

韓國產 코볼드雙口吸蟲의 核型 分析

全北大學校 獸醫寄生蟲學教室
李宰求 · 尹樂勳 · 李浩一

要約: 韓國產 雙口吸蟲의 系統分類를 하기 위한 연구의 일환으로 韓牛로부터 코볼드雙口吸蟲 (*Fischoederius cobboldi*)을 채집한 다음 精巢部位를 colchicine으로 短時間 處理하는 自然乾燥法을 응용하여 核型을 分析하였다.

코볼드雙口吸蟲 총 315個體의 生殖細胞에 대하여 染色體數를 調査한 바 $n=9$, $2n=18$ 이었으며, 1,904個의 半數體性 中期染色體와 49個의 二倍體性 中期染色體를 確認하였다. 二倍體性 中期染色體는 7雙의 中型染色體와 2雙의 小型染色體로 構成되어 있었고, 半數體性 染色體는 中型 7個와 小型 2個로 構成되어 있었다. 動原體指數는 3番 染色體가 40.4%로서 9雙중에서 動原體가 染色體의 가장 中央部位에 위치하는 中部着絲 染色體이었으며, 그 나머지의 것들은 32.4~40.0%이었다.

分染法(C-banding)에 의한 生殖細胞의 半數體性 染色體는 核型을 構成하는 異染色質이 거의 모든 染色體의 動原體 部位에 存在하였지만, 1番 染色體는 染色體 尖端에 異染色質이 濃染되어 있었으며 4, 6, 8番 染色體의 異染色質은 크고 진하게 관찰되었다.

Key words: *Fischoederius cobboldi*, karyotype, Korean cattle

緒 論

韓國產 雙口吸蟲의 系統分類를 하기 위한 一環으로 著者 등은 韓牛의 第一 및 第二 胃內에 기생하는 雙口吸蟲의 優點種인 *Paramphistomum explanatum* (李 등, 1986)과 *P. cervi* (李 등, 1987)의 生殖細胞의 核型 分析을 遂行한 바 있다. 이번에는 稀有하게 발견되는 코볼드雙口吸蟲(*Fischoederius cobboldi* Poirier, 1883)의 生殖細胞에 관한 細胞學의 研究를 수행하였기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1986年 2月에서 1987年 6月 사이에 全州 屠畜場에서 도살되는 310마리의 韓牛에서 第一 및 第二 胃內에 기생하는 雙口吸蟲을 채집하여 Fukui(1922 & 1929) 및 Näsmark(1937)의 形態學的 分類方法에 의해 種을 同定한 다음 코볼드雙口吸蟲(*Fischoederius cobboldi*)만을 선별하여 細胞學의 研究를 試圖하였다.

染色體 標本 製作方法은 Wróblewska(1969) 및 李 등(1986 & 1987)의 自然乾燥法에 準하였다. 즉, 코볼드雙口吸蟲의 精巢部位를 切取, TC 199배지에 넣어 37°C에서 2時間 colchicine 처리한 다음 精巢部位를 細切하여 0.075 M 鹽酸으로 15分間 처리하였다. 그 후 150 g에서 10分間 遠沈시키고 上清液을 제거한 다음 Karnoy液으로 固定시켜 細胞浮遊液을 만들었고 약

70 cm 높이에서 슬라이드글라스위에 滴下, 擴散 및 自然乾燥시켰다. 이 標本을 5% Giemsa液으로 염색하여 位相差 顯微鏡으로 염색체를 觀察하였다.

動原體의 位置에 의한 染色體의 分類는 Levan *et al.* (1964)의 方法을 適用하였다. 한편, 細胞浮遊液을 滴下, 附着시킨 슬라이드글라스를 6~7日間 自然乾燥시킨 다음 Sumner(1972) 및 李 등(1986 & 1987)의 方法에 準하여 염색체의 動原體部位에 국소적으로 존재하는 異染色質을 特異적으로 염색하는 所謂 C-染色法도 실시하였다.

結 果

일반적으로, 코볼드雙口吸蟲의 精巢細胞는 8, 16, 32 細胞群으로 되어 있었으며, 이들은 第一精母細胞, 第二精母細胞 및 精子細胞이었다. 이 중에서 8細胞群은 다른 群에 비하여 현저하게 많이 分布하였으며, 細胞內에서는 많은 絲狀體를 인정할 수 있었다.

總 315個體의 코볼드雙口吸蟲에 대한 精巢細胞의 染色體數를 조사한 바 半數體性 中期染色體 1,904個, 二倍體性 中期染色體 49個를 인정하였다. 이들 세포를 세밀하게 觀察하여 綜合的으로 檢討한 바 염색체수는 $n=9$, $2n=18$ 이었다(Fig. 1 & 2). 또, $n=9$ 인 減數分裂像에 있어서 接合期, 太絲期, 複絲期, 移動期, 中期 I, 後期를 볼 수 있었으며, 生殖細胞의 體細胞分裂에서 볼 수 있는 $2n=18$ 의 염색체도 확인할 수 있었다.

二倍體性 中期染色體에 있어서 大型染色體는 확인되

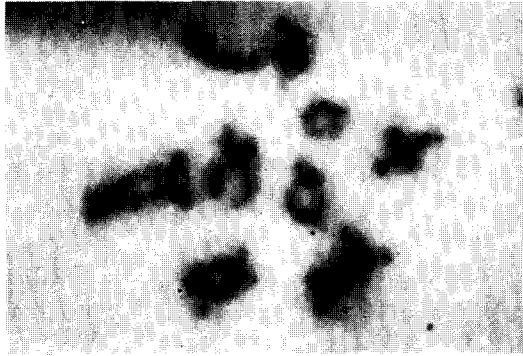


Fig. 1. The mitotic chromosomes (18) in cultured germ cells of *Fischoderius cobboldi* prepared by modified air dry method.

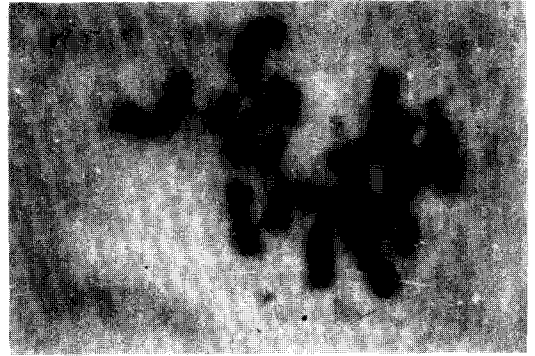


Fig. 2. The meiotic chromosomes (9) in cultured germ cells of *Fischoderius cobboldi* prepared by modified air dry method.

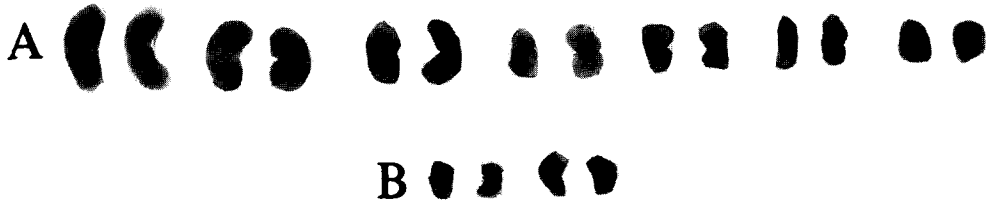


Fig. 3. The karyotype plate made from the mitotic metaphase of *Fischoderius cobboldi* (A : medium size, B : small size).



Fig. 4. The meiotic chromosomes (haploid) of *Fischoderius cobboldi*.
Upper; Conventional karyotype of germ cell
Lower; C-banded karyotype of germ cell

지 않았으나 7쌍의 中型染色體와 2쌍의 小型染色體를 인정할 수 있었다(Fig. 3, Table 1). 한편, 半數體性 中期染色體는 7個의 中型染色體와 2個의 小型染色體로 되어 있었다.

紡錘絲의 부착부위에 따라 염색체를 분류하는 Levan *et al.*(1964)의 方法을 適用하여, 二倍體性 染色體를 크기의 순으로 1에서 9까지 番號를 붙여서 나열한다면 1, 6, 7, 8, 9番은 亞中部着絲 染色體, 2, 3, 4, 5番은 中部着絲 染色體에 해당된다(Table 1). 精巢細胞가 體細胞分裂할 때 中期에 出現하는 염색체는 倍數體性 相同染色體이었다.

그리고, 動原體 指數는 3番 染色體가 40.4%로서 9쌍

의 염색체 중에서 동원체가 염색체의 가장 중앙부위에 위치하며, 나머지 것의 動原體 指數는 Table 1에 표시한 바와 같다.

C-染色法(分染法)에 의한 정소세포의 半數體性 染色體는 核型을 구성하는 異染色質이 거의 모든 염색체의 動原體 部位에 존재하였지만, 1番 染色體는 그 尖端에 眞性 染色體보다 주로 DNA로 되어 있는 異染色質이 濃染되어 있었으며, 4, 6, 8番 染色體의 異染色質은 크고 진하게 관찰되었다. 그리고, 2, 5番의 異染色質은 動原體의 近位에서, 3, 7, 9番은 動原體의 遠位에서 진하게 관찰되었다(Fig. 4).

Table 1. Chromosome measurements and their classification, *Fischoederius cobboldi*

Number of chromosome pair	Relative length*	Arm ratio**	Centromeric index ⁺	Centromere ⁺⁺ position
1	14.91±2.81	2.09±0.30	35.88	sm
2	11.98±1.65	1.96±0.43	39.67	m
3	11.49±0.75	1.52±0.39	40.42	m
4	11.08±0.87	1.55±0.38	39.98	m
5	10.91±0.78	1.68±0.50	38.88	m
6	10.33±0.81	1.85±0.54	36.15	sm
7	10.05±0.52	2.11±0.37	35.60	sm
8	9.66±0.54	2.09±0.56	35.11	sm
9	9.54±1.33	2.38±0.59	32.38	sm

Each value represents the means of 49 determinations with standard deviations.

*Length of each chromosome divided by total length of whole chromosomes. **Length of long arm divided by short arm. ⁺Length of short arm × 100 divided by total length of each chromosomes. ⁺⁺Centromere position according to the quantitative definition of Levan *et al.* (1964).

考 察

雙口吸蟲은 충체와 내부기관의 모양이나 크기, 組織學的 所見 등을 기초로 하여 분류하고 있는데 지구상에 존재하는 雙口吸蟲은 그 수가 極히 많기 때문에 애매한 점이 너무나 많다. 그러므로 최근에 이르러 種의 類緣關係를 叫明하기 위하여 細胞學的 研究方法를 導入, 遂行한 研究報告가 많다(Willmott, 1950 a & b; Willey and Godman, 1951; Dhingra, 1955 a & b;

Sey, 1971; Subramanyam and Venkat-Reddy, 1977; Kusano and Sakaguchi, 1979; Moriyama *et al.*, 1979 a & b; Mutafova, 1983).

最近에 이르러 著者 등은 韓國產 雙口吸蟲을 系統分類하기 위한 一環으로 *Paramphistomum explanatum*과 *P. cervi*의 核型을 分析하여 報告한 바 있는데(李 등, 1986 & 1987) 그 結果와 이번 遂行한 코볼드雙口吸蟲의 核型分析 結果를 比較檢討하였다.

우선, 生殖細胞의 染色體數는 세가지 種 모두 $n=9$, $2n=18$ 로서 同一하며, 半數體性 染色體가 二倍體性 染

Table 2. Comparison of centromere position of paramphistomes by means of Levan *et al.* (1964) in Korea

Species	Chromosome number (diploid)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>P. cervi</i>	m	st	st	sm	m	sm	st	st	sm
<i>F. cobboldi</i>	sm	m	m	m	m	sm	sm	sm	sm
<i>P. explanatum</i>	m	st	sm	sm	m	st	sm	sm	sm

Abbreviations;

m : metacentrics sm : submetacentrics st : subtelocentrics

Table 3. C-banded karyotype of meiotic metaphase (haploid) of paramphistomes in Korea

Species	Chromosome number (haploid)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>P. cervi</i>	C ⁺	C ⁺⁺	T ⁺	C ^d	T ⁺	C ^p	C ⁺	C ⁺⁺	C ⁺
<i>F. cobboldi</i>	T ⁺	C ^p	C ^d	C ⁺⁺	C ^p	C ⁺⁺	C ^d	C ⁺⁻	C ^d
<i>P. explanatum</i>	C ⁺	C ⁺	C ⁺⁺	C ⁺	T ⁺	C ⁺	C ⁺⁺	C ⁺	C ⁺

Following abbreviations express regions of heterochromatin in chromosomes;

C : centromere region, C^p : proximal region of centromere position, C^d : distal region of centromere position, T : Terminal region, ++ : prominent broad band, + : distinct band

色體보다 월등히 많이 인정되는 것도 역시 同一하였다. 한편, 二倍體性 染色體의 크기에 있어서 *P. explanatum* 과 *P. cervi*는 모두 中型 5雙, 小型 4雙이었으나, 코볼드雙口吸蟲은 中型 7雙, 小型 2雙으로서 앞의 두 種에 비하여 小型이 적은 편이었다. 그리고, 動原體指數와 動原體의 存在部位는 세가지 種사이에서 약간의 차이가 인정되었다.

그러나 가장 현저한 差異點은 半數體性 染色體의 異染色質에서 인정할 수 있었다. 즉, 코볼드雙口吸蟲은 1番, *P. explanatum*은 5番, *P. cervi*는 3 및 5番 染色體의 尖端에 眞性 染色體보다 주로 DNA로 되어 있는 濃染 異染色質이 존재하였다. 그리고, 코볼드雙口吸蟲은 4, 6, 8番, *P. explanatum*은 3, 7番, *P. cervi*는 2, 8番 染色體의 動原體 部位에서 큰 濃染 異染色質을 인정할 수 있었다.

結的論으로, 이 세 가지 種은 異染色質의 性狀이나 存在部位의 差異에 따라 同定이 可能하다고 판단되었다.

參 考 文 獻

Dhingra, O.P. (1955a) Spermatogenesis of a digenetic trematode *Cotylophoron elongatum*. *Res. Bull. Panjab Univ. Zool.*, 64:1-10.
 Dhingra, O.P. (1955b) Spermatogenesis of a digenetic trematode *Gastrothylax crumenifer*. *Res. Bull. Panjab Univ. Zool.*, 65:11-17.
 Fukui, T. (1922) Amphistomes of Japanese cattle (1, 2, 3, 4, 5, 6). *Jpn. J. Zool.*, 34:19-27, 70-74, 229-233, 588-596, 646-655, 748-755.
 Fukui, T. (1929) Studies on Japanese amphistomes parasites with revision of the group. *Jpn. J. Zool.*, 41:119-351.
 Kusano, H. and Sakaguchi, Y. (1979) Studies on chromosomes of helminths (16) Chromosomes of four stomach flukes, *G. elongatus*, *P. gotoi*, *C. streptocoerium*, *G. explanatum*. *Jpn. J. Parasitol.*, 28(Sup.):107.
 Levan, A., Fredga, K. and Standberg, A.A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201-220.
 Moriyama, N., Tinone, C. and Seto, T. (1979a) Chromosomes of paramphistomes (1) The karyotype of *Calicophoron calicophorum*. *Jpn. J. Para-*

sitol., 28(2):17.
 Moriyama, N., Tinone, C. and Seto, T. (1979b) Chromosomes of paramphistomes (2) The karyotype of *Orthocoelium streptocoelium*. *Jpn. J. Parasitol.*, 28(Sup.): 107.
 Mutafova, T. (1983) Studies on the caryotype of *Paramphistomum microbothrium*, Fiscoeder, 1901. *Khelmitologiya*, 16:37-41.
 Näsmark, K.E. (1937) A revision of the trematode family Paramphistomidae. *Zool. Bridrag Uppsala*, 16:301-565.
 李宰求, 姜昌源, 李浩一(1986) 韓國產 *Paramphistomum explanatum*(Creplin, 1849)의 核型分析. 기생충학잡지, 24(1):42-48.
 李宰求, 金龍煥, 朴培根(1987) 韓國產 사슴雙口吸蟲의 核型分析. 기생충학잡지, 25(2):154-158.
 Sey, O. (1971) Gametogenesis in *Paramphistomum microbothrium* Fiscoeder, 1901. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, 21(1):93-106.
 Subramanyam, S. and Venkat-Reddy, P.(1977) A flame drying technique for mitotic chromosome of the digenetic trematode, *Gigantocotyle explanatum*. *Egypt. J. Gen. Cytol.*, 6(1):173-177.
 Sumner, A.T. (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, 75(2):304-306.
 Willey, C.H. and Godman, G.C. (1951) Gametogenesis, fertilization and cleavage in the trematode, *Zygocotyle lunata* (Paramphistomidae). *J. Parasit.*, 37(3):283-296.
 Willmott, S. (1950a) Gametogenesis and early development in *Gigantocotyle bathycotyle* (Fiscoeder, 1901) Näsmark, 1937. *J. Helminthol.*, 24(1,2):1-14.
 Willmott, S. (1950b) On the species of *Paramphistomum* Fiscoeder, 1901 occuring in Britain and Ireland with notes on some material from the Netherlands and France. *J. Helminthol.*, 24(4): 155-170.
 Wróblewska, J. (1969) Chromosome preparations from mouse embryos during early organogenesis: Dissociation after fixation, followed by air drying. *Stain Technol.*, 44(3):147-150.

=Abstract=

The Karyotype of *Fischoederius cobboldi* (Poirier, 1883) from Korean Cattle

Jae Ku Rhee, Rak Hun Youn and Ho Il Lee

Department of Veterinary Parasitology, Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea

As a series of systematic classification of paramphistomes, the worms in the rumen and reticulum of 310 Korean cattle slaughtered at Chonju abattoir were collected from February 1986 to June 1987 and were classified by morphology of the worms. Afterwards, the karyotype of *Fischoederius cobboldi* (Poirier, 1883), which is a very rare species in Korean cattle, was studied with germ cells of the worm by means of modified air-drying method.

The chromosome numbers in the haploid and diploid cells of 315 *F. cobboldi* were $n=9$ and $2n=18$, respectively. The meiotic divisions were observed frequently; 1,904 haploid and 49 diploid cells were recognized. Nine pairs of mitotic chromosomes were homologous in the metaphase stage and the chromosomes were composed of seven medium-sized metacentrics (m) or submetacentrics (sm) and two small-sized submetacentrics (sm). While, meiotic metaphases were composed of seven medium and two small-sized chromosomes. The 3rd, 4th, 2nd and 5th pairs of chromosomes was metacentric having centromere indices of 40.4%, 40.0%, 39.7% and 38.9%, respectively, and the remaining ones were submetacentric with centromere indices from 32.4% to 36.2%.

As a series of C-banding method, C-band was shown in centromeric region from all of the haploid germ cells, except chromosome No. 1 which included heterochromatin at the tip region. Chromosomes No. 4, 6 and 8 showed remarkable C-band distinguished from others.