

한국산 다람쥐 (*Tamias sibiricus*) 정자의 미세구조

이 정 훈*, 박 기 룡
경남대학교 사범대학 과학교육과

Fine Structure of Sperm in the Korea Squirrel, *Tamias sibiricus*

Jung-Hun Lee*, Ki-Ryong Park

Department of Science Education, Kyungnam University, Changwon, Gyeongnam 631-701, Korea
(Received April 28, 2011; Revised June 19, 2011; Accepted June 20, 2011)

ABSTRACT

Light microscope, and scanning and transmission electron microscopy were used to investigate the fine structure of sperm of the Korea squirrel, *Tamias sibiricus*. The sperm head of *T. sibiricus* was paddle in shape. The total length of *T. sibiricus* sperm was 67.8 μm . The length of sperm head was 7.8 μm , and the tail (60.0 μm) was consisted of four major segments: the neck (1.0 μm), middle (8.0 μm), principal (48.5 μm) and end piece (2.5 μm), respectively. Especially, the length of the middle piece is short, and end piece was very shorter than those of other rodents. The post-nuclear cap was occupied about a fifth of nucleus. The equatorial segment is located between the post-nuclear cap segment and acrosomal cap on the nuclear surface. Nine segmented columns were surrounded by the mitochondria, and numbers of gyres of mitochondria were 26. One segmented column was consisted ten to twelve knobs, and each of segmented column in the neck region connected with the nine outer dense fiber in the middle piece. Numerous satellite-like fibers were scattered around the segmented columns. Nos. 1, 5 and 6 of the outer dense fibers in the middle piece were larger than the others. A fibrous sheath and longitudinal column of the principal piece were in evidence, but the fibrous sheath and longitudinal column was not seen at the end piece. In conclusion, the structural features of sperm head and tail may be useful information to patterns of sperm evolution and classification of species.

Keywords : *Tamias sibiricus*, Acrosomal cap, Post-nuclear cap, Sperm tail

서 론

설치류(Rodents) 정자는 Friend(1936)에 의해 처음으로 광학 현미경을 이용하여 mouse와 rat의 정자구조가 기술되어졌으며, 그 후 전자현미경을 이용하여 설치류 정자의 미세구조가 다수 연구되었다(Breed & Sarafis, 1979; Breed, 1980,

1983, 1984, 1995, 2004, 2005; Sarafis et al., 1981; Flaherty & Breed, 1983; Flaherty et al., 1983; Flaherty et al., 1986; Flaherty, 1987; Flaherty & Breed, 1987; Breed et al., 1988; Breed et al., 2000; Lee & Mōri, 2006; Lee, 2009).

다람쥐는 설치목(Order Rodentia), 청설모과(Family Sciuridae), 다람쥐속(Genus *Tamias*)에 속하며, 이들 정자에 관한 연구는 북미산 다람쥐 3종(*Sciurus carolinensis*: Knepp, 1936;

본 논문의 2009학년도 경남대학교 학술진흥연구비 지원에 의해 이루어 졌음.

* Correspondence should be addressed to Jung-Hun Lee, Department of Science Education, Kyungnam University, 449 Woryeong-dong Masanhappo-gu, Changwon-si, Gyeongsangnam-do 631-701, Korea. Ph.: (055) 249-2243, Fax: (055) 249-2014, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

Sciurus niger: Hirth, 1960; *Tamiasciurus hudsonicus*: Hirth, 1960)의 정자의 길이에 관한 단편적인 보고를 비롯하여 한국산 다람쥐의 세정관 주기(Jung & Lee, 2004)와 정자변태(Jung et al., 2004)에 관한 연구를 제외하고는 정자의 미세구조에 관한 연구는 아직 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 한국산 다람쥐(Korea squirrel, *Tamias sibiricus*) 정자를 광학현미경과 주사 및 투과 전자현미경으로 이들 정자의 미세구조적 특징을 알아보고, 유럽산 다람쥐와의 차이점을 알아보고, 몇몇의 설치류 정자의 형태구조를 비교 검토하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

다람쥐는 지리산(해발 800~900 m 지점)에서 Sherman트랩으로 3개체를 채집하여 사용하였다. 이들 재료는 채집 즉시 실험실로 운반하여 chloroform으로 마취시킨 후 각 개체의 부정소 조직들을 적출하였다. 우선 정자의 외형과 크기를 측정하기 위해서 슬라이드 글라스 상단에 적출된 부정소 미부(cauda epididymis)의 조직을 면도칼로 자른 후 핀셋으로 조직을 눌러 도말한 후 5~10분간 실온에서 방치한다. 방치 후 0.1 M Millong's buffer (pH 7.4)로 슬라이드 위의 부유액을 제거 시킨 다음 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 수용액에 30분간 전고정 하였다. 전고정이 끝난 후 동일한 완충액(4°C, pH 7.4, Millonig's buffer)으로 10분 간격으로 각각 3회 세척하였다. 세척 후 알코올 농도 상승 순(60, 70, 80, 90, 95, 100%)으로 탈수한 다음 hexamethyldisilazane (HMDS)으로 치환하였다. 치환 후 광학현미경(OPTIPHOT-2, Nikon)으로 촬영하였다. 또한 정자 외형의 미세 구조적 특징을 알아보기 위해, 광학 현미경 사진 촬영이 끝난 조직들은 Ion coater에서 Pt로 1분 30초 동안 코팅 한 후 주사형 전자현미경(FESEM, S-4200, Hitachi)으로 관찰하였다.

투과 전자현미경으로 정자의 미세구조를 관찰하기 위한 방법으로는, 먼저 부정소 조직을 적출한 다음 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2시간 정도 고정시킨 다음 백막을 제거한 후 부정소 조직을 1~1.5 mm³ 두께로 세절하여 다시 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2시간 정도 고정하였다. 고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액(4°C, pH 7.4, Millonig's buffer)으로 10분

간격으로 각각 3회 세척하였다. 세척이 끝난 조직편들은 1.33%-OsO₄ (pH 7.4, Millonig's buffer)으로 2시간 후고정 하였다. 후고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액으로 다시 10분 간격으로 각각 3회 세척한 다음 알코올 농도 상승 순(60~100%)으로 탈수하였고, 탈수가 끝난 조직은 Epon 812 혼합액으로 포매 하였다. 포매가 끝난 조직편들은 ultramicrotome을 사용하여 60~90 nm의 초박절편을 만들어 urayl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 전자염색 후 투과형 전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 75 kV에서 관찰하였다.

결 과

다람쥐 정자의 형태적 특징들은 다음과 같았다(Tables 1, 2, Figs. 1~4).

1. 정자머리 (Sperm head)

정자두부는 마치 주걱모양의 형태를 취하고 있었다(Table 1, Fig. 1a and inset, Fig. 3). 첨체(Acrosome, A)의 끝부분은 가늘고 길며, 끝이 뾰족하게 굽어져 있었다(Fig. 1b). 정자두부의 길이는 약 7.8 μm이었으며, 첨체(Acrosome, A)의 폭은 2.4 μm, 첨체 하 공간(Subacrosomal space, Ss)의 폭은 0.4 μm, 핵의 길이는 5.0 μm이었다(Table 1). 핵과 첨체 사이에 존재하고 있는 첨체 아래 공간 역시 끝이 가늘고 긴 원뿔모양으로 선단부가 돌출되어져 있었다(Fig. 1b). 핵 후단부 덮개(Post-nuclear cap, Pnc)는 핵의 약 1/5 정도를 덮고 있었으며(Fig. 1b), 적도절(Equatorial segment, Es)은 핵상단의 첨체덮개와 첨체 뒤편 덮개 사이에 위치하고 있었다(Fig. 1a). 첨체와 첨체덮개(Acrosomal cap, Ac)는 정자두부의 2/3을 덮고 있었다(Fig. 1b).

2. 정자 경부 (Sperm neck)

정자 경부는 핵의 아래면과 접하고 있는 기저판(Basal plate, Bp)을 비롯하여(Fig. 2a, b), 기저판 아래면의 근위 중심체(Proximal centriole, Pc)와 원위 중심체(Distal centriole, Dc) 그리고 이들 중심체들의 외곽에는 9개의 분절주(Segmented columns, Sc)가 존재하고 있었다(Figs. 2a, b, 4(a-c)). 이들 1개의 분절주는 10~12개 정도의 마디로 구성되어져

Table 1. Sperm head size and shape, and the tail length of *Tamias sibiricus*

Species	Head (μm)					Tail (μm)						Tls
	Tsl	Aw	Saw	Nl	S	Ttl	Ncl	Mp	Pp	Ep	NoMg	
<i>Tamias sibiricus</i>	7.8	2.4	0.4	5.0	P	60.0	1.0	8.0	48.5	2.5	26	67.8

Aw, acrosomal width; Ep, end piece; Mp, middle piece; Ncl, neck length; Nl, nuclear length; NoMg, total number of mitochondrial gyre; P, paddle; Pp, principal piece; S, sperm head shape; Saw, subacrosomal width; Tls, total length of the sperm; Tsl, total sperm head length; Ttl, total sperm tail length.

Table 2. Comparison of size and shape of the sperm head, and sperm tail length in 4 family 17 species in rodents

Family/Species	Sperm head (μm)			Sperm tail (μm)			Total length of the sperm	Authors
	Total sperm head length	Sperm head shape	Ventral spur (spike)	Total tail length	Midpiece of tail length	Principal piece and endpiece tail length		
Capromyidae								
<i>Myocastor coypus</i>	3.28	†	†	26.9	4.46	†	34.64	Jones (1974)
Cricetidae								
<i>Microtus hirtus</i>	7.6	†	†	110.0	30.0	80.0	117.6	Friend (1936)
<i>M. agrestis</i>	6.9	†	†	97.4	27.4	70.0	104.3	Austin (1957)
<i>Clethrionomys rufocanus</i>	7.8	A or H (apical hook)	—	88.0	23.0	65.0	95.8	Lee (2009)
Muridae								
<i>Aethomys chrysophilus</i>	7.0	†	†	50.0	15.0	35.0	57.0	Breed (1980)
<i>Apodemus agrarius</i>	10.0	F (apical hook)	+ (one)	120.0	20.0	100.0	130.0	Breed (2004, 2005)
<i>A. agrarius coreae</i>	8.0	FH (apical hook)	+ (two)	125.5	29.5	95.0	133.5	Lee & Mōri (2006)
<i>A. flavicollis</i>	8.8	†	†	116.0	23.0	93.0	124.8	Friend (1936)
<i>A. semotus</i>	9.0	F (apical hook)	+ (one)	119.0	22.0	97.0	128.0	Breed (2004, 2005)
<i>A. speciosus</i>	10.0	F (apical hook)	+ (one)	120.0	25.0	95.0	130.0	Breed (2004)
<i>A. speciosus peninsulae</i>	7.8	FH (apical hook)	+ (two)	116.3	22.5	93.0	124.1	Lee & Mōri (2006)
<i>A. sylvaticus</i>	9.8	†	†	124.0	24.0	100.0	133.8	Friend (1936)
<i>Micromys minutus</i>	5.0	P (non-hook)	—	59.0	12.0	47.0	64.0	Breed (2004)
Sciuridae								
<i>Sciurus carolinensis</i> (grey squirrel)	†	†	†	†	†	†	(*)27.47	Knepp (1936)
<i>S. niger</i> (eastern fox squirrel)	12.1	†	†	†	†	†	122.2	Hirth (1960)
<i>Tamiasciurus hudsonicus</i> (red squirrel)	14.0	†	†	117.0	†	†	131.0	Hirth (1960)
<i>Tamias sibiricus</i>	7.8	P	—	60.0	8.0	51.0	67.8	Present study

A, ax; F, falciform; FH, fish hook; G, globular; H, hatchet; RH, rostral hook; P, paddle-shape; +, existence; —, no existence; †, no data. (*), Measurements marked with an asterisk are of suspect accuracy, as they come from Knepp' (1936) paper in which sperm measurement was made from testicular histology specimens.

있었으며 (Fig. 2b). 이들 경부의 9개 분절주는 중편부의 9개의 외측치밀 섬유 (outer dense fiber, Odf)와 각각 결합되어 있었다 (Fig. 2b). 특히 경부에만 존재하는 분절주와 분절주 사이에는 전자밀도가 높은 물질로 구성된 위성섬유 (주변섬유, satellite fiber)들이 산재해 있었다 (asterisks in Fig. 2b, Fig. 4(a-c)). 핵 후단부의 핵막은 경부 쪽으로 길게 신장되어져 있었으며, 이들 핵막 내에는 여분의 막 구조물들이 마치 돌려 말아놓은 듯한 모습을 나타내었다 (arrows in Fig. 2b, Fig. 4a and 4b). 기저판에 가까운 경부에는 원위중심체가 관찰되지 않았으나 (a-a' in Fig. 2b, Fig. 4a), 경부의 중앙 부위부터 두개의 중심 미소관들이 관찰되기 시작하여 (b-b' in Fig. 2b, Fig. 4b) 중편부가 시작되는 부위(개시부)를 비롯하여 (c-c' in Fig. 2b, Fig. 4c) 중편부 (d-d' in Fig. 2b, Fig. 4d)와 주편부 (e-e' and f-f' in Fig. 3, Fig. 4e and 4f)의 모든 영역까지는 전형적인 9+2 구조의 미소관들이 관찰되었다.

3. 정자 꼬리 (Sperm tail)

정자 꼬리의 전체 길이는 약 60 μm 정도로서, 경부 (1.0 μm), 중편부 (8.0 μm), 주편부 (48.50 μm) 그리고 매우 짧은

미부 (2.5 μm)로 구성되며 (Table 1, Fig. 3, Inset b in Fig. 3), 중편부 (Principal piece, Pc)의 끝은 링 구조인 annulus를 형성하고 있었다 (Fig. 2a). 중편부의 미토콘드리아의 회전수는 26개 이었다 (Table 1, Fig. 2a). 중편부의 외측 치밀 섬유 (Outer dense fiber, Odf)는 9개로 구성되어져 있으며, Nos. 1, 5, 6의 섬유가 다른 섬유들 (2, 3, 4, 7, 8, 9) 보다도 크다 (Fig. 4d). 섬유초 (Fibrous sheath, Fs)와 종 지주 (longitudinal column, Lc)는 주편부에는 존재하고 있었다 (Fig. 4e). 그러나 주편부의 말단 영역에서는 섬유초만이 관찰되어졌으며 (Fig. 4f), 미부에는 불규칙한 미소관만 관찰되고, 섬유초와 종 지주는 존재하지 않았다 (Fig. 4g).

고 찰

설치류의 정자두부의 다양성을 살펴보면, 주걱형 (Breed, 1983, 2004, 2005), 구형 (Breed, 2004, 2005), 라켓형 (Breed, 2004), 낚시바늘형 (Lee & Mōri, 2006), 도끼형 (Lee, 2009) 그리고 대부분은 갈고리 혹은 낫꼴형의 정자두부를 가지고

있다(Breed & Sarafis, 1979; Breed, 1980, 1983, 1984, 2004, 2005; Sarafis et al., 1981; Flaherty & Breed, 1983, 1987; Flaherty, 1987; Breed et al., 1988; Breed & Leigh, 1991; Breed et al., 2000).

설치류 쥐과에 속하는 종에 있어서 정자형태의 진화는 보다 단순한 형태로부터 갈고리를 갖는 정자 두부와 긴 꼬리를 갖는 쪽으로 진화해 왔으며, 몇몇의 아과에 속하는 종의 경우에는 갈고리를 갖지 않은 정자두부와 짧은 꼬리를 가지고 있다(Breed, 2005). 그럼에도 불구하고, 전체적인 정자의 모양뿐만 아니라 정자두부와 꼬리의 미세한 영역에서도 다양한 차이점을 나타낸다. 이러한 정자의 형태적인 변화와 차이는 암컷의 생식도관내의 적응에 따른 결과로서 번식생리와 관련이 있으리라고 추론하고 있다(Lee, 2009).

한편, 정자의 다양성을 설명하는데 있어서 정자두부의 모양이 갈고리형과 비 갈고리형으로 구분하여 차이점을 모색하는 방법 이외에도 종간의 유연관계와 진화적 관계는 이들 정자두부와 꼬리의 미세한 부분의 구조적 특징들의 차이점으로 설명할 수가 있다. 즉 1) 두부모양 그리고 첨체의 모양과 apical hook의 존재 유무, 2) ventral process의 존재 유무, 3) ventral spur (spike)의 존재 유무와 이들 각각의 수적인 차이, 4) 경부의 구조적인 특징들, 5) 중편부의 미토콘드리아의 회전수와 미토콘드리아의 모양이나 크기, 6) 외측 섬유모양의 모양과 크기, 7) 주변부와 미부의 길이 등을 들 수가 있다.

대부분의 설치류 정자들은 apical hook와 ventral hook를 가지고 있으며, 이들은 정자 두부의 모양이 갈고리형(낫꼴형의 정자두부를 포함)이다(Breed, 1980, 1995, 2004, 2005; Breed et al., 1988; Breed & Leigh, 1991; Breed et al., 2000; Lee & Mōri, 2006; Lee, 2009). 비 갈고리형에 속하는 종(*Aethomys inepytus*, *Lophuromys flavopunctatus*, *Deomys ferrugineus*, *Tatera leucogaster*)들은 apical hook를 가지고 있지 않으며(Breed, 2005), 본 연구 종인 다람쥐의 경우도 비 갈고리형으로서 apical hook를 가지고 있지 않으며, ventral hook도 가지고 있지는 않았다. 그리고 비 갈고리형인 *Aethomys inepytus* 정자는 두부 모양이 구형인데 반해, *Lophuromys flavopunctatus*와 *Deomys ferrugineus*는 타원형이며, *Tatera leucogaster*는 주걱 모양(Breed, 2005), 그리고 본 종 역시 주걱모양을 취하고 있었다(Tables 1, 2, Fig. 1a, Fig. 3). 그리고 정자두부 및 꼬리의 길이를 비교해 볼 때, 본 연구 종이 *Sciurus niger*와 *Tamiasciurus hudsonicus* (Hirth, 1960) 종보다 그 길이가 반 정도로서 짧았으며(Table 2), 중편부의 길이도 짧지만, 특히 미부의 길이가 다른 설치류 종보다도 매우 짧은 것이 특징적 요소이다. 본 연구종인 다람쥐의 정자는 *Micromys minutus* (Breed, 2004)의 정자두부 모양이 같고, 꼬리의 길이도 거의 비슷하므로 진화적 유연관계로 보아 이들 두 종이 다른 종보다 서로 유연관계가 깊은 종이라 여

겨진다.

apical hook와 ventral process를 1개 가지는 종으로는 *Aethomys chrysophilus* (Breed et al., 1988; Breed et al., 2000), apical hook와 ventral process를 2개를 가지는 종으로는 *Pseudomys australis* (Breed, 1983, 1984; Breed & Leigh, 1991; Breed et al., 2000), apical hook와 ventral spur만을 가지는 종은 *Thalpomys paedulcus* (Breed et al., 2000), 그리고 3개의 ventral hook를 갖는 *Pseudomys australis* (Breed & Sarafis, 1979; Breed, 1980; Sarafis et al., 1981; Flaherty, 1987; Flaherty & Breed, 1987; Breed et al., 2000)를 제외하고는 대부분이 1개의 ventral hook를 가진다. 즉, 1개의 ventral hook를 갖는 종은 *Maxomys whitebeadi*, *Niviventer cremoriventer* (Breed, 1980, 2004), *Apodemus argenteus*, *A. agrarius*, *A. semotus*, *A. speciosus*, *Bunomys chrysocomus*, *B. fratorum*, *Leopoldamys sabanus*, *Maxomys bartelsii*, *M. surifer*, *Millardia meltada*, *Niviventer culturatus*, *Paruromys dominator*, *Vandeleuria oleracea* (Breed, 2004), *Bandicota bengalensis* (Breed, 2004, 2005) 그리고 *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, Mouse (ddY strain)와 Rat (Wistar strain) 등이 있으며(Lee, 2006), 본 연구에서는 *Bandicota indica*, *B. savilei* 그리고 *Micromys minutus*와 *Takudaia osimensis* (Breed, 2004) 그리고 *Clethrionomys rufocanus* (Lee, 2009)의 정자처럼 ventral hook를 가지고 있지는 않았다.

본 연구에서, 정자경부를 구성하는 요소로는 전자밀도가 높은 물질로 된 기저판을 비롯하여 10~12개의 띠로 구성된 segmented columns과 그 주변부에 전자밀도가 높은 섬유상의 물질로 된 satellite fiber들이 segmented column들 사이에 산재해 있었는데, 이는 *Rattus*, *Bandicota bengalensis*, *Niviventer*, 그리고 *Leopoldamys*종(Breed, 2004)의 정자들과 마찬가지로 모두 동일한 결과를 나타내었다.

satellite fibers의 생성과 수적인 양상은 외측섬유의 외피의 탈락에 의해 생기는 것으로 추론되며, 아마도 이러한 구조물은 정자의 파동운동에 중요한 역할을 수행하는 외측 섬유들의 신장력을 증가를 가져 오는 것이라 여겨진다. satellite fibers의 양적인 감퇴는 동물의 진화와 관계가 있을 것으로 추론하고 있으나(Oh et al., 1985), 정자 진화의 특징적 요소는 핵의 변화와 편모의 비대함으로 각 분류군에 따라 차이점이 있다는 점이다. 즉 이러한 두 가지의 경향을 기반으로 해서 원시형의 정자는 타원형 또는 원형의 두부와 짧은 편모를 가지는 것으로부터 점차적으로 핵과 편모를 구성하는 구성요소들이 복잡하게 형태변화(변형과 소실)를 통하여 진화해 왔다는 점이다(Roldan et al., 1991). 반면에, 설치류의 극소수의 종에 있어서 정자두부의 형태는 고도의 다양성을 보이며, 일반적으로 apical hook가 없는 쪽으로 진화해 왔으리라는 견해가 있기는 하나(Breed, 2005), 이에 대한 분자적 수준의 세밀한 조사가 요망된다.

본 연구에서 segmented columns의 아래 끝에 밀착된 말뚝형의 형태를 갖는 9개의 외측섬유들은 *Bandicota*속의 *Bandicota bengalensis*와 *B. indica*, *Paruromys*속의 *Paruromys dominator*, *Tokudaia*속의 *Tokudaia osimensis*, *Apodemus*속의 *Apodemus agrarius* (Breed, 2004), *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, 그리고 mouse (ddY strain) (Lee & Mōri, 2006) 그리고 *Clethrionomys rufocanus* (Lee, 2009) 등은 모두가 유사한 형태를 취하고 있었고, 본 연구에서도 동일한 결과를 나타내었다.

외측섬유 형태와 크기를 살펴보면, *Rattus*, *Bandicota bengalensis*, *Niviventer*, *Micromys*와 *Millardia* 그리고 *Leopoldamy*종의 정자들은 외측섬유가 모두 크고, 서로 비슷한 모양을 취하고 있는데 (Breed, 2004), 본 연구에서도 이와 마찬가지로 동일한 결과를 나타내었다. 반면에 외측섬유의 크기에 있어서는 다소의 차이를 보여 주었다. 즉 *Bandicota bengalensis*, *Rattus argentiventer*, *Paruromys dominator*, *Tokudaia osimensis* (Breed, 2004), *Apodemus agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, mouse, rat (Lee & Mōri, 2006), *Clethrionomys rufocanus* (Lee, 2009) 그리고 본 연구에서는 외측섬유가 1, 5, 6번이 다른 것 섬유보다 큰 반면에 *Apodemus agrarius*와 *Paruromys dominator* (Breed, 2004) 경우에는 1, 5, 6, 9번의 외측섬유가 다른 것 보다 더 크다는 점에서 차이를 나타내었다. 미토콘드리아의 굵기를 비교해 볼 때, rat (Lee & Mōri, 2006)와 *Rattus argentiventer* (Breed, 2005)의 경우가 그 폭이 가장 얇은 반면에, *Bandicota bengalensis*, *Niviventer*, *Micromys*와 *Millardia*, *Leopoldamy*종, *Paruromys dominator*, *Tokudaia osimensis*, *Apodemus agrarius* (Breed, 2004)와 *A. agrarius coreae*, *A. speciosus peninsulae*, mouse (Lee & Mōri, 2006), *Clethrionomys rufocanus* (Lee, 2009) 그리고 본 연구에서도 미토콘드리아의 폭이 굵다는 점에서 차이를 나타내었다. 이처럼 정자의 두부뿐만 아니라 꼬리의 미세한 영역에서도 종간의 뚜렷한 차이를 나타내었다. 이상에서 살펴보았듯이, 정자의 형태와 크기 그리고 정자의 수와 같은 특징들은 암컷 생식 생리와 정자 경쟁의 주요한 두 가지 선택적인 작용의 결과로서 정자 진화에 있어서 많은 영향을 미치며 (Roldan et al., 1991). 본 연구의 결과에서도 이와 같은 정자의 형태적인 특징과 구조적인 변화는 정자의 진화 pattern과 종을 분류하는데 유용한 정보를 제공하리라 여겨진다.

참 고 문 헌

Austin CR: Fertilization, early, cleavage and associated phenomena in the field vole (*Microtus agrestis*). *J Anat* 91 : 1-11, 1957.
Breed WG: Further observations on spermatozoal morphology and male reproductive tract anatomy of *Pseudomys* and *Notomys species* (Mammalia: Rodentia). *Trans Roy Soc S Aust* 104 : 51-

55, 1980.
Breed WG: Variation in sperm morphology in the Austrian rodent genus, *Pseudomys* (Muridae). *Cell Tissue Res* 229 : 611-625, 1983.
Breed WG: Sperm head structure in the Hydromyinae (Rodentia: Muridae); a further evolutionary development of the subacrosomal space in mammals. *Gamete Res* 10 : 31-44, 1984.
Breed WG: Variation in sperm head morphology of muroid rodents of Africa: Phylogenetic implications. In: Jamieson BGM, Ausio J, Justine J-L, eds, *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy*. *Mém Mus Natn Hist Nat* 166 : 409-420, 1995.
Breed WG: The spermatozoon of Eurasian murine rodents: Its morphological diversity and evolution. *J Morphol* 261 : 52-69, 2004.
Breed WG: Evolution of the spermatozoon in muroid rodents. *J Morphol* 265 : 271-290, 2005.
Breed WG, Leigh CM: Distribution of filamentous actin in and around spermatids and in spermatozoa of Australian Conilurine rodents. *Mol Reprod Dev* 30 : 369-384, 1991.
Breed WG, Sarafis V: On the phylogenetic significance of spermatozoal morphology and male reproductive anatomy in Australian rodents. *Trans Roy Soc S Aust* 103 : 127-135, 1979.
Breed WG, Cox GA, Leigh CM, Hawkins P: Sperm head structure of a murid rodent from Southern Africa: The red veld rat *Aethomys chrysophilus*. *Gamete Res* 19 : 191-202, 1988.
Breed WG, Idriss D, Oko RJ: Protein composition of ventral processes on the sperm head of Australian Hydromyine rodents¹. *Biol Reprod* 63 : 629-634, 2000.
Flaherty SP: Further ultrastructural observations on the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis* (Rodentia: Muridae). *Anat Rec* 217 : 240-249, 1987.
Flaherty SP, Breed WG: The sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*: Ultrastructure and effects of chemical treatments. *Gamete Res* 8 : 231-244, 1983.
Flaherty SP, Breed WG: Formation of the ventral hooks on the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*. *Gamete Res* 17 : 115-129, 1987.
Flaherty SP, Breed WG, Sarafis V: Localization of actin in the sperm head of the plains mouse, *Pseudomys australis*. *J Exp Zool* 225 : 497-500, 1983.
Flaherty SP, Winfrey VP, Olson GE: Localization of actin in mammalian spermatozoa: a comparison of eight species. *Anat Rec* 216 : 504-515, 1986.
Friend GF: The sperms of the British Muridae. *Q J Microsc Sci* 78 : 419-443, 1936.
Jones RC: The ultrastructure of spermatozoa from some hystricomorph rodents. In: Afzelius BA, ed, *The functional anatomy of the spermatozoon*, pp. 251-258, Pergamon Press, Oxford, 1974.
Jung TD, Lee JH: Seminiferous epithelium cycle in the Korean squirrel, *Tamias sibiricus*. *J Exp Biomed Sci* 10 : 275-283, 2004. (Korean)
Jung TD, Lee JH, Kim SS: Spermiogenesis in the Korean squirrel, *Tamias sibiricus*. *Korean J Electr Microsc* 34 : 159-170, 2004.

(Korean)

- Hirth HF: The spermatozoa of some North American bats and rodents. *J Morph* 106 : 77-83, 1960.
- Knepp TH: A quantitative study of the testes of ten mammals. *Proc Penn Sci* 10 : 58-62, 1936.
- Lee JH, Mōri T: Ultrastructural observations on the sperm of two *Apodemus* species, *Apodemus agrarius coreae* and *Apodemus speciosus peninsulae*, in Korea. *J Fac Agr Kyushu Univ* 51 : 125-133, 2006.
- Lee JH : Ultrastructural observation on the sperm of the grey red-black vole, *Clethrionomys rufocanus*. *Kor Soc Micros* 39 : 89-99, 2009. (Korean)
- Oh YK, Mōri T, Uchida TA: Spermiogenesis in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 29 : 203-209, 1985.
- Roldan ESR, Vitullo AD, Gomendio M: Sperm shape and size: Evolutionary processes in mammals. In: Baccetti B, ed, Comparative spermatology 20 years after, pp. 1001-1010, Sero Symposium Publication from Raven Press, 1991.
- Sarafis V, Lambert RW, Breed WG: Sperm head morphology of the plains mouse *Pseudomys australis*. *J Reprod Fert* 61 : 399-401, 1981.

< 국문초록 >

한국산 다람쥐 정자의 형태적 특징을 알아보기 위하여 광학현미경과 주사 및 투과 전자현미경으로 관찰하였다. 다람쥐 정자머리의 모양은 주걱 모양의 형태를 취하고 있었다. 정자의 전체 길이는 67.8 μm 이었으며, 머리의 길이는 7.8 μm , 꼬리는 60.0 μm 이었다. 꼬리는 경부(1.0 μm), 중편부(8.0 μm), 주편부(48.5 μm) 그리고 미부(2.5 μm)로 각각 구성되어 있었다. 특히, 본 연구에서 정자의 중편부도 짧지만 미부의 길이는 다른 설치류 종보다도 매우 짧은 것이 특징적이다. 침체 후 덩개는 핵의 약 1/5을 점유하고 있으며, 적도절은 핵 상단의 침체 후 덩개와 침체 덩개 사이에 위치하고 있었다. 9개의 분절주들은 미토콘드리아에 의해 둘러싸여져 있었다. 중편부의 미토콘드리아의 회전수는 26개 이었다. 한 개의 분절주는 10~12개의 마디로 구성되어 있었으며, 이들 경부의 각각의 분절주는 중편부의 9개의 외측치밀 섬유와 제각기 결합되어 있었다. 특히 경부의 분절주와 분절주 사이에는 수많은 satellite 섬유와 흡사한 물질들이 존재하고 있었다. 중편부의 9개의 외측 치밀 섬유는 Nos. 1, 5, 6의 섬유가 다른 섬유들(2, 3, 4, 7, 8, 9) 보다도 크다. 섬유초와 종 지주는 주편부에는 존재하고 있었으며, 미부에는 섬유초와 종 지주는 존재하지 않았다. 이상의 결과에서 볼 때, 정자두부와 꼬리의 구조적인 특징들은 정자의 진화와 더불어 종을 분류하는데 있어서 매우 중요한 정보를 제공하리라 여겨진다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Light, scanning and transmission electron micrographs showing the caudal epididymal spermatozoa of *Tamias sibiricus*. (1a) The shape of sperm head was paddle form (Fig. 1a, Inset), and the subacrosomal space (Ss) were covered by acrosomal cap (Ac). The equatorial segment (Es) is located between the post-nuclear cap (Pnc) and acrosomal cap on the nuclear surface. (1b) The post-nuclear cap was occupied about a fifth of nucleus. Note the acrosome (A) in the acrosomal cap was curved. H, head; Mp, middle piece; Nc, neck; M, mitochondria; N, nucleus; Pp, principal piece.
- Fig. 2.** Sagittal sections of sperm head, neck, middle piece and principal piece in *T. sibiricus*. (2a) The mitochondria are arranged at the sides of axoneme regularly, and total number of the mitochondrial gyres were 26. (2b) Cross sections in 2b in approximate regions a-a', b-b', c-c' and d-d' shown in 4a, 4b, 4c and 4d, respectively. The segmented columns (Sc) were surrounded by redundant membranous scroll (arrows). The segmented columns was about 10~12 in number. Note the electron dense materials (asterisks) are observed in the neck region. An, annulus; Cd, cytoplasmic droplet; Dc, distal centriole; H, head; Mp, middle piece; Nc, neck; M, mitochondria; N, nucleus; Odf, outer dense fiber; Pc, proximal centriole; Pm, plasma membrane; Pp, principal piece; Sc, segmented columns.
- Fig. 3.** Scanning electron micrographs showing external features of the mature spermatozoa. The shape of sperm head was paddle form (Fig. 3, inset a in Fig. 3). Cross sections in a-a', b-b', c-c', d-d', e-e', f-f' and g-g' are shown Fig. 4 (a-g). The end piece was very shorter than the middle and principal pieces (Fig. 3, Inset b in Fig. 3). Ep, end piece; H, sperm head; Mp, middle piece; Pp, principal piece; *, neck.
- Fig. 4.** Cross sections of sperm neck (Fig. 4a-c), middle piece (Fig. 4d), principal piece (Fig. 4e-f) and end piece (Fig. 4g) in *T. sibiricus*. (4a) The electron dense granules are seen around the nine segmented columns in the neck region. (4b) The electron dense granules in the central neck region more than condensed adjacent the basal plate of the neck. (4c) Numerous electron granules are condensed in the beginning of the middle piece. (4d) Nos. 1, 5 and 6 of the outer dense fibers (Odf) were larger than the others. (4e) The fibrous sheath (Fs), longitudinal column (Lc) and outer dense fibers (Odf) in the principal piece were seen. (4f) The fibrous sheath are observed in the end of principal piece. (4g) The fibrous sheath was not seen at the end piece. A, acrosome; Ax, axoneme; C, capitulum; H, sperm head; M, mitochondria; Mp, middle piece; N, nucleus; Nc, neck; Ne, nuclear envelope; Pm, plasma membrane.





