

Seminiferous Epithelium Cycle in the Korea Squirrel, *Tamias sibiricus*

Tae-Dong Jung and Jung-Hun Lee[†]

Division of Biology and Chemistry, College of Natural Sciences, Kyungnam University,
Kyungnam 631-701, Korea

The annual changes in testis weight and diameter of seminiferous tubules, and the seminiferous epithelium cycle of *Tamias sibiricus* were studied by light microscope. Testis weight and diameter of seminiferous tubule are significantly increased from January to July, and decreased rapidly to the size from August to December. Spermatogenesis occurs from January to July, and spermatocytogenesis are produced from August to December. The cycle of the seminiferous epithelium was divided into 12 stages during the development of spermatids as a changes of the nucleus and acrosomal structure, presence and/or absence of residual body, appearance and/or absence of sperm tail and meiotic figure and spermiation. The dark type spermatogonia (Ad) are appeared in all stages (I~XII), and the spermatids of step 10 are observed at I, II, X and XII stages. The spermatids of step 11 are appeared in III and IV stages, only the step 12 spermatid observed in V stage.

Key Words: Seminiferous epithelium cycle, Sperm, Spermatogenesis, *Tamias sibiricus*

서 론

다람쥐는 설치목 (Order Rodentia), 청설모과 (Family Sciuridae), 다람쥐속 (Genus *Tamias*)에 속하며, 세계적으로 아시아 중·북부와 북미에 서식 분포하고 있다. 한반도에는 청설모속 (Genus *Sciurus*) 청설모 (*Sciurus vulgaris*), 다람쥐속 (Genus *Tamias*) 다람쥐 (*Tamias sibiricus*), 하늘다람쥐속 (Genus *Pteromys*) 하늘다람쥐 (*Pteromys volans*) 3속 3종이 자연적으로 분포하고 있는 것으로 보고되어져 있다 (Corbet & Hill, 1991). 청설모과 다람쥐는 다른 동면 동물들과 같이 늦가을부터 초봄까지 동면하며, 봄부터 초가을에 걸쳐 활동을 한다 (Bushberg & Holmes, 1985). 다람쥐는 동면 동안에는 정상적인 체온을 벗어나 변동하는 특성을 보이는데, 이 기간 동안 주기적으로 둔마상태 (torpor)를 겪게 되고, 이러한 둔마상태는 개체마다 다르게 나타나며, 정자형성의 분화시기에 많은 영향을 미친다 (Barnes et al., 1986).

정소의 성장은 세정관 상피의 분화에 밀접한 관련을 가지며, 정소의 성장이 활발한 시기에는 정자형성 과정의 전 단계들이 세정관내에 관찰된다. 한편, 야생의 경우 정소의 성

장은 개체마다 차이를 나타낼 뿐만 아니라 사육의 경우에도 조금씩 변화를 보인다 (Foreman, 1997).

세정관 상피의 주기는 연속하는 상피에 나타나는 성숙변화의 과정을 의미하는 것으로, 포유동물에서 세정관 상피의 주기를 구분하기 위하여 일반적인 두 가지 방법을 사용한다. 첫 번째로는 정자세포 핵의 형태, 성숙정자 위치, 감수분열과 정자변태 등을 기초로 하여 구분하는 것과, 두 번째 방법은 정자세포 핵과 첨체 (acrosome)의 형태적 변화에 기초를 두고 구분하는 것이 있는데, 특히 정자세포 첨체의 발달변화는 세정관 상피의 주기를 구분하는데 많이 사용된다 (Adachi et al., 1992; Kurohmaru et al., 1998).

한편, 우리나라에 서식하고 있는 청설모과에 속하는 종들의 생식에 관한 연구는 아직 보고된 바 없으므로 본 연구에서는 다람쥐 (*Tamias sibiricus*)의 월별변화에 따른 정소와 세정관의 크기변화 및 세정관 상피의 주기를 알아보기 위하여 시도하였다.

재료 및 방법

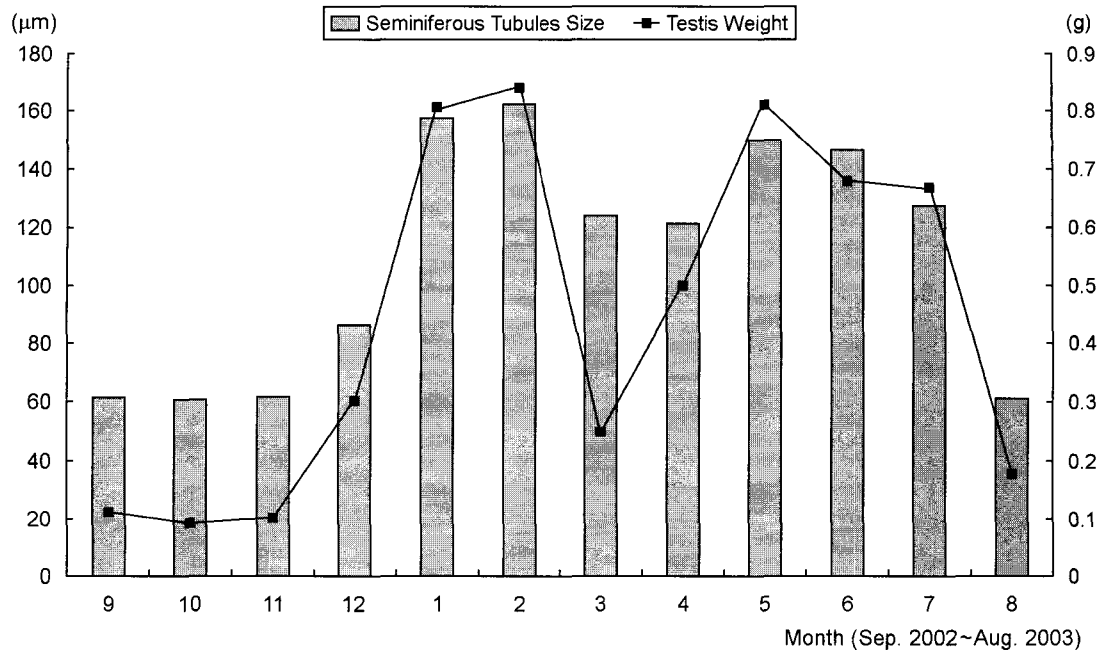
본 연구는 2002년 9월부터 2003년 8월까지 강원도 고성군 일대에서 서식하고 있는 다람쥐 (*Tamias sibiricus*) 성체 수컷들로서, 월별로 2개체씩 총 24마리를 실험재료로 하였다.

월별로 채집된 다람쥐들은 ethyl ether로 마취시킨 후 각 개체의 정소조직을 적출하여 3% glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millong's buffer)로 2시간 전고정 한 후 동일한 완충액 (pH

* 논문 접수: 2004년 7월 14일
수정재접수: 2004년 8월 16일

[†]Corresponding author: Jung-Hun Lee, Division of Biology and Chemistry, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Kyungnam 631-701, Korea. Tel: 82-55-249-2243, Fax: 82-55-249-6504
e-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

Table 1. Annual changes of testis weight and seminiferous tubule diameter in *Tarmias sibiricus*



Left y-axis indicates the size of diameter of the seminiferous tubule, and right y-axis indicates the testis weight.

7.4, Millong's buffer)으로 3회 세척한 뒤 1.33% OsO₄ (pH 7.4, Millong's buffer) 2시간 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액으로 세척 한 다음 acetone 농도 상승 순 (60~100%)으로 탈수하였고, 탈수가 끝난 조직은 Epon 812 혼합액으로 포매하였다. 포매가 끝난 조직편을 ultramicrotome (MT-6000, Sorvall, Dupont)을 사용하여 정소와 세정관의 크기 및 세정관 상피의 분화와 주기를 알아보기 위하여 이들 조직편들을 400 nm의 두께로 절편을 제작한 다음 0.5% toluidine용액으로 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 월별에 따른 정소무게와 세정관 크기

월별에 따른 정소무게는 3월의 실험군 (0.25 g)을 제외하고는 1월부터 7월까지 (1월: 0.8 g; 2월: 0.84 g; 4월: 0.5 g; 5월: 0.81 g; 6월: 0.68 g; 7월: 0.67 g) 높은 수치를 나타내었고, 8월에서 12월까지 (8월: 0.17 g; 9월: 0.11 g; 10월: 0.09 g; 11월: 0.1 g; 12월: 0.3 g) 낮은 수치를 나타내었다. 또한 세정관 직경의 크기변화도 1월부터 7월까지 (1월: 142~172 µm; 2월: 146~178 µm; 3월: 108~140 µm; 4월: 105~140 µm; 5월: 140~65 µm; 6월: 135~160 µm; 7월: 110~140 µm) 높은 수치를 보이는 반면에, 8월부터 12월까지 (8월: 55~70 µm; 9월: 60~64 µm; 10월: 60~64 µm; 11월: 60~65 µm; 12월: 70~100 µm) 낮은 수치를 나타내었다 (Table 1).

2. 월별에 따른 세정관 정상피의 분화

다람쥐의 세정관의 변화와 정상피의 분화는 1월부터 7월까지 세정관의 내강은 열려져 있었으며 정자형성 과정의 전 단계가 관찰된 반면에, 8월부터 12월까지 정모세포발생 단계까지만 관찰되어졌다 (Table 2).

3. 세정관 정상피 주기

세정관 정상피의 분화가 활발한 시기는 1월부터 7월까지이며, 본 연구에서 5월 실험군을 토대로 하여 세정관 정상피 주기를 XII단계로 나눌 수 있었다 (Figs. 1-13).

1) 단계 I

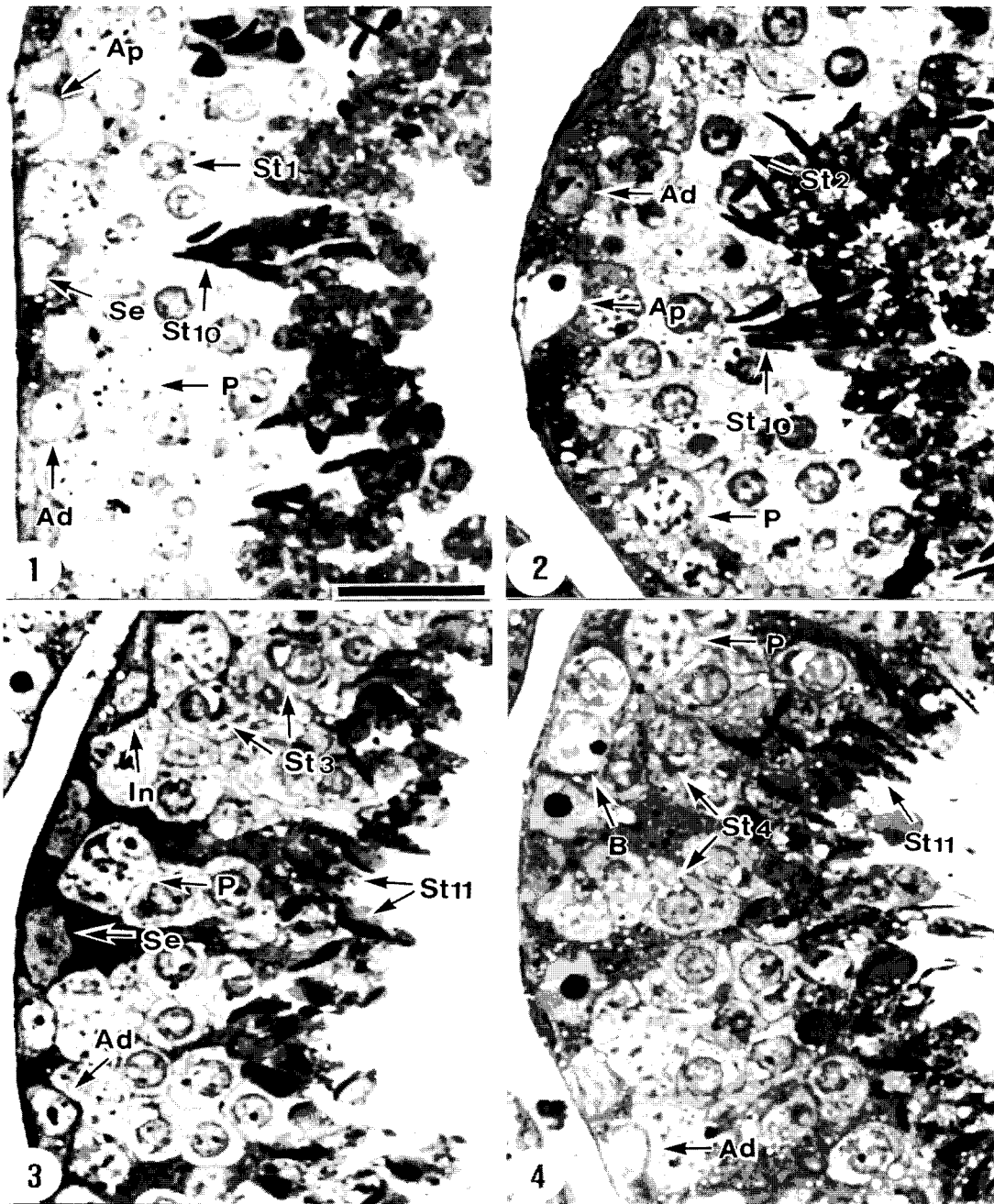
정원세포 (어두운 정원세포: Ad형, dark type; 밝은 정원세포: Ap형, pale type)가 기저막에 인접하고 있었으며, 제1정모세포의 후사기 (pachytene)를 비롯하여, 골지기의 초기단계인 정자세포 (St₁)와 성숙중인 정자세포 (St₁₀)들이 관찰되었다 (Fig. 1).

2) 단계 II

세정관 내에는 I단계와 마찬가지로 Ad형과 Ap형의 정원세포들이 기저막에 가까이 위치하고 있었고, 제1정모세포의 후사기 및 다수의 골지기의 중기단계인 정자세포 (St₂)와 성숙중의 정자세포 (St₁₀)들이 관찰되었다 (Fig. 2).

3) 단계 III

중간 정원세포 (In형 정원세포: Intermediate spermatogonia)



Figs. 1-12. Light micrographs showing successive stages of spermatogenic cells in the seminiferous tubule of *Tamias sibiricus*. All scale bars = 20 μ m Ad, Ap, In and B, dark, pale, intermediate and B types of spermatogonia; L, leptotene spermatocyte; Z, zygotene spermatocyte; P, pachytene spermatocyte; D, diakinesis spermatocyte; M1, metaphase of meiosis 1; St₁, St₂ and St₃, round spermatids of Golgi phases; St₄, St₅ and St₆, spermatids of cap phases; St₇, St₈ and St₉, spermatids of acrosomal phases; St₁₀ and St₁₁; spermatids of maturation phases; St₁₂, sperm of the spermiation phase.

Fig. 1. Light micrograph of the stage I of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing spermatogonia (Ad and Ap), pachytene spermatocytes (P) and early round spermatid (St₁) and mature spermatids (St₁₀).

Fig. 2. Light micrograph of the stage II of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing spermatogonia (Ad and Ap), pachytene spermatocytes (P) and early round spermatid (St₂) and mature spermatids (St₁₀).

Fig. 3. Light micrograph of the stage III of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) and intermediate (In) types of spermatogonia, pachytene spermatocytes (P) and numerous early round spermatid (St₃) and mature spermatids (St₁₁).

Fig. 4. Light micrograph of the stage IV of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) and B types of spermatogonia, pachytene spermatocytes (P) and numerous early round (St₄) and mature spermatids (St₁₁).

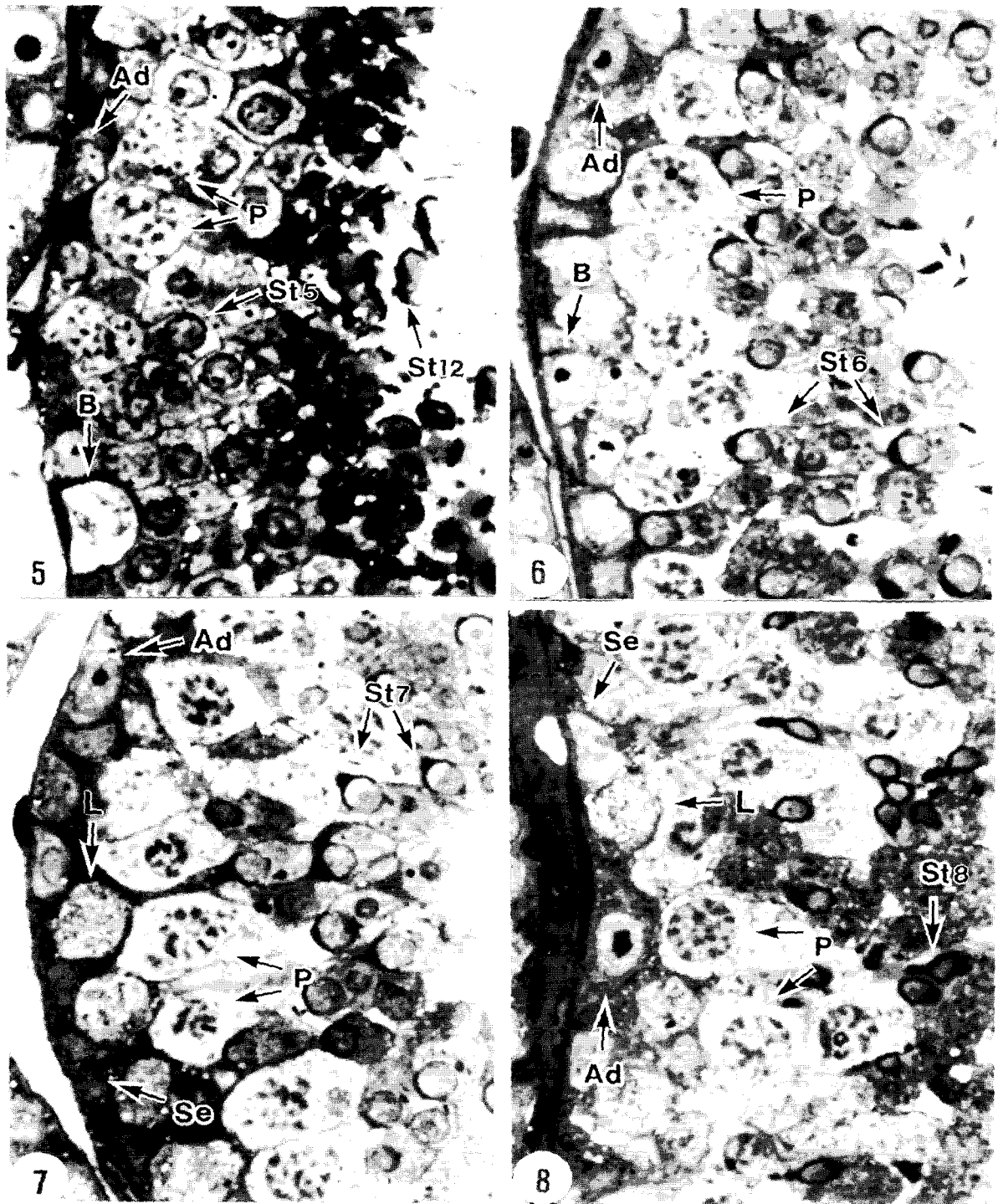


Fig. 5. Light micrograph of the stage V of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) and B types of spermatogonia, pachytene spermatocytes (P) and cap step (St₅) and spermatids of spermiation (St₁₂).

Fig. 6. Light micrograph of the stage VI of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) and B types of spermatogonia, pachytene spermatocytes (P) and spermatid of acrosomal step (St₆).

Fig. 7. Light micrograph of the stage VII of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, leptotene (L) and pachytene spermatocytes (P) and spermatid of acrosomal step (St₇).

Fig. 8. Light micrograph of the stage VIII of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, leptotene (L) and pachytene spermatocytes (P) and elongating spermatids (St₈).

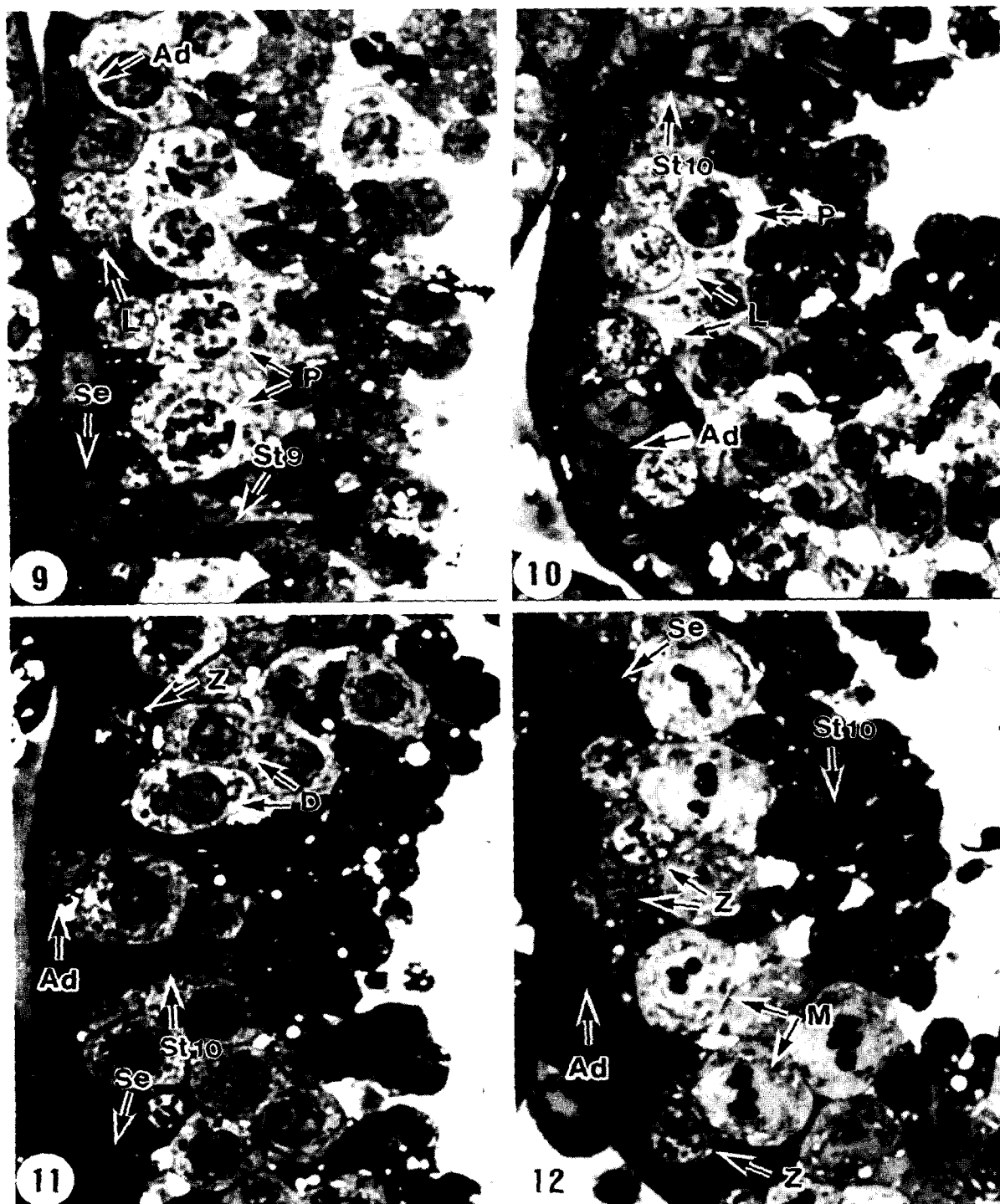
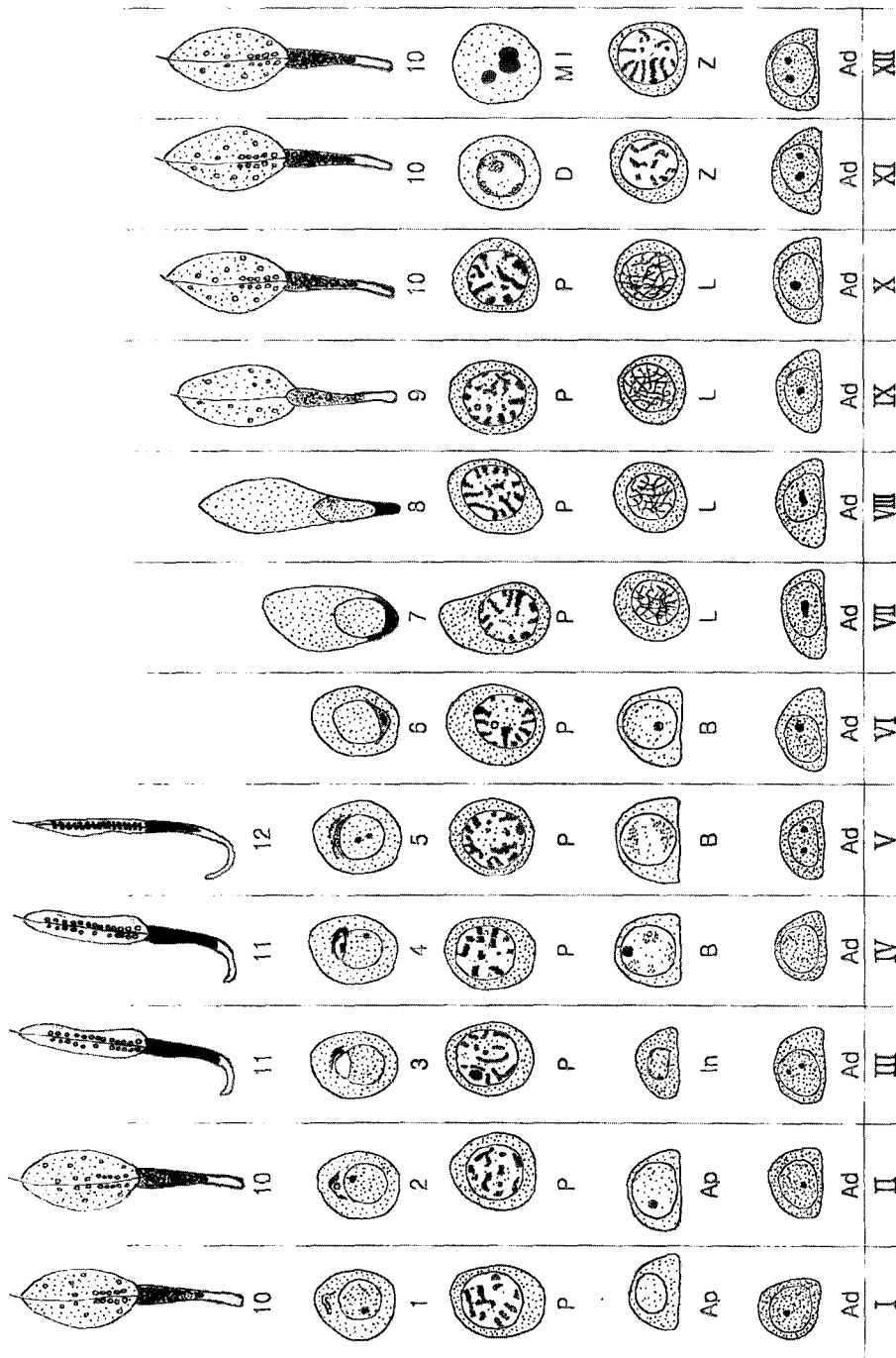


Fig. 9. Light micrograph of the stage IX of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, leptotene (L) and pachytene spermatocytes (P), and elongating spermatids (St₉).

Fig. 10. Light micrograph of the stage X of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, leptotene (L) and pachytene spermatocytes (P) and nenerous maturing spermatids (St₁₀).

Fig. 11. Light micrograph of the stage XI of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, zygotene (Z) and pachytene spermatocytes (P) and nenerous maturing spermatids (St₁₀).

Fig. 12. Light micrograph of the stage XII of the squirrel seminiferous cycle. Squirrel seminiferous epithelium showing dark (Ad) type of spermatogonia, zygotene (Z) and metaphase of meiosis I and nenerous maturing spermatids (St₁₀).



13

Fig. 13. Schematic illustration of 12 stages in the squirrel seminiferous cycle. Roman numerals indicate each stage. Ad and Ap, dark and pale type of spermatogonia; In and B, Intermediate and B type of spermatogonia; L, Z, P and D, leptotene, zygotene, pachytene and diakinesis spermatocyte; MI, primary spermatocytes in metaphase of meiosis 1; St₍₁₋₁₂₎, spermatids during spermiogenesis.

1988; Adachi et al., 1992; Paula et al., 1999; Mizukami et al., 2001; Segatelli et al., 2002). 본 연구에서는 다람쥐 (*Tamias sibiricus*)의 세정관 주기를 침체의 형태적 변화와 정자세포 핵의 형태, 감수분열, 정자세포와 정자의 위치에 기초를 두고 조사한 결과 12단계로 구분되어 졌다 (Fig. 13).

세정관 주기에 관한 연구에서 볼 때, rat (Leblond & Clermont, 1952)는 14단계로, musk shrew (Kurohmaru et al., 1994), cotton rat (Kurohmaru et al., 1988) 그리고 wild squirrel (Patil & Saidapur, 1991)는 각각 13단계로, wata's shrew (Adachi et al., 1992), greater Japanese shrew mole (Mizukami et al., 2001),

chinese hamster (Oud & Rooij, 1977) 그리고 Mongolian gerbil (Segatelli et al., 2002)는 각각 12단계로, prairie dog (Foreman, 1997)와 mole (Sanchez et al., 1995)는 각각 10단계로, vole (Grocock & Clarke, 1975), capybaras (Paula et al., 1999)와 grey squirrel (Tait & Johnson, 1982)는 각각 8단계로 보고되었다. 이러한 단계적 차이는 종 특이성에 기인하는 것으로 여겨진다. 본 연구에서 정소의 크기변화와 세정관 직경의 크기는 3월을 제외하고 1월부터 7월까지 (0.5~0.8 g, 121~162 μm) 높은 수치를 나타내었고, 8월부터 12월까지 (0.09~0.3 g, 61~86.5 μm) 낮은 수치를 나타냈다. 이는 정소 크기와 세정관 직경 크기는 비례관계가 성립하며 이러한 사실은 정자형성세포의 분화과정과 밀접한 관련성이 있음을 시사한다.

실험 개체군의 몸무게는 60~105 g (평균: 90 g) 정도로 나타났으나, 3월의 실험군 몸무게는 최저인 60 g을 나타내고, 본 실험 결과에서 세정관 직경의 크기와 정소의 무게가 낮은 수치를 나타내었다. 이러한 결과는 체중은 정자형성과는 무관함을 알 수 있다.

Ground squirrel (Bushberg & Holmes, 1985)는 동면기간의 체중은 번식시기에 성적성숙에 중요하다고 시사하고 있는데, 본 연구 결과를 미루어 보아 체중이 정자형성을 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 또한 동면기간 동안 체온이 (3~4°C) 떨어지는 둔마상태는 주기적인 중단상태에서 때로는 정상수준 (35°C)으로 되돌아 오는데, 이러한 낮은 체온은 유지는 동면을 위한 에너지 절약과 먹이의 결핍에 대한 적응전략이라 여겨진다.

성적활성의 경우, prairie dog (Foreman, 1997)와 Grey squirrel (Tait & Johnson, 1982)는 겨울철에 정소내의 정상피 분화의 활성이 높게 나타나는 반면에, Ground squirrel (Barnes et al., 1986; Foreman, 1998)는 봄철에 그 활성이 높게 나타난다. Ground squirrel의 경우, 동면시기에 세정관 상피의 생식세포들은 변화가 없고 정소의 크기는 서서히 증가하고, 정소의 성장은 동면이 끝나는 시기에 성장한다 (Barnes et al., 1996). 그러나 본 연구에서 다람쥐 (*Tamias sibiricus*)는 prairie dog와 마찬가지로 정소의 크기가 동면 전까지는 큰 차이를 보이지 않았으나, 동면시기에는 정소의 성장이 증가하였고, 세정관 상피의 조직변화는 활동기에는 다수의 정원세포와 감수분열 전기의 1차 정모단계 세사기 (Leptotene), 접합기 (Zygotene), 후사기 (Pachytene) 세포들이 관찰되었다.

이상 실험 결과를 종합해 볼 때, 월별에 따른 다람쥐의 정소무게와 세정관 직경의 크기변화 그리고 세정관 상피주기에 대한 조건에서 정소무게와 세정관 직경의 크기변화는 상관성이 있었다. 또한, 1년을 통한 세정관 정상피의 분화의 경우에는 동면기간 1월부터 3월까지 그리고 활동기인 4월부터 7월까지 정자형성 과정의 전 단계를 확인할 수 있었다. 특히 암컷은 이 기간 동안 2회에 걸쳐 새끼를 분만 (5월

과 8월) 하는데, 이러한 사실로 미루어 보아 한국산 다람쥐 (*Tamias sibiricus*) 수컷의 생식세포의 분화조절은 새끼 분만과 양육의 최적조건을 만족시키기 위한 일종의 번식메커니즘이라고 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 2003학년도 경남대학교 학술논문게재 연구비 지원에 의해서 이루어졌음.

REFERENCES

- Adachi Y, Kurohmaru MA, Hattori S, Hayashi Y. Spermatogenesis in the watase's Shrew (*Crocidura watasei*): A light and electron microscopic study. *Exp Anim*. 1992. 41: 295-303.
- Barnes BM, Kretzmann M, Licht P, Zucker I. The Influence of hibernation on testis growth and spermatogenesis in the golden mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). *Biol Reprod*. 1986. 35: 1289-1297.
- Bushberg DM, Holmes WG. Sexual maturation in male belding's ground squirrel: Influence of body weight. *Biol Reprod*. 1985. 33: 302-308.
- Corbet GB, Hill JE. A world list of mammalian species: In *Genus Sciurus*. 1991. pp 139-145. Oxford University Press. Ames.
- Dubock AC. Male grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) reproductive cycles in Britain. *J Zool Lond*. 1979. 188: 41-51.
- Foote RH, Swierstra EE, Hunt WL. Spermatogenesis in the dog. *J Anat*. 1972. 173: 341-352.
- Foreman D. Seminiferous tubule stages in the prairie dog (*Cynomys ludovicianus*) during the annual breeding cycle. *Anat Record*. 1997. 247: 355-367.
- Foreman D. Effects of exogenous hormones on spermatogenesis in the male prairie dog (*Cynomys ludovicianus*). *Anat Record*. 1998. 250: 45-61.
- Grocock CA, Clarke JR. Spermatogenesis in mature and regressed testes of the vole (*Microtus agrestis*). *J Reprod Fert*. 1975. 43: 461-470.
- Kurohmaru M, Kobayashi H, Hattori S, Nishida T, Hayashi Y. Spermatogenesis and ultrastructure of a peculiar acrosomal formation in the musk shrew (*Suncus murinus*). *J Anat*. 1994. 185: 503-509.
- Kurohmaru M, Tiba T, Nishida N, Hayashi Y. Spermatogenesis and ultrastructural changes of spermatids during spermiogenesis in the cotton rat (*Sigmodon hispidus*). *Okajimas Folia Anat Jpn*. 1988. 65: 203-220.
- Leblond CP, Clermont Y. Definition of the stage of the cycle of

- the seminiferous epithelium in the rat. *Ann New York Acad Sci.* 1952. 55: 548-573.
- Mizukami T, Kuwahara S, Ohmura M, Iinuma Y, Izumikubo J, Hagiwara M, Kurohmaru M, Hayashi Y, Nishida T. The cycle of the seminiferous epithelium in the greater Japanese shrew mole (*Urotrichus talpoides*). *J Vet Med Sci.* 2001. 63: 31-35.
- Oud JL, Rooij DE. Spermatogenesis in the chinese hamster. *Anat Rec.* 1977. 187: 113-124.
- Patil SB, Saidapur SK. Kinetics of spermatogenesis in the wild squirrel (*Funambulus palmarum* Linnaeus). *Acta Anat.* 1991. 141: 52-363.
- Paula TAR, Chiarini-Garcia H, Franca LR. Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Tissue & Cell.* 1999: 31: 327-334.
- Sanchez A, Stamatopoulos C, Redi CA. Descriptive kinetics of the seminiferous epithelium cycle and genome size in the mole (*Talpa occidentalis*, Insectivora). *J Exp Zool.* 1995. 273: 51-58.
- Segatelli TM, Almedia CCD, Pinheiro PFF, Martinez M, Padovani CR, Martinez FE. Kinetics of spermatogenesis in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Tissue & Cell.* 2002. 34: 7-13.
- Tait AJ, Johnson E. Spermatogenesis in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and changes during sexual regression. *J Reprod Fert.* 1982. 65: 53-58.