

C-banding 방법에 의한 한국산 청개구리 두 종(*Hyla japonica*와 *Hyla suweonensis*)의 핵형 비교분석

유성림 · 이해영

인하대학교 이과대학 생물학과

한국산 청개구리 두 종, *Hyla japonica*와 *Hyla suweonensis*의 핵형을 C-banding 방법으로 비교분석한 결과 구조적 이질염색질은 두 종 모두 주로 동원체 부위에서 관찰되었으나 *H. suweonensis*의 3번 염색체에서 성별에 따른 이형현상이 나타났으며 이는 ZZ/ZW형의 성염색체로 생각된다.

*H. suweonensis*의 성염색체는 W염색체보다 Z염색체에 더 많은 구조적 이질염색질이 분포하고 있었다. 이러한 현상은 양서류나 다른 척추동물의 성염색체상의 이질 염색질 분포와는 다른 것으로서 청개구리과(Hylidae)의 *Gastrotheca ovifera*, *G. walkeri*와는(Schmid *et al.* 1988) 같은 현상이었다.

KEY WORDS: *Hyla japonica*, *Hyla suweonensis*, C-banding, ZZ/ZW sex chromosomes

청개구리과(Hylidae)는 Africa를 제외한 세계 전 지역에 분포하며 두꺼비과(Bufonidae)와 더불어 가장 진화된 무미류로 알려져 있다.(Schmid, 1978).

한국산 청개구리는 양(1962)에 의해 재 검토가 있는 후 1980년까지 *Hyla japonica* 한 종만이 서식하고 있는 것으로 알려져 왔다. 그러나 Kuramoto (1980)에 의해 *Hyla suweonensis*가 신종으로 기재되었고 양과 박(1980)은 두 종이 별종임을 확인하였다. 또한 이와 유(1988)는 일반염색과 NOR방법으로 두 종의 핵형을 비교한 결과 두 종의 염색체 수는 $2n = 24$ 로 동일하나 염색체 위의 수(Arm Number)에서 *H. japonica*는 $AN = 44$, *H. suweonensis*는 $AN = 46$ 으로 차이가 있고 이 차이는 Pericentric inversion에 의한 것으로 설명하였다. 또 두 종 모두 6번 염색체에 이차수축환이 위치하고 있으며 이차수축환 부위에는 NOR부위와 일치하였고 두 종 모두 성에 따른 염색체의 이형 현상은 발견되지 않았다.

양서류는 세계적으로 약 3000여 종이 서식하고 있으나(Schmid, *et al.*, 1983) 성염색체가 알려진

종은 약 20여 종으로 이중 무미류는 9종이었으며(Schmid, 1980; Iturra and Veloso, 1981; Shempp and Schmid, 1981; Schmid *et al.*, 1983; Green and Sharbel, 1988; Schmid *et al.*, 1988) 한국산 양서류에서는 성염색체가 보고된 바 없다.

무미류에서는 XX/XY형과 ZZ/ZW형의 두가지 성염색체 형(type)이 함께 발견되며 드문 경우 잘 분화된 성염색체를 가지고 있는 종도 있으나(Schmid, 1980; Schmid *et al.*, 1983, 1988) 구조적 이질염색질의 양이나 염색체의 형태에 아주 적은 차이만이 있거나 두 성염색체의 DNA복제양상에 다소의 차이가 있는등 일반적으로 덜 분화된 상태이므로 일반염색방법으로는 구별하기 곤란하다(Iturra and Veloso, 1981; Shempp and Schmid, 1981; Green and Sharbel, 1988). 한편 잘 분화된 성염색체를 가지고 있는 종들은 대개 청개구리과(Hylidae)에 속하는 종들이었다.

본 연구에서는 C-banding방법에 의해 두 종의 핵형을 비교분석하고 성염색체의 존재 여부를 확인하고자 하였다.

Table 1. Number of specimens and localities of the two species of genus *Hyla*.

Species	Date of Collection	Number of		Localities*
		F	M	
<i>Hyla japonica</i>	1988.6.12.	8	2	Kangchon, KW
	1988.6.22.	3	15	Suweon, KG
	1988.6.29.	6	18	Sanchong, KN
	1988.7.10.	1		Incheon
	1988.7.15.	10	5	Namhae, KN
	Total	28	40	
<i>Hyla suweonensis</i>	1988.6.22.	5	20	Suweon, KG
	1988.7. 8.	2	9	Incheon
	Total	7	29	

*KW: Kangwon-do, KG: Kyonggi-do, KN: Kyongsangnam-do.

재료 및 방법

1988년 6월부터 1988년 7월까지 인천, 수원등지에서 *Hyla japonica* 68개체, *Hyla suweonensis* 36개체를 채집하였다. 채집한 재료는 산채로 실험실로 운반하여 염색체 관찰에 필요한 골수세포를 채취하였으며 성별은 정소와 난소의 유무로 확인하였다(Table 1).

C-banding은 Sumner(1972)의 방법을 변형하여 적용하였다.

결과

C-banding염색 결과 두 종 모두 동원체 부위와 이차수축환 부위에 구조적 이질염색질이 분포하고 있었다. 한편 *H. suweonensis*의 3번 염색체 장완에서 *H. japonica*와 다른 band가 발견되었다(Fig. 1).

이 band는 수컷에서는 상동염색체 한쌍에 동일하게 나타났으나 암컷에서는 한쪽 염색체에만 다량의 이질염색질이 존재하여 이형의 쌍을 이루고 있었다(Fig. 1.C, D.).

또한 구조적 이질염색질 band의 강도는 염색체마다 다소의 차이가 있었으며 특히 두 종 모두 11번 염색체에서 이형현상이 나타났으나 일정한 경향성은 없었다.

고찰

C-banding결과 두 종의 구조적 이질염색질은 대체로 비슷한 분포양상을 보이거나 *H. suweonensis*의 3번 염색체 장완에서 *H. japonica*에는 없는 band가 확인되었다. 이 band의 양상은 암컷에서 heteromorphic하고 수컷에서는 homomorphic하게 나타나므로 *H. suweonensis*의 3번 염색체는 ZZ/ZW형의 성염색체로 추측된다.

이질염색질은 두가지 방법으로 축적될 수 있다. 하나는 진정염색질이 gene function을 잃으면서 이질염색질화(heterochromatinization)되는 것이고 다른 하나는 진정염색질의 손실없이 기존의 이질염색질이 축적되는 방법이다(Green and Sharbel, 1988).

성염색체의 분화는 원래의 상동염색체에서 많은 gene function을 잃는, W염색체나 Y염색체의 점진적인 이질염색질화와 연관이 있다(Charleworth, 1978). 이질염색질화는 두 상동염색체 사이의 유전자 교환(교차)의 억압에 뒤이어 일어나거나 두가지가 동시에 일어난다. 그러나 성염색체 분화가 이질염색질에 의한 것이 아니라 이질염색질의 축적 방법에 의한 것으로 보이는 system이 관찰되므로 성염색체의 분화와 gene function의 상실은 독립적이라는 것을 알 수 있다(Green and Sharbel, 1988).

*Hyla suweonensis*의 성염색체는 두 염색체의 크기가 같고 구조적 이질염색질 band의 유무에만 차이가 있으므로 이질염색질화에 의해 분화된 것으로 생각된다. 또한 근연종에는 없는 이형성염색체를 갖는 경우는 매우 드물나 *Leiopelma archeyi*와 *L. hamiltoni* 그리고 *Eupsophus miguelyi*와 *E. roseus*에서 보고된 바 있으며(Irurra and Veloso, 1981; Green and Sharbel, 1988) 이와 마찬가지로 *H. suweonensis*의 근연종인 *H. japonica*에서는 성염색체가 발견되지 않았다.

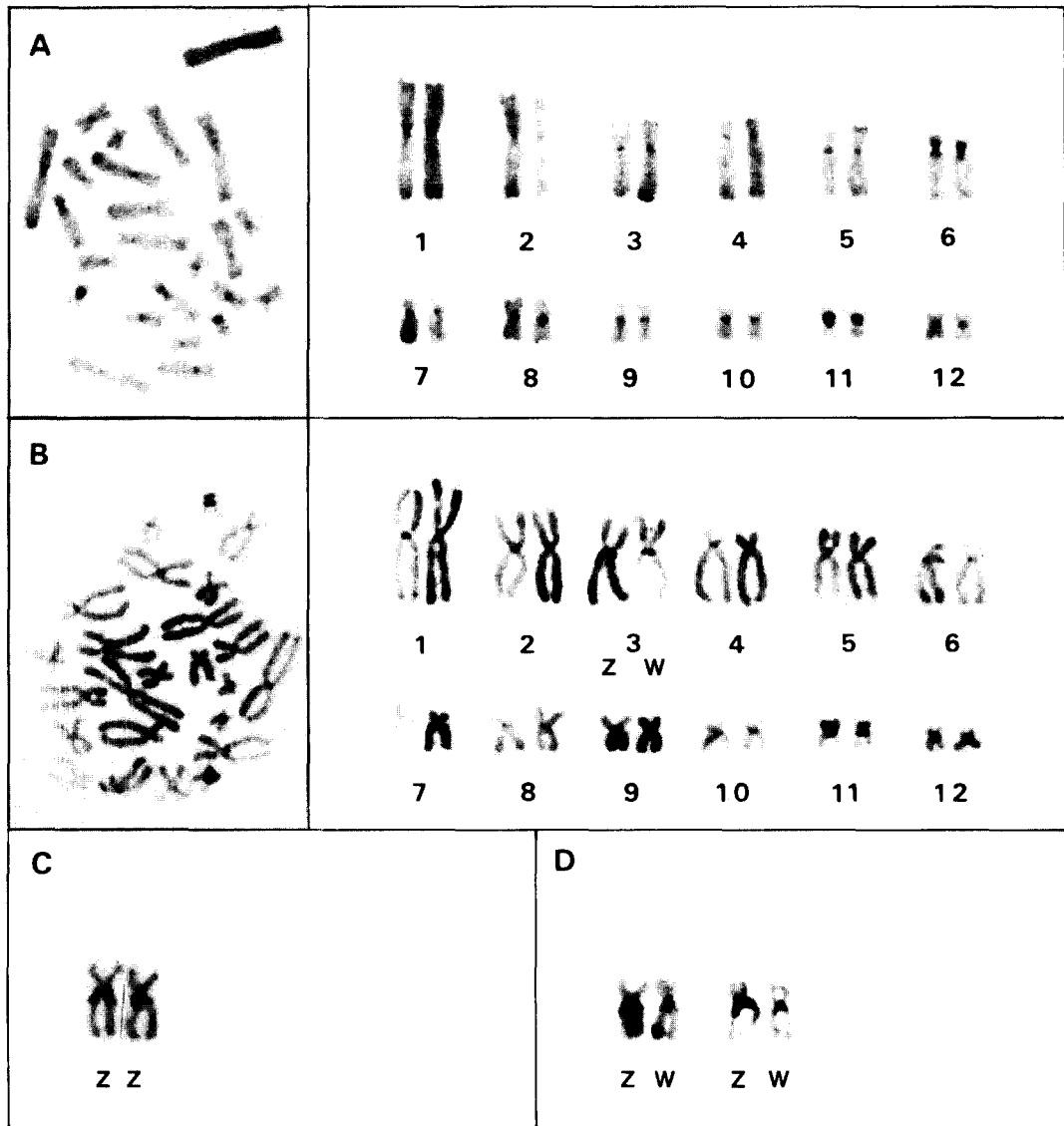


Fig. 1. C-banded karyotype analysis of the two species. A: *Hyla japonica*, B: *Hyla suweonensis*, C: ZZ chromosomes of *Hyla suweonensis* male, D: ZW chromosomes of *Hyla suweonensis* female.

한편 이질염색질은 축적되는 경향이 있으므로 (King, 1980) *H. suweonensis*의 성염색체는 *H. japonica*와의 종분화가 이루어진 후에 분화되었을 것으로 추측된다.

그러나 *H. suweonensis*에 *H. japonica*에는 없는 이질염색질 band가 있다고 해서 DNA-content에

차이가 생겼거나 functional gene-을 상실하였다고는 할 수 없다. 염색체에 있는 이질염색질 band의 대부분이 염색체의 DNA-content나 length와는 별개의 것으로 (Schmid, 1978) DNA-content는 highly repetitive와 foldback sequences의 양보다는 intermediate repetitive sequence의 양에 큰 영

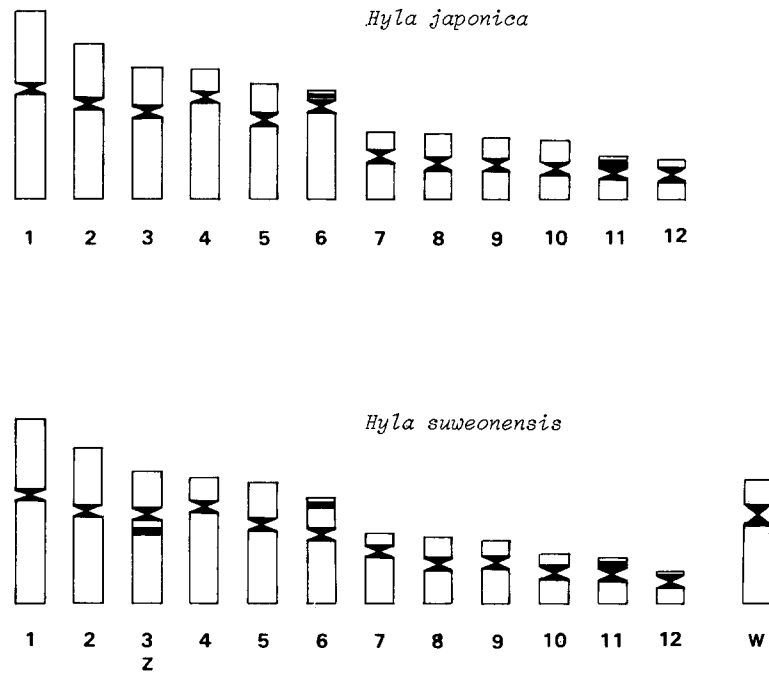


Fig. 2. Diagrammatic C-banded karyotypes of the two species.

향을 받는다. C-banding pattern은 highly repetitive 또는 rapidly reassociating sequence인 염색체 부위만을 나타내므로 intermediate repetitive sequence는 확인되지 않은 상태로 남아있기 때문에 DNA-content와 눈에 보이는 구조적 이질염색질의 양은 일치하지 않는다(Schmid, 1980).

포유류의 Y염색체에는 H-Y antigen이 coding되어 있으며 male-determining에 결정적인 역할을 한다. 또한 조류의 염색체는 난소에서 gonadal-rudiments의 성장율을 증가시킨다(Mittwoch *et al.*, 1971). 초파리의 경우에는 염색체가 성결정에 결정적인 역할을 하는 것이 아니라 X염색체와 상염색체의 비에 따라 성이 결정되며 무미류의 성염색체는 성결정에 결정적인 역할을 하는지 혹은 어떤 gene이 coding되어 있는지는 밝혀져 있지 않다.

한편 대부분의 척추동물에서는 Z나 X염색체에 비해 W나 Y염색체가 heterochromatic한데 반하여 *H. suweonensis*의 염색체는 Z염색체가 heterochromatic하게 나타났다. 이것은 매우 특이한 현

상으로서 같은 청개구리과(Hylidae)의 무미류인 *Gastrotheca ovifera*와 *G. walkeri*에서도 이러한 현상이 보고된 바 있다(Schmid *et al.*, 1988). 이들 두 종은 Y염색체보다 X염색체에 더 많은 이질염색질이 존재하고 있었다.

인용문헌

- Charleworth, B., 1978. Models for the evolution of Y chromosomes and dosage compensation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75**: 5618-5622.
- Green, D. M. and T. F. Sharbel, 1988. Comparative cytogenetics of the primitive frog, *Leiopelma archeyi* (Anura, Leiopelmatidae). *Cytogenet. Cell Genet.* **47**: 212-216.
- Iturra, C. P. and M. A. Veloso, 1981. Evidence for heteromorphic sex chromosomes in male Amphibians (Anura: Leptodactylidae). *Cytogenet. Cell Genet.* **31**: 108-110.
- King, M., 1980. C-banding studies on Australian Hylid frogs: Secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma* **80**:

- 191-217.
- Kuramoto, M., 1980. Mating call of tree frogs (genus *Hyla*) in the far east, with description of a new species from Korea. *Copeia* **1**: 100-108.
- Lee, H. Y. and S. L. Yu, 1988. Comparative karyological analysis of the Korean treefrogs, *Hyla japonica* and *Hyla suweonensis* (Anura, Hylidae). *Korean J. Zool.* **31**: 104-110.
- Mittwoch, U., T. L. Narayanaa, J. D. A. Delhanty, and C. A. B. Smith, 1971. Gonadal growth in chick embryos. *Nature New Bio.* **231**: 197-200.
- Shempp, W. and M. Schmid, 1981. Chromosome banding in Amphibia. VI. Brdu-replication pattern in Anura and demonstration of XX/XY sex chromosomes in *Rana esculanta*. *Chromosoma* **83**: 697-710.
- Schmid, M., 1978. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma* **66**: 123-143.
- 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.
- Schmid, M., T. Haff, B. Geile and S. Sims, 1983. Chromosome banding in Amphibia. VII. Aa usal XX/XX sex chromosome system in *Gastrotheca riobambae* (Anura, Hylidae). *Chromosoma* **88**: 69-82.
- Schmid, M., C. Steinlein, W. Feichtinger, C. G. de Almeida, and W. E. Duellman, 1988. Chromosome banding in Amphibia XIII. Sex chromosomes, heterochromatin and meiosis in marsupial frogs (Anura, Hylidae). *Chromosoma* **97**: 33-42.
- Sumner, A. T., 1972. A simple technique for demonstrating centromere heterochromatin. *Exp. Cell Res.* **75**: 304-306.
- Yang, S. Y., 1962. Reconstruction on the classification of Korean Anurans, family Hylidae. *Korean J. Zool.* **5**: 35-38.
- Yang, S. Y. and B. S. Park, 1988. Speciation of the two species of the genus *Hyla* (Anura) in Korea. *Korean J. Zool.* **31**: 11-20.

(Accepted October 25, 1989)

**Comparative karyological analysis of the Korean tree frogs,
Hyla japonica and *Hyla suweonensis* (Anura, Hylidae)**

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

The comparative karyological analysis of the Korean treefrogs, *Hyla japonica* and *Hyla suweonensis*, were performed by C-banding method. Heteromorphic sex chromosomes, female heterogamety, has been identified in the 3rd chromosomes of *H. suweonensis*. *H. suweonensis* seem to have sex chromosomes which are ZZ/ZW type. The Z chromosomes contain large amount of constitutive heterochromatin, but little heterochromatin is located in the W chromosomes. This is in contrast to all previously known amphibian and most other vertebrate's W or Y chromosomes, except *Gastrotheca ovifera* and *G. walkeri* (Schmid *et al.*, 1988).