma membrane and axial filaments are observed. Axial filament consists of central fibril at the center, central sheath surrounding central, and 9 pairs of peripheral microtubules. $\times 18,000$

Abbreviations

Ag: Acrosomal granule
 Ax: Axial filament
 C: Centrosome
 Cen: Centriole
 cf: Central filament
 ch: Chromatin
 Er: Endoplasmic reticulum

G: Golgi complex
 M: Mitochondria
 N: Nucleus
 Nu: Nucleolus
 pm: Plasma membrane
 pt: Perimicrotubule
 ri: Ribosome









