

한국산 鳥類의 핵형 II. C-banding 방법에 의한 박새속 4종의 핵형분석

이성근 · 이해영

인하대학교 이과대학 생물학과

한국산 박새속 조류 *Parus major*(박새), *Parus ater*(진박새), *Parus palustris*(쇠박새), *Parus varius*(곤줄박이)의 핵형을 C-banding 방법으로 분석한 결과 ZZ-ZW 염색체를 동정, 확인할 수 있었으며, 구조적 이질염색질의 부위가 일반염색 방법에 의한 핵형비교에서 보다 중간에 더 많은 차이를 나타냈다.

그러나 일반염색 방법과 C-banding 방법만으로는 4종간의 충분화 기작을 추측할 수 없었다.

KEY WORDS: Genus *Parus*, C-banding analysis, Bird chromosomes

조류의 염색체는 그 수가 많고, 크기가 작은 microchromosome이 다수 존재하며 성염색체는 일반적으로 암컷이 이형성염색체 쌍(ZW)을 가지며 수컷이 동형성염색체 쌍(ZZ)을 가지고 있다. Piciformes 조류등(Shields *et al.*, 1982)을 제외한 대부분의 종에서 성염색체중 W-염색체는 microchromosome의 크기와 유사하게 나타나므로 1960년 초반까지는 ZZ-ZO와 ZZ-ZW에 대한 논란도 있었으나 여러 연구자들에 의해 ZZ-ZW형임이 확인되었고(Rothfels *et al.*, 1963; Itoh *et al.*, 1969), 현재는 C-banding등의 방법으로 W-염색체의 확인 및 동정이 보다 용이해졌다(Stefos and Arrighi, 1971; Wang and Shoffner, 1974; Sasaki *et al.*, 1983b).

한편 조류 염색체에 대한 세포유전학적 연구가 활발해지면서 유사종간 핵형을 multiple band를 얻어 비교하는 계통진화학적인 연구도 수행되고 있다(Ryttman *et al.*, 1979; Stock and Bunch, 1982; Belterman and De Boer, 1984). 조류의 핵형 진화에는 centric fusion, fission, pericentric inversion, 전좌(translocation), 이질염색질(heterochromatin)의 첨가(addition) 및 결실(deletion)등이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며(Takagi and Sasaki, 1974; Stock

and Mengden, 1975; Stock and Bunch, 1982) Shields (1982)는 조류의 핵형진화가 canalization model (Bickham and Baker, 1979; Baker and Bickham, 1980)에 매우 유사하게 일치되는 것으로 설명하고 있다. 그러나 이와 같은 가정은 조류에서는 아직도 핵형이 밝혀지지 않은 목(Order)이 매우 많으므로 보다 많은 자료의 축적을 필요로 하고 있다.

본 연구에서는 일반염색 방법에 의해 핵형이 분석되어있는(Lee and Lee, 1989) 한국산 박새속 조류(Genus *Parus*) 4종의 염색체를 C-banding방법으로 분석하여, 염색체수 및 성염색체 특히 W-염색체를 확인·동정하고 4종간 구조적 이질염색질 분포를 비교 분석하며, 일반염색과 C-banding 결과를 토대로하여 4종간의 핵형분화 과정을 추론하고자 하였다.

재료 및 방법

재료는 11개 지역에서 총 104개체를 채집하였다(Lee and Lee, 1989).

C-banding은 Sumner(1972)의 방법을 변형하여 시행하였는데 표본 제작된 slide와 탈색한 slide(일반염색 방법으로 확인한 slide를 Xylene

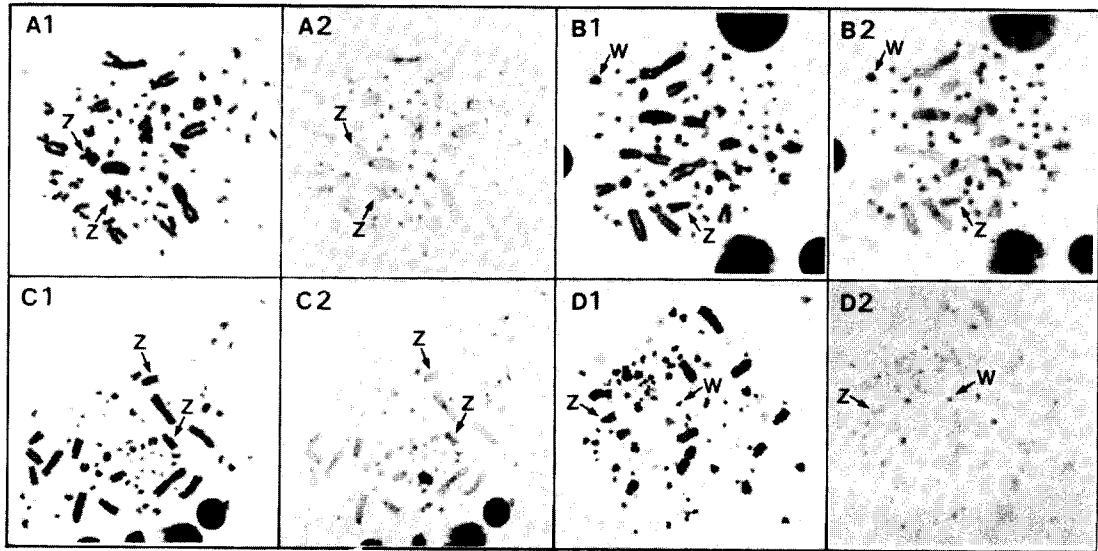


Fig. 1. Metaphase plates of the genus *Parus*, following a sequential Giemsa/C-banding.
A: *Parus major* (male), B: *Parus major* (female), C: *Parus ater* (male), D: *Parus ater* (female)

I, II, III 및 Carnoy's solution I, II, III에 통과
를 0.2N HCl에 1시간, 35°C Ba(OH)₂ · 8H₂O
포화용액에 5 ~ 8분간 처리하고 60°C 2XSSC
에 1시간 처리한 후에 8 % Giemsa용액으로 10
분간 염색하여 검경하였다.

결과

성염색체의 동정

*P. major*는 동원체 부위에 흐린 구조적 이질
염색질을 갖는 중부 Z-염색체(metacentric
Z-chromosome)와(Fig. 1A2) 동원체 부위가 매
우 진한 구조적 이질염색질로 구성된 단부 W-
염색체(telocentric W-chromosome)였으며(Fig.
1B2), *P. ater*는 동원체 부위에 흐린 구조적 이
질염색질을 갖는 차단부 Z-염색체
(subtelocentric Z-chromosome)와(Fig. 1C2)
염색체 전체가 구조적 이질염색질로 되어있는
단부 W-염색체로 추정되나 유사한 양상을 보이
는 microchromosome이 여러개 있어 정확한 동
정은 불가능하였다(Fig. 1D2).

*P. palustris*는 동원체 부위에 구조적 이질염색

질이 있는 차단부 Z-염색체와(Fig. 2A2) 동원
체 부위가 매우 진한 구조적 이질염색질로 되어
있는 중부 W-염색체(metacentric
W-chromosome)였으며(Fig. 2B2), *P. varius*는
구조적 이질염색질이 전혀없는 차중부
(submetacentric) 혹은 차단부 Z-염색체(Fig.
2C2)와 염색체 전체가 구조적 이질염색질로 나
타나는 중부 W-염색체였다(Fig. 2D2).

C-banding 방법에 의한 4종의 핵형 비교 분석

염색체 수는 4종 모두 $2n = 78 \sim 80$ 개로 일
반염색과 C-banding방법을 병행하여 실시하였
을 경우 염색체 수의 파악이 보다 용이했다.

*P. major*의 구조적 이질염색질 분포는 mac-
rochromosome 2쌍과 Z·W-염색체의 동원체 부
위 그리고 대부분의 microchromosome 동원체
부위에 존재한다(Fig. 3B). W-염색체는 그 크
기가 작아 응축상태에 따라 구조적 이질염색질
분포에 차이는 있으나 대부분 동원체 부위만이
매우 진한 구조적 이질염색질로 나타났다.

*P. ater*는 대부분의 macrochromosome과 Z-염
색체 그리고 반수 정도의 microchromosome 동
원체 부위에 구조적 이질염색질이 분포하고 있

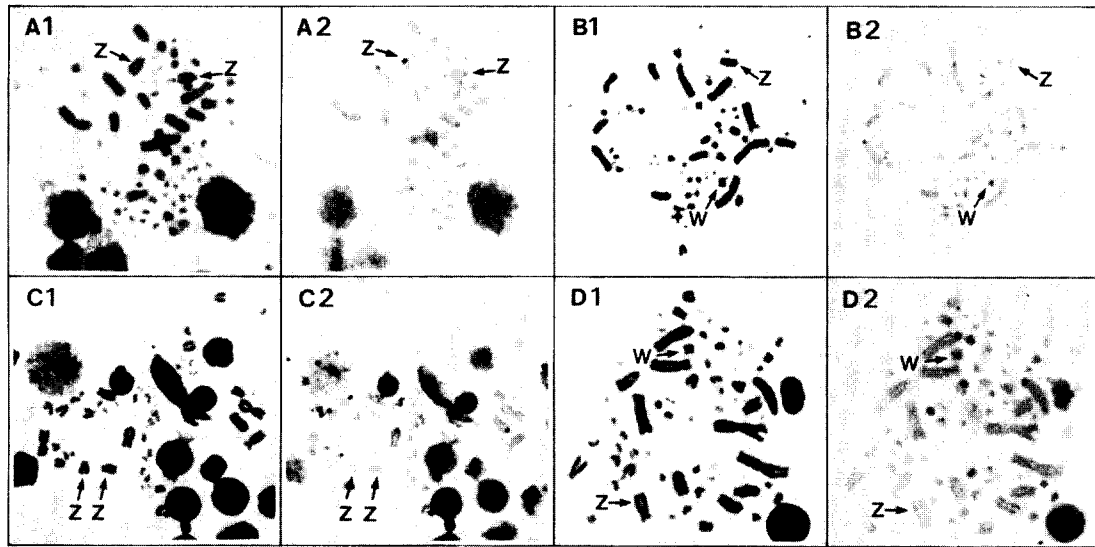


Fig. 2. Metaphase plates of the genus *Parus*, following a sequential Giemsa/C-banding. A: *Parus palustris* (male), B: *Parus palustris* (female), C: *Parus ater* (male), D: *Parus varius* (female)

었으며 macrochromosome 1쌍과 microchromosome 1쌍이 매우 진하게 나타났다(Fig. 4B). W-염색체는 전체가 구조적 이질염색질로된 microchromosome으로 추정되나 같은 양상을 보이는 microchromosome이 있어 정확한 동정은 불가능하였다(Fig. 1).

*P. palustris*는 대부분의 macrochromosome과 Z·W-염색체의 동원체 부위에 구조적 이질염색질이 존재하며 macrochromosome중 3쌍의 염색체는 매우 진하게 3쌍은 흐리게 염색되었다. 특히 첫번째 염색체는 동원체와 동원체 아래 장완에도 구조적 이질염색질이 존재하고 있었다. Microchromosome은 몇쌍에서만 매우 흐린 구조적 이질염색질이 관찰되었다(Fig. 5B).

*P. varius*는 1쌍의 macrochromosome과 3쌍의 microchromosome 동원체 부위에 매우 진한 구조적 이질염색질이 존재하며 microchromosome의 4 ~ 5쌍은 동원체 부위에 매우 흐린 구조적 이질염색질이 나타났다. 성염색체는 상기의 3종과는 달리 Z-염색체에서 구조적 이질염색질이 관찰되지 않았고 W-염색체에서는 염색체 전체가 구조적 이질염색질로 구성되어 있었다(Fig.

6B).

고찰

1970년대 후반에 들어 여러 banding 방법이 발달되어 왔으며 그 중에서 C-banding 방법은 조류에 있어서 성염색체 특히 W-염색체를 분석하는데 많이 이용되어 왔다(Stefos and Arrighi, 1971; Wang and Shoffner, 1974; Ansari and Kaul, 1979; Sasaki *et al.*, 1980, 1982, 1983a, b; Carlenius *et al.*, 1981; Pollock and Feccheimer, 1981). 이러한 C-banding의 이용은 대부분의 조류종에서 W-염색체가 microchromosome과 유사한 크기이므로 일반염색 방법으로는 동정이 어렵기 때문이며 외부형태로 성 구별이 어려운 종에 대해 생식기관의 관찰없이 즉 표본의 손상없이 성별을 판정하기 위한 방법이였다(Sasaki *et al.*, 1983b). 또한 Wang과 Shoffner (1974)는 trypsin을 이용한 C-banding방법으로 field에서 간단히 처리하여 W-염색체를 구별하는 방법을 개발하는 등 그 방법이 매우 다양하게 발전되어 왔다.

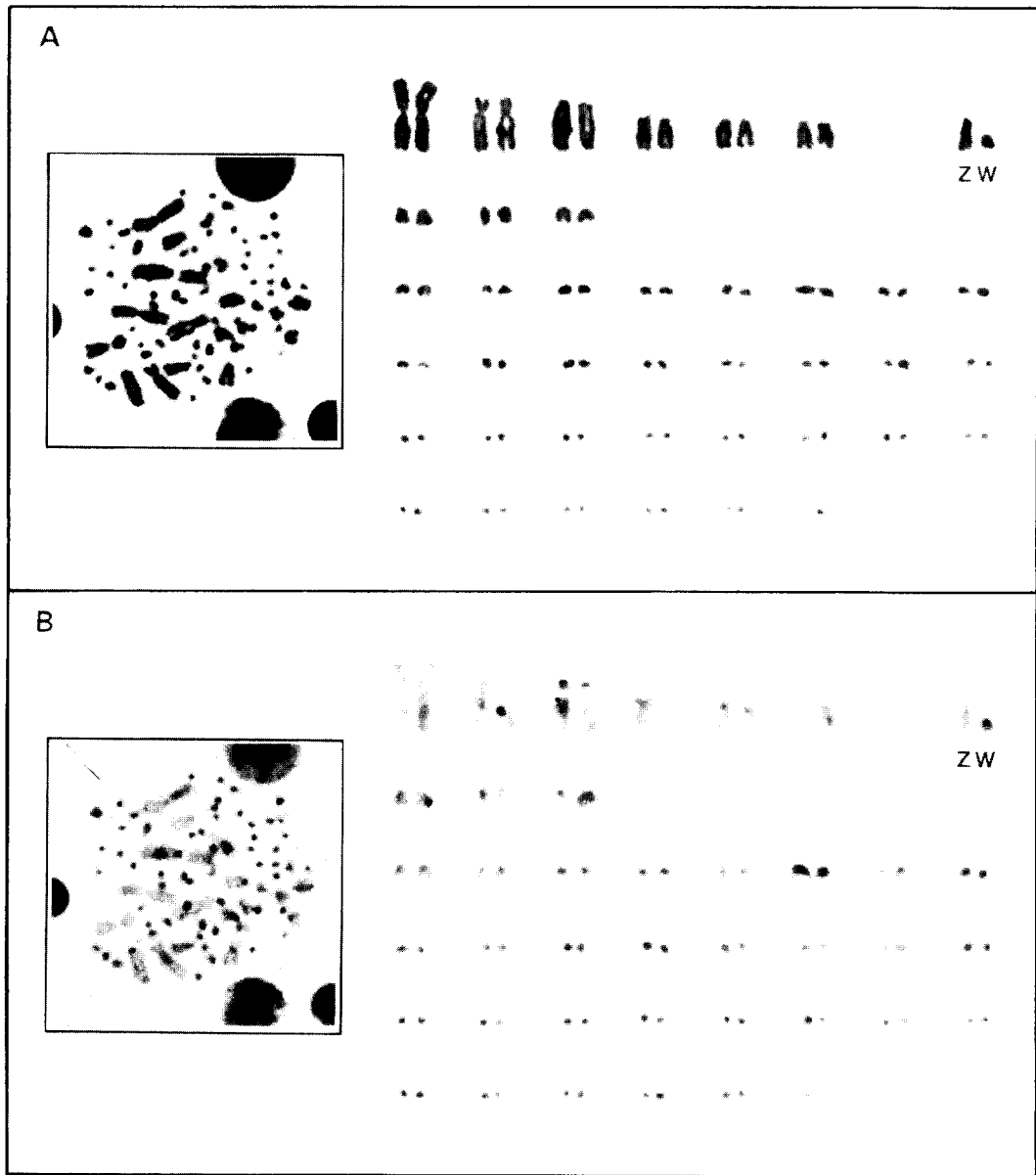


Fig. 3. Karyotypes (A) and C-banded karyotypes (B) of *Parus major*.

본 연구에서도 C-banding 방법으로 W-염색체를 동정할 수 있었으나 *P. ater*의 경우에는 C-banding만으로는 W-염색체를 정확히 동정할 수 없었다. 그러므로 *P. ater*의 W-염색체는 Wang과 Shofner(1974)의 trypsin을 이용한 C-band 혹은 Stock등(1974)의 trypsin과 urea를 이용한 G-banding 방법등을 이용하여 재확인 할

필요가 있다고 생각된다.

특히 조류의 염색체는 많은 수의 microchromosome을 가지고 있으므로 일반염색 방법으로 핵형이 분석된 상으로 C-band를 하여 염색체 수 및 성염색체를 확인하여야 할 것으로 사료된다.

C-banding 결과는 일반염색 방법에 의한 핵형

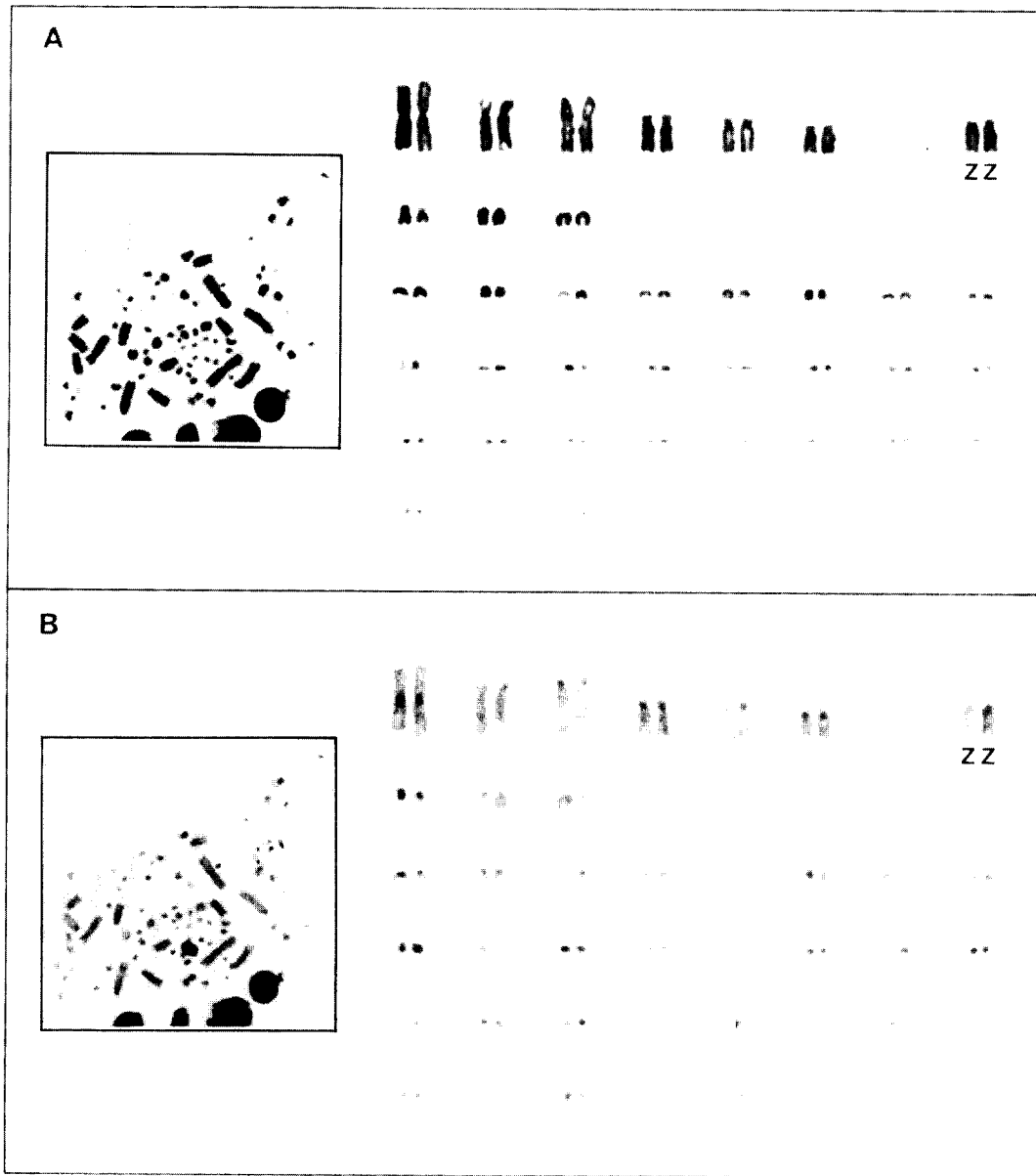


Fig. 4. Karyotypes (A) and C-banded karyotypes (B) of *Parus ater*.

비교보다 뚜렷한 중간 차이를 나타내고 있어 이와 이(1989)에 의해 추측된 박새속 조류에서의 근연종간 또는 아종간 염색체 변이와 제색 및 체구의 연관관계를 뒷받침 해 줄수 있는 또 하나의 결과로 생각된다.

*Gallus g. domesticus*와 *Melopsittacus undulatus*의

W-염색체는 전체가 구조적 이질염색질로 구성되어 있으며 Q-banding 방법으로 분석한 결과 많은 AT염기 배열로 구성되어 있다고 하였으나 (Ansari *et al.*, 1986), Tone 등(1984)은 많은 양의 methylation DNA가 W chromosome-specific repetitive units내에 존재하고 있음을 확인했고,

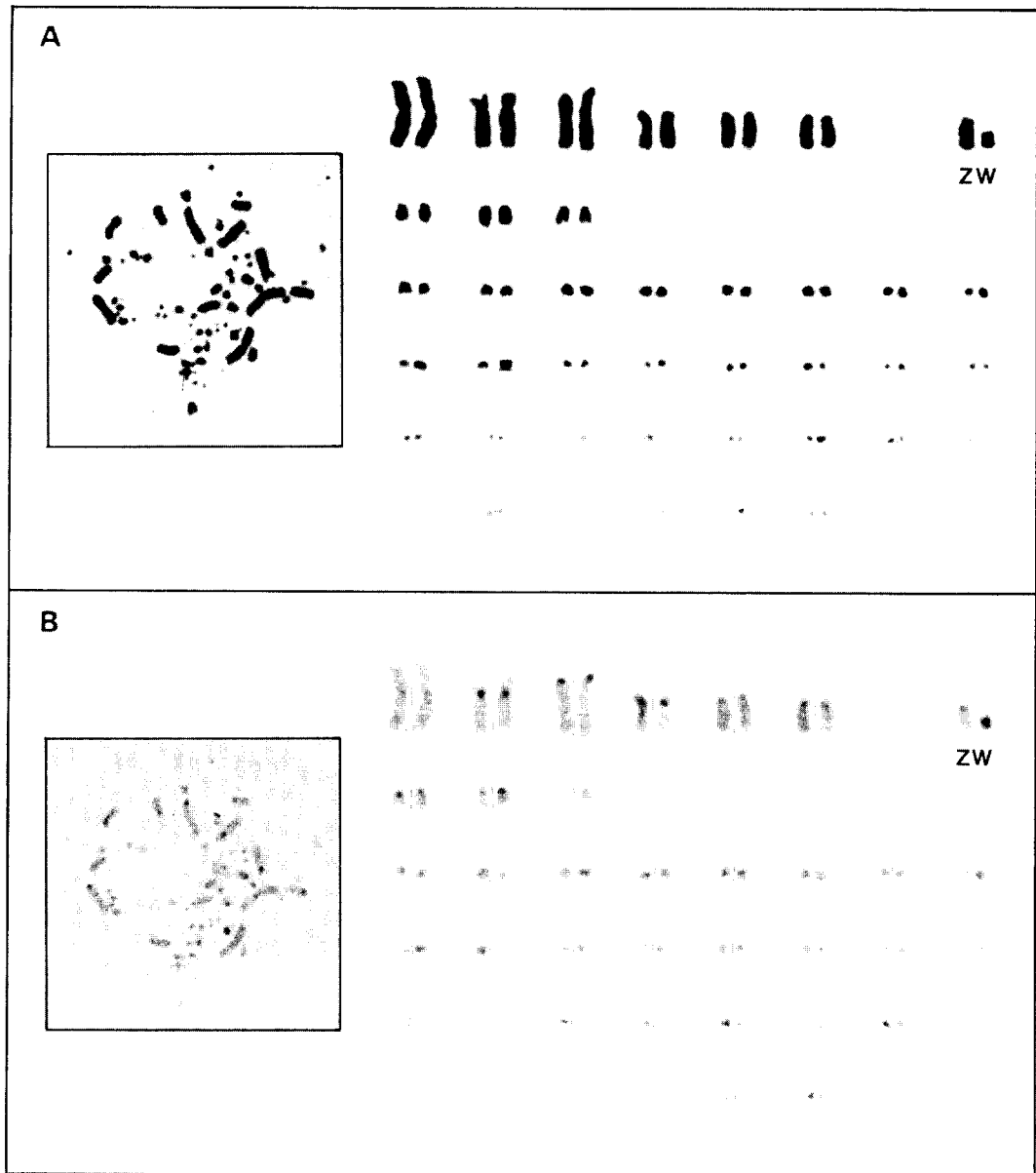


Fig. 5. Karyotypes (A) and C-banded karyotypes (B) of *Parus palustris*.

*Gallus g. domesticus*의 W-염색체 염기서열 분석에서는 AT의 양이 CG보다 무척 많은 것이 아니라 AT가 6 ~ 7개 연결되어 있는 repeating DNA unit가 있고 이들 units 사이에 CG dinucleotide가 산재해 있으며 이러한 CG dinucleotide의 methylation에 의해 heterochromati-

nization이 유발되는 것으로 추측하였다(Kodama *et al.*, 1987). 한편 Bird(1986)는 methylation DNA의 증가가 진화기작과 연관될 것으로 설명하였다. 그러나 Kodama등(1987)의 연구는 W-염색체 전체가 구조적 이질염색질로 구성된 경우이고 본 연구에서의 4종은 W-염색체의 형태

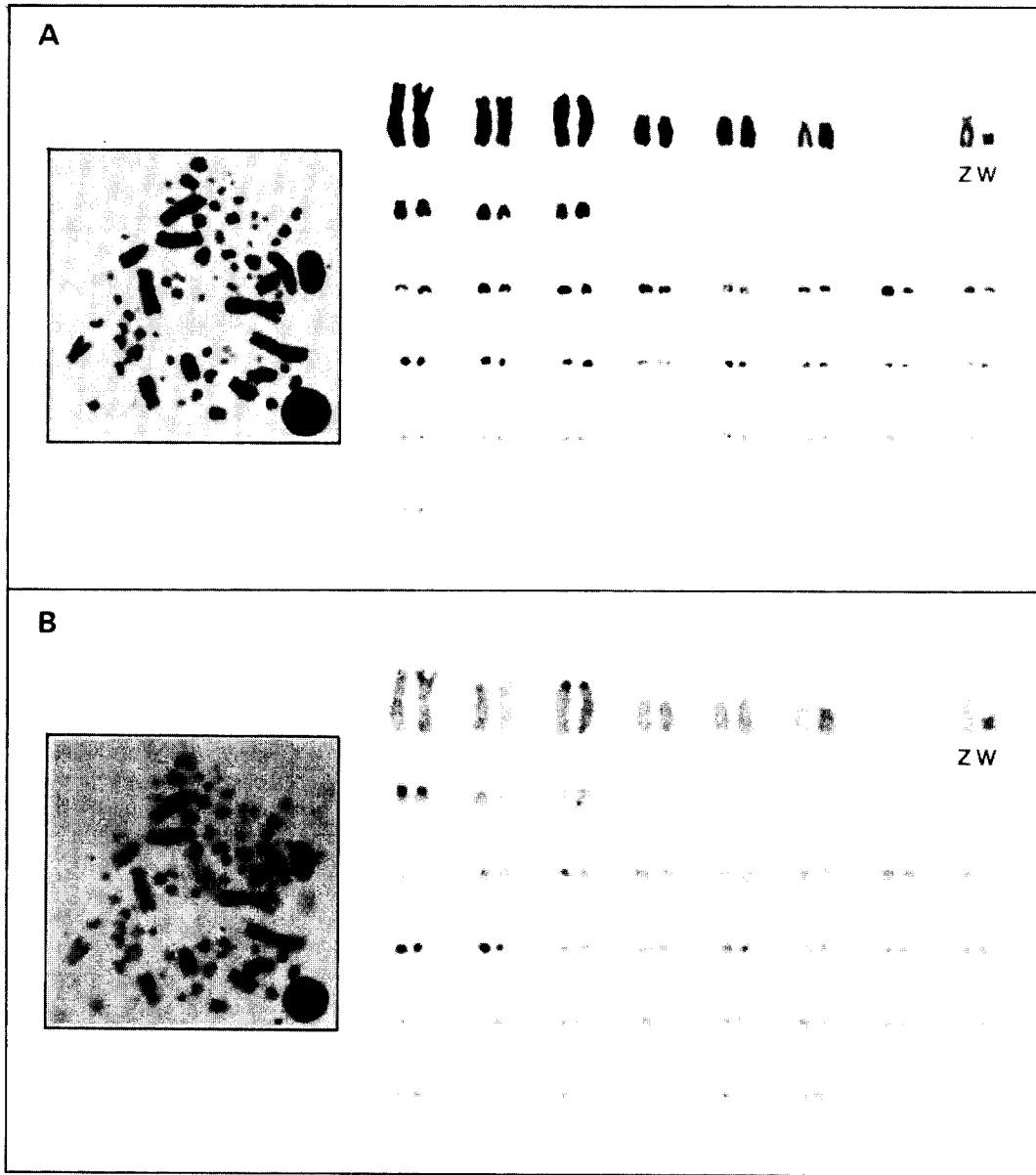


Fig. 6. Karyotypes (A) and C-banded karyotypes (B) of *Parus varius*.

및 구조적 이질염색질이 각기 다르므로 이들에 대한 염기서열을 분석한다면 상기의 연구와 비교할 수 있는 자료가 될 수 있을 것이다.

구조적 이질염색질은 염색체에 따라, 종에 따라 다양한 염색강도를 나타내고 있는데 이와같은 염색강도의 차이는 구조적 이질염색질로 구

성된 repetitive DNA의 염기구성이 다르기 때문이며, 응축정도도 크게 작용한다(Hsu and Arrighi, 1971; Schmid, 1980). 또한 Pollock과 Fechheimer(1981)는 기술적인 차이(technical variable)와 구조적 이질염색질의 양에 의한 차이를 강조하고 있다. Raman등(1978)은 대부분의

조류 genome에서는 몇개의 염색체에만 C-band가 존재하므로 동원체 부위에 존재하는 구조적이질염색질이 동원체에 기능적, 구조적 특이성을 부여하는데 있어 진화적으로 중요하다는 Walker(1971)의 제안을 뒷받침하지 못한다고 하였다.

조류의 진화는 염색체의 작은 조각들의 유전적 불활성화(genetic inactivation)에 의하며(Hammar, 1966), 이질염색질의 첨가 및 결실 그리고 pericentric inversion, centric fusion, fission, 전좌도 작용을 한다(Takagi and Sasaki, 1974; Stock and Mengden, 1975; Stock and Bunch, 1982). 일반염색 방법에 의한 한국산 박새속 4종의 핵형연구에서도 일부 염색체간의 차이가 전좌와 pericentric inversion에 의한 것으로 추측된 바 있다(Lee and Lee, 1989).

그러나 일반염색 방법과 C-banding 방법만으로는 4종간의 핵형진화 방향을 결정할 수 없었다. 또한 박새속 조류의 서식범위가 유라시아로 매우 넓고, 이들 종간 및 아종간 전기영동법에 의한 계통분화연구 자료도 미흡하다.

그러므로 번역학적 연구, sonogram분석, DNA-DNA hybridization, mt DNA 등 DNA 수준에서의 연구 및 여러가지 banding 방법에 의한 염색체의 정밀분석이 뒷받침되어야 할 것이며, 전 세계적으로 폭넓은 연구 교류가 있어야 조류의 핵형 진화 방향을 결정할 수 있을 것이다.

인용문헌

- Ansari, H. A. and D. Kaul, 1979. Inversion polymorphism in common green pigeon, *Treron phoenicoptera* (Latham) (Aves). *Japan. J. Gentet.* **54**:197-202.
- Ansari, H. A., N. Takagi, and M. Sasaki, 1986. Interordinal conservatism of chromosome banding patterns in *Gallus domesticus* (Galliformes) and *Melopsittacus undulatus* (Psittaciformes). *Cytogenet. Cell Genet.* **43**:6-9.
- Baker, R. J. and J. W. Bickham, 1980. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. *Syst. Zool.* **29**:239-253.
- Belتمان, R. H. R. and L. E. M. De Boer, 1984. A karyological study of 55 species of birds, including karyotypes of 39 species new to cytology. *Genetica* **65**:39-82.
- Bickham, J. W. and R. J. Baker, 1979. Canalization model of chromosomal evolution. *Bull. Carnegie Mus. Nat. Hist.* **13**:70-84.
- Bird, A. P., 1986. CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature* **321**:209-213.
- Carlenius, C., H. Rytman, H. Tegelström, and H. Jansson, 1981. R-, G- and C-banded chromosomes in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Hereditas* **94**:61-66.
- Hammar, B., 1966. The karyotypes of nine birds. *Hereditas* **55**:367-385.
- Hsu, T. C. and F. E. Arrighi, 1971. Distribution of constitutive heterochromatin in mammalian chromosomes. *Chromosoma* **34**:243-253.
- Itoh, M., T. Ikeuchi, H. Shimba, M. Mori, M. Sasaki, and S. Makino, 1969. A comparative karyotype study in fourteen species of birds. *Japan. J. Gentet.* **44**:163-170.
- Kodama, H., H. Saitoh, M. Tone, S. Kuhara, Y. Sakaki, and S. Mizuno, 1987. Nucleotide sequences and unusual electrophoretic behavior of the W chromosome-specific repeating DNA units of the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus*. *Chromosoma* **96**:18-25.
- Lee, S. K. and H. Y. Lee, 1989. Karyotypes of the Korean Birds. I. Karyological analysis on four species of genus *Parus* by conventional Giemsa staining method. *Korean J. Zool.* **32**:358-364.
- Pollock, B. L. and N. S. Fechtmeier, 1981. Variable C-banding patterns and a proposed C-band karyotype in *Gallus domesticus*. *Genetica* **54**:273-279.
- Raman, R., M. Jacob, and T. Sharma, 1978. Heterogeneity in distribution of constitutive heterochromatin in four species of birds. *Genetica* **48**:61-65.
- Rothfels, K., M. Aspden, and M. Mollison, 1963. The W-chromosome of the budgerigar, *Melopsittacus undulatus*. *Chromosoma* **14**:459-467.
- Rytman, H., H. Tegelström, and H. Jansson, 1979. G- and C-banding in four related *Larus* species (Aves). *Hereditas* **91**:143-148.
- Sasaki, M., C. Nishida, N. Takagi, and H. Hori, 1980. Sex-chromosomes of the elegant crested tinamou, *Eudromia elegans* (Aves: Tinamiformes: Tinamidae). *Chromo. Inform. Ser.* **29**:19-21.
- Sasaki, M., C. Nishida, and H. Hori, 1982. Banded karyotypes of the greenbacked guan, *Penelope jacquacu granti* (Cracidae), with notes on the karyotypic relationship to the male fowl (Megapodiidae) and domestic fowl (Phasianidae) (Galliformes: Aves). *Chromo. Inform. Ser.* **32**:26-28.

- Sasaki, M., C. Nishida, and K. Tsuchiya, 1983a. Autosomal polymorphism in the long-eared owl, *Asio otus* (Strigiformes: Aves). *Chromo. Inform. Ser.* **34**:17-18.
- Sasaki, M., N. Takagi, and C. Nishida, 1983b. Chromosomal diagnosis of sex in birds, its practice and application. *J. Japan. Asso. Zool. Gard. Aquar.* **25-4**:105-113.
- Schmid, M., 1980. Chromosome banding in Amphibia. V. Highly differentiated ZZ/ZW sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus adspersus* (Anura, Ranidae). *Chromosoma* **80**:69-96.
- Shields, G. F., 1982. Comparative avian cytogenetics: a review. *Condor* **84**:45-58.
- Shields, G. F., G. H. Jarrell, and E. Redrupp, 1982. Enlarged sex chromosomes of woodpeckers (Piciformes). *Auk* **99**:767-771.
- Stefos, K. and F. E. Arrighi, 1971. Heterochromatic nature of W chromosome in birds. *Exp. Cell Res.* **68**:228-231.
- Stock, A. D., F. E. Arrighi, and K. Stefos, 1974. Chromosome homology in birds: banding patterns of the chromosomes of the domestic chicken, ring-necked dove, and domestic pigeon. *Cytogenet. Cell Genet.* **13**:410-418.
- Stock, A. D. and G. A. Mengden, 1975. Chromosome banding pattern conservatism in birds and nonhomology of chromosome banding patterns between birds, turtles, snakes and amphibians. *Chromosoma* **50**:69-77.
- Stock, A. D. and T. D. Bunch, 1982. The evolutionary implications of chromosome banding pattern homologies in the bird order Galliformes. *Cytogenet. Cell Genet.* **34**:136-148.
- Sumner, A. T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* **75**:304-306.
- Takagi, N. and M. Sasaki, 1974. A phylogenetic study of bird karyotypes. *Chromosoma* **46**:91-120.
- Tone, M., Y. Sakaki, T. Hashiguchi, and S. Mizuno, 1984. Genus specificity and extensive methylation of the W chromosome-specific repetitive DNA sequences from the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus*. *Chromosoma* **89**:228-237.
- Walker, P. M. B., 1971. Origin of satellite DNA. *Nature* **229**:306-308.
- Wang, N. and R. N. Shoffner, 1974. Trypsin G- and C-banding for interchange analysis and sex identification in the chicken. *Chromosoma* **47**:61-69.

(Accepted August 25, 1989)

Karyotypes of the Korean birds II. Karyological analysis on four species of genus *Parus* by C-banding method.

Sung Keun Lee and Hei Yung Lee (Department of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea)

The chromosomal analysis of *Parus major*, *Parus ater*, *Parus palustris* and *Parus varius* of the genus *Parus* in Korea were performed by C-banding method. The identification of sex chromosomes was ascertained and the part of constitutive heterochromatin was more different between interspecies than by conventional Giemsa staining method. However, conventional Giemsa staining and C-banding methods could not explain mechanisms of speciation between four species.