

한국산 청개구리 두 종 (*Hyla japonica*와 *H. suweonensis*)의 핵형 비교분석

이혜영 · 유성림

인하대학교 이과대학 생물학과

한국산 청개구리 두 종 (*Hyla japonica*와 *Hyla suweonensis*)의 핵형을 비교분석한 결과 두 종의 핵형은 $2n=24$ 로 동일 하였으나 두 종의 6번 염색체에 뚜렷한 차이가 있었다. 두 종의 6번 염색체는 동일한 % length를 보이나 *Hyla japonica*의 6번 염색체는 subtelocentric chromosome인 반면에 *Hyla suweonensis*의 6번 염색체는 submetacentric chromosome이었다. 6번 염색체의 이러한 형태적 차이는 pericentric inversion에 의한 것으로 설명할 수 있다. 또한 두 종은 모두 6번 염색체에 1쌍의 NOR을 가지고 있었다.

KEY WORDS: *Hyla japonica*, *Hyla suweonensis*, Karyological analysis

양서류는 전세계적으로 약 3,000여종이 분포하고 있으며 (Schmid, 1983) 한국산 양서류는 유미류 3속5종과 무미류 5속11종 등 총 2목6과 16종으로 분류되어 있다. 양 (1962)은 한국산 청개구리과의 외부형태 분류결과 *Hyla japonica* 한 종으로 보고하였고 그 후 Kuramoto (1980)는 *H. japonica*와는 mating call과 몇 가지 형태적 차이가 있는 집단을 *Hyla suweonensis*로 명명하고 신종으로 발표하였다.

양 등 (1981)은 형태적으로 구별이 되지 않는 두 종의 mating call pattern을 sonogram을 사용하여 분석하였고 전기영동에 의해 isozyme pattern을 분석함으로써 별종임을 재확인 하였으며 그 결과를 토대로 두 종의 분화연대를 분석한 결과 약 200만년 전에 두 종 사이에 종분화가 일어난 것으로 추정하였다.

두 종의 핵형은 Kuramoto (1980), 김 등 (1981) 및 전 (1982)에 의해 일반염색법으로 비교연구 되었으나 염색체수 ($2n=24$) 및 arm number ($AN=48$)가 동일하다고 보고하였다. 이 (1984)는 C-banding 방법으로 두 종의 핵형을 비교하였으나 뚜렷한 차이는 없는 것으로 보고한 바 있다.

본 실험에서는 일반염색과 silver-staining 방

법을 이용하여 두 종의 핵형을 분석한 결과 두 종의 핵형간에 차이가 있어 보고하는 바이다.

재료 및 방법

*H. japonica*는 양 등 (1981)의 분포목록을 참고하여 채집하였고 *Hyla suweonensis*는 박

Table 1. Number of specimens and localities of the 2 species of genus *Hyla*.

Species	Date of collection	Number of m* f*		Localities
<i>H. japonica</i>	1986. 4. 29	11	0	Inchön
	1986. 5. 1	2	2	Kapyöng
	1986. 5. 3	8	3	Kangchon
	1986. 5. 24	3	2	Suwön
	1986. 6. 16	3	0	Inchön
	1986. 7. 17	2	1	Inchön
	Total	29	13	
<i>H. suweonensis</i>	1986. 4. 29	0	1	Inchön
	1986. 6. 16	15	1	Inchön
	1986. 7. 17	4	2	Inchön
	Total	19	4	

m*: male, f*: female

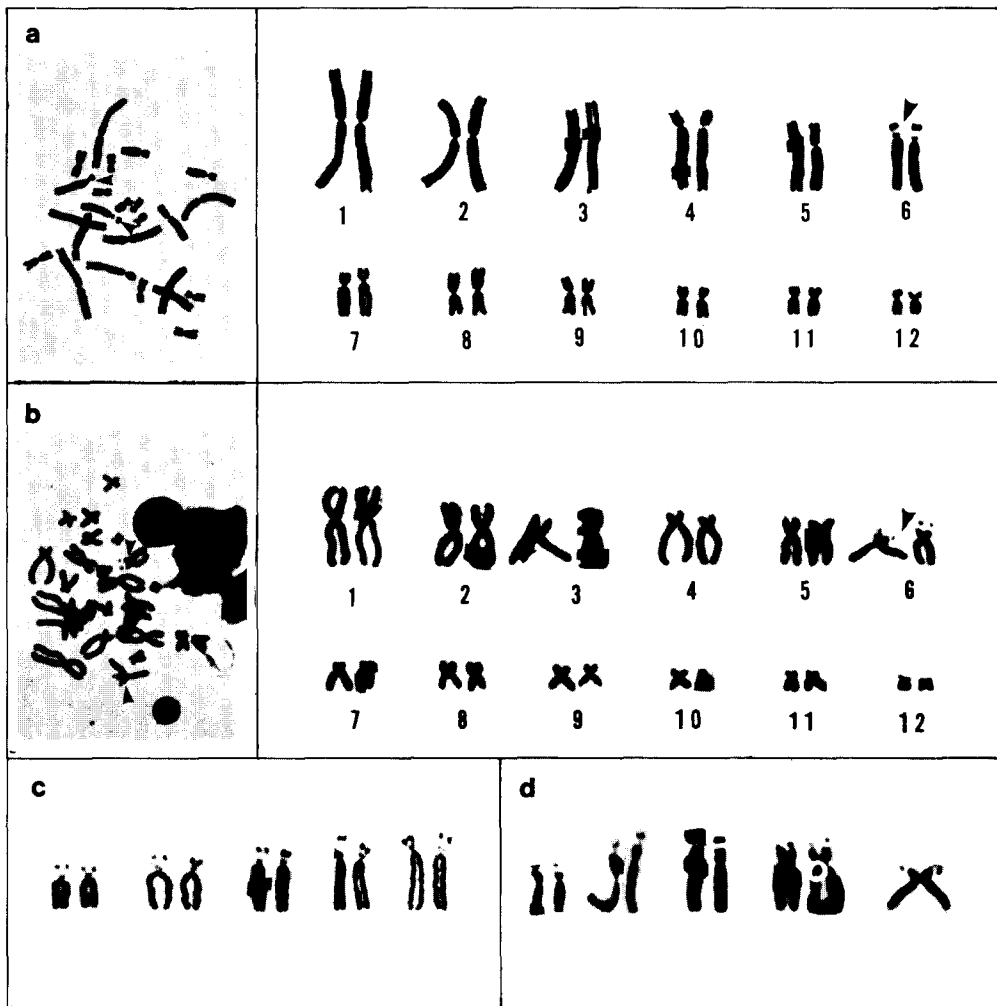


Fig. 1. Karyotypes of two species. a, *H. japonica*; b, *H. suweonensis*; c, *H. japonica* 6th chromosome; d, *H. suweonensis* 6th chromosome

(1982)의 문헌을 참고로하여 채집하였다 (Table 1).

두 종은 sympatric habitat현상을 나타내므로 mating call로 일차적인 동정을 하여 채집한 후 산채로 실험실로 운반하였다. 염색체 표본 제작 시 조직 (Muscle, Heart, Liver)을 떼어 -70°C 에 보관하였다가 전기영동에 의한 isozyme 분석으로 종을 재확인하였다.

염색체 표본은 이 (1984)의 방법으로 제작하여 일반염색을 하였으며 silver-staining은 Howell (1980)의 방법을 이용하였다.

결 과

*Hyla japonica*의 염색체수와 arm number는 $2n = 24$, $AN = 44$ 이었고 염색체의 길이에 따라 6쌍은 large group으로 나머지 6쌍은 small group으로 구분되며 각 group의 염색체 길이는 점진적인 감소를 나타냈다. 또한 염색체는 metacentric chromosome 7쌍, submetacentric chromosome 3쌍과 2쌍의 subtelocentric chromosome으로 구성되어 있으며 telocentric chromosome은 없었

Table 2. Quantitative data for the chromosomes of *Hyla japonica* from which the idiograms were constructed. Measurements were made of 16 sets of metaphase chromosomes of the males and females.

Pair No.	% Length of			Centromeric Index	Type
	Total	Long arm	Short arm		
1	16.42±0.61	9.43	6.98	42.81	m
2	13.55±1.08	7.87	5.67	41.87	m
3	11.25±1.08	7.36	3.89	34.47	sm
4	11.09±0.83	8.71	2.38	21.52	st
5	10.01±0.70	6.75	3.47	34.60	sm
6	9.07±0.39	7.86	2.21	24.32	st
7	5.92±0.45	4.12	1.79	29.62	sm
8	5.91±0.35	3.18	2.73	46.22	m
9	5.38±0.24	3.16	2.22	41.19	m
10	5.27±0.21	2.68	1.67	39.33	m
11	3.99±0.23	2.40	1.59	39.82	m
12	3.31±0.29	2.02	1.25	38.15	m

Centromeric index = length of short arm × 100 / length of whole chromosome. Type=according to the definition by Levan (1964); m=metacentric chromosome, sm= submetacentric chromosome, st=subtelocentric chromosome.

Table 3. Quantitative data for the chromosomes of *Hyla suweonensis* from which the idiograms were constructed. Measurements were made of 16 sets of metaphase chromosomes of the males and the females.

Pair No.	% Length of			Centromeric index	Type
	Total	Long arm	Short arm		
1	15.97±0.91	9.18	6.79	42.08	m
2	13.45±0.96	7.83	5.63	41.94	m
3	11.40±1.28	7.52	3.89	34.14	sm
4	10.87±0.70	8.27	2.61	23.22	st
5	10.29±1.21	6.64	3.63	35.02	sm
6	9.07±0.99	6.44	2.63	29.92	sm
7	6.20±0.86	6.44	2.63	29.92	sm
8	5.86±0.29	3.26	2.60	44.14	m
9	5.46±0.29	3.39	2.07	37.95	m
10	4.37±0.41	2.71	1.67	38.82	m
11	4.19±0.37	2.51	1.68	39.86	m
12	2.94±0.36	1.81	1.13	39.65	m

Centromeric index=length of short arm × 100 / length of whole chromosome Type =according to the definition by Levan (1964); m=metacentric chromosome, sm= submetacentric chromosome, st=subtelocentric chromosome

다. 제6번 염색체는 subtelocentric chromosome 으로 단완 (short arm) 부위에서 이차수축환 (secondary constriction)이 관찰되었다 (Fig. 1, Table 2).

*Hyla suweonensis*의 염색체수 ($2n=24$)는 *H. japonica*와 동일하나 arm number는 48로서 차이

를 나타냈으며 염색체 구성면에서는 *H. japonica*와 동일하게 두 group으로 나뉘고 염색체 길이에서도 각 group 별로 점진적인 감소를 하고 있다. 염색체의 구성은 metacentric chromosome 7쌍, submetacentric chromosome 4쌍과 subtelocentric chromosome이 1쌍이었고

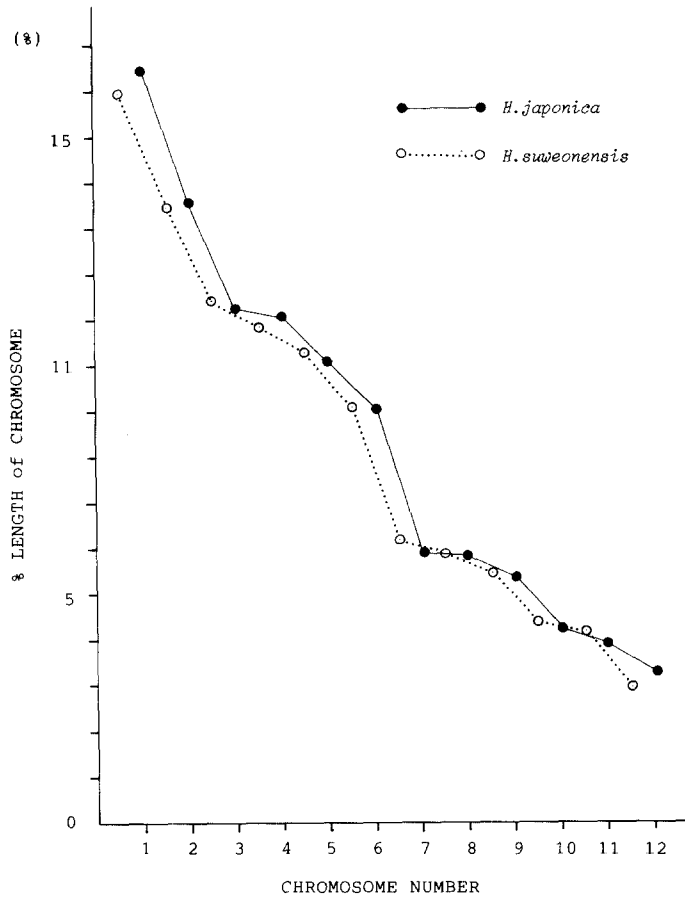


Fig. 2. Comparative representative of % length determined in the metaphase chromosomes of *Hyla japonica* and *Hyla suweonensis*.

6번 염색체의 단완에서 이차수축환이 발견되었다 (Fig. 1, Table 3).

두 종의 염색체 길이 및 구조상에 뚜렷한 차이는 없었으나 6번 염색체에서 형태적인 차이점이 발견되었다. 즉, *H. japonica*의 6번 염색체는 단완이 거의 없고 centromere 바로 위에 이차수축환이 위치하고 있으며 *H. suweonensis*의 6번 염색체는 단완이 비교적 길며 그 단완위에 이차수축환이 위치하고 있었다. 6번 염색체의 전체길이(%)는 두 종에서 차이가 없었다 (Fig. 2, Tables 2 and 3).

한편 silver-staining 결과 두 종에서 각각 1쌍씩의 인형성부위(NOR)가 발견되었으며 NOR은

일반염색에서의 이차수축환부위와 일치하였다 (Fig. 3).

고 찰

청개구리과(Hylidae)는 Africa를 제외한 전세계에 널리 분포되어 있다 (Schmid, 1978). 한국산 청개구리는 1980년 이전에는 *H. japonica* 한 종만이 서식하고 있는 것으로 보고 되었으나 Kuramoto (1980)와 양 등 (1981)의 연구에 의하여 *H. japonica*와 *H. suweonensis* 두 종이 서식하고 있음이 확인되었다.

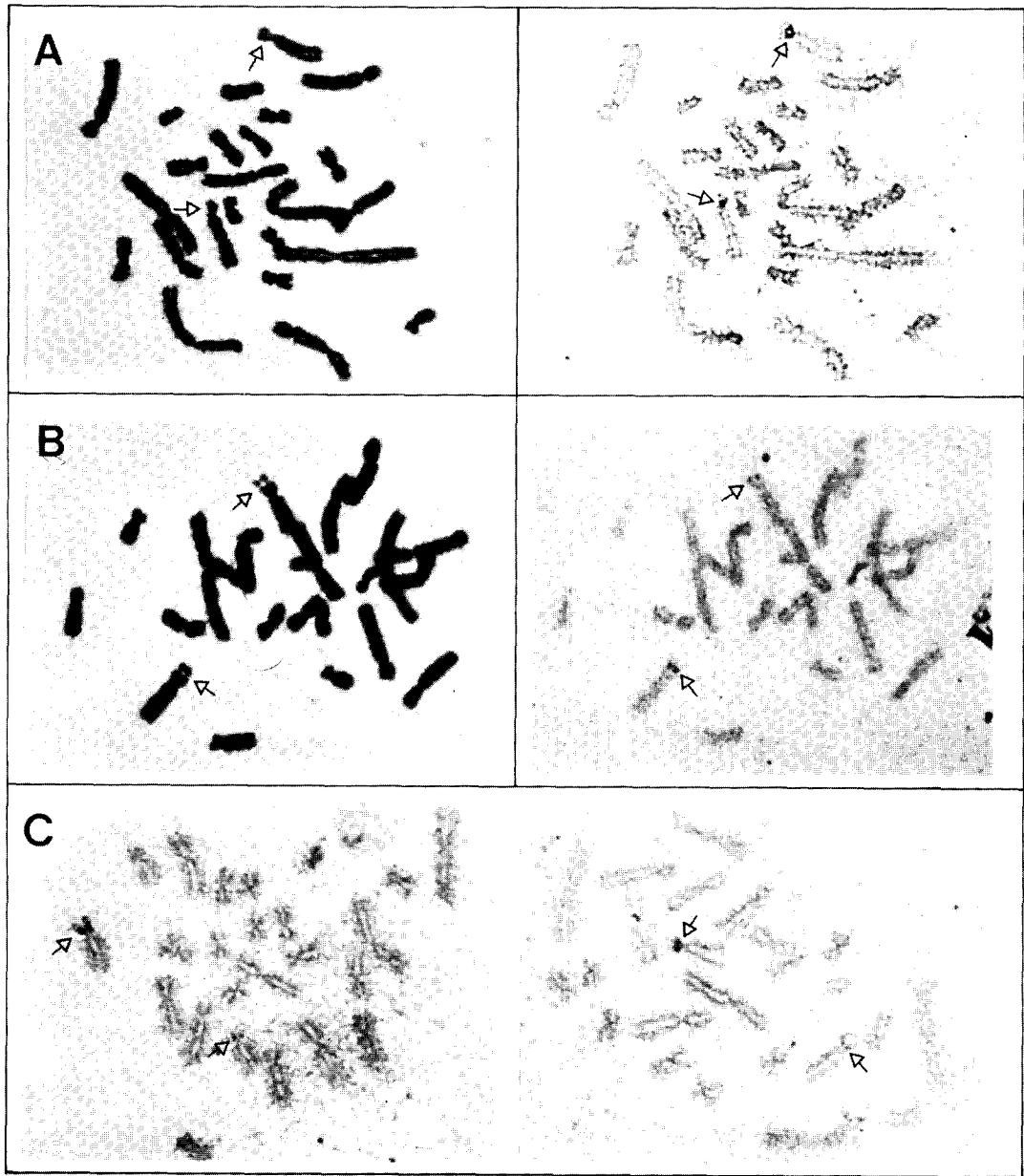


Fig. 3. Karyotypes of *H. japonica* (A,C) and *H. suweonensis* (B). Left of A and B, conventional giemsa staining; Right of A,B and C, NOR staining

청개구리 두 종에 대한 핵형은 Kuramoto (1980), 김 등(1981), 전 (1982) 및 이 (1984)에 의해 연구되었으나 뚜렷한 차이가 없는 것으로 보고되었다.

그러나 본 실험의 결과 두 종의 염색체는 그 구성이 유사하나 제6번 염색체에서 차이가 있음

이 관찰되었다. 제6번 염색체의 전체길이(%)는 같으나 장완과 단완의 길이 및 이차수축환의 위치에 차이가 있었다.

염색체 수와 염색체의 길이(%) 변화는 없고 arm number만이 차이를 보이고 있다. 그러므로 이와같은 염색체의 형태적 차이는 sub-

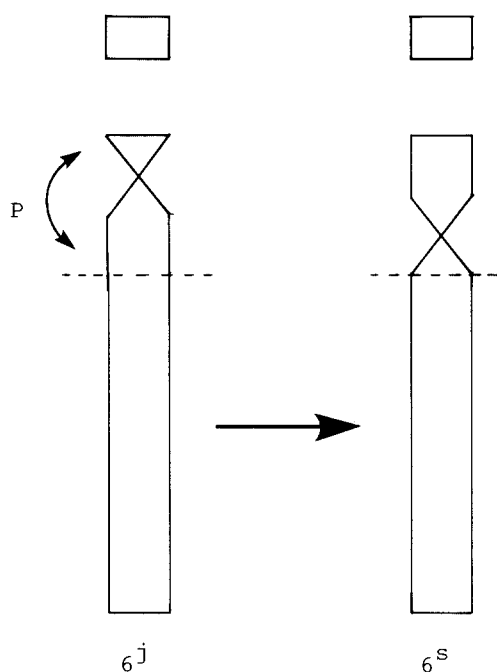


Fig. 4. A diagrammatic comparison between the 6th chromosomes of *H. japonica* and *H. suweonensis*. j, *H. japonica*; s, *H. suweonensis*; p, pericentric inversion

telocentric chromosome인 *H. japonica*의 제6번 염색체에서 장완의 일부분과 동원체 그리고 단완을 포함한 부분에 pericentric inversion이 일어난 결과 submetacentric chromosome인 *H. suweonensis*의 제6번 염색체가 된 것으로 추측된다 (Fig. 4).

Pericentric inversion에 의한 karyotypic variation은 염색체수와는 무관하게 arm number를 변화시킬수 있는 염색체 재배열과정으로 Plethodontid salamander인 *Aneides ferreus*의 연구 (Kezer and Sessions, 1979)와 한국산 산개구리 *Rana dybowskii*와 그 근연종인 *R. amurensis*의 연구 (Lee and Park, 1986b) 등에서 보고된 바 있다.

청개구리과 두 종의 핵형분석은 일반 염색법과 silver-staining만을 이용하여 얻은 결과이므로 다른 여러가지 banding technique을 이용하여 면밀히 분석함으로써 염색체의 형태적인 차

이가 생기게된 기작에 대하여 보다 뚜렷하고 정확한 설명을 할 수 있을 것이다.

양서류에서 성염색체가 밝혀진 종은 25종에 불과하며 그중 5종만이 무미류에서 보고되었다. 양서류의 성염색체는 매우 원시적인 분화 상태로 크기에 뚜렷한 차이가 없기 때문에 일반염색 방법으로는 확인할 수 없는 경우가 많다 (Schmid, 1980).

한국산 양서류에서는 성염색체가 알려진 바 없으며, *Rana dybowskii*의 암수에서 차이를 보이는 heteromorphic한 염색체쌍이 관찰되었으나 이는 성염색체와는 무관한 지리적인 polymorphism으로 밝혀졌다 (Lee et al., 1986a).

H. japonica 염색체의 silver-staining 결과 나타나는 NOR에서 heteromorphic한 현상이 관찰되었으나 (Fig. 3B) 이것이 sex와 연관되어 있는지는 아직 분명하지 않다. 여러가지 banding technique의 이용과 면밀한 분석으로 sex와의 관련여부가 밝혀질 것으로 기대된다.

인용문헌

- Howell, W. M. and D. A. Black, 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* **36**:1014.
- Jeon, S. K., 1982. Studies of karyotypes of the Korean Amphibians. M. S. Thesis, Inha Univ..
- Kezer, J. and S. K. Sessions, 1979. Chromosome variation in the plethodontid salamander, *Aneides ferreus*. *Chromosoma (Berl.)* **71**:65-80.
- Kim, Y. J. and J. B. Kim, 1981. Studies on the karyotypes of Korean Anura. *Korean J. Genetics* **2**:90-88.
- Kuramoto, M., 1980. Mating calls of tree frogs (Genus *Hyla*) in the far east, with description of a new species from Korea. *Copeia* **1**:100-108.
- Lee, H. S., 1984. Studies on the karyotype analysis of Korean Amphibians by C-banding technique. M. S. Thesis, Inha Univ..
- Lee, H. Y. and C. S. Park, 1986a. C-banding analysis for heteromorphic regions in Korean frogs, *Rana dybowskii*. *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **7**:133-138.
- Lee, H. Y. and C. S. Park, 1986b. Karyotypical evolution between *Rana dybowskii* and *Rana amurensis*

- (Amphibia, Anura). *Korean J. Genetics* **8**:1-11.
- Levan, A., K. Fredga, and A. A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* **52**:201-220.
- Park, B. S., 1982. Geographic variations between two species of *Hyla* in Korea. M. S. Thesis, Inha Univ..
- Schmid, M., 1978. Chromosome banding in Amphibia I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma (Berl.)* **66**:361-388.
- Schmid, M., 1980. Chromosome banding in Amphibia IV. Differentiation of GC- and AT- rich chromosome regions in Anura. *Chromosoma(Berl.)* **77**:83-103.
- Schmid, M., 1980. Chromosome banding in Amphibia V. Highly differentiated ZW/ZZ sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus adspersus* (Anura, Ranidae). *Chromosoma(Berl.)* **80**:69-96.
- Schmid, M., T. Haff, B. Geill, and S. Sims, 1983. Chromosome banding in Amphibia VIII. An unusual XY/XX sex chromosome system in *Gastrotheca riobambae* (Anura, Hylidae). *Chromosoma(Berl.)* **88**:69-82.
- 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, 1981. Species comparison of the Genus *Hyla* in Korea. *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **2**:75-83.
- (Accepted February 9, 1988)

Comparative Karyological Analysis of the Korean Treefrogs, *Hyla japonica* and *Hyla suweonensis* (Anura, Hylidae)

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

The comparative karyological analysis of the Korean treefrog, *Hyla japonica* and *Hyla suweonensis*, performed by conventional giemsa-staining and NOR-staining method. The karyotypes of both species were the same ($2n=24$). However, according to the karyological analysis, the 6th chromosomes of the two species distinctly different. Eventhough the 6th chromosomes of the two species shown the same % length, construction of the 6th chromosome of *H. japonica* was subtelocentric chromosome while *H. suweonensis* was submetacentric chromosome. This phenomena could explain that the morphological differences in the 6th chromosomes might be caused by pericentric inversion.

The two species have 1 pair of NOR site in the 6th chromosome.