

흡충류인 간질, 췌질 및 칼리코포론쌍구흡충의 염색체에 관한 연구

장두환* · 노재욱* · 강두원* · 김병기** · 김성원***

서울대학교 수의과대학*

한국바이엘화학(주) 동물의학연구소**

서울특별시 보건환경연구원***

(1990. 7. 2 접수)

Studies on the chromosomes of trematoda, *Fasciola* spp, *Eurytrema pancreaticum* and *Calicophoron calicophorum* in Korea

Du-hwan Jang*, Jae-wuk Noh*, Du-weon Kang*, Byung-ki Kim**, Sung-won Kim***

College of Veterinary Medicine, Seoul National University*

Animal Pharmaceuticals Institute, Bayer Vetchem Co Ltd(Korea)**

Seoul Metropolitan Institute of Health and Environment***

(Received July 2, 1990)

Abstract: Chromosomes of gonadal tissues from *Fasciola* spp, *Eurytrema pancreaticum* and *Calicophoron calicophorum* occurred Korean cattle were examined using modified air-drying method. To compare their phenotype with three different genotypes among *Fasciola* spp, the adult and egg size were measured since they have been known as important taxonomical characters. The results obtained were as followed;

Cattle liver fluke, *Fasciola* spp were classified into three types based on their chromosomal complements such as individual with 20 chromosome(diploid), 30 chromosome(triploid) and 20/30 mosaic constitution(mixoploid). The propotions of appearance of three types were 40.00 %, 54.29% and 5.71%, respectively. The frequency of three types in type I which was regarded as *F. gigantica* were 58.82% for diploid, 35.29% for triploid and 5.88% for mixoploid, but in type II which was regarded as *F. hepatica* were 72.2% for triploid, 22.22% for diploid and 5.56% for mixoploid. Egg length of triploid forms was significantly larger than that of diploid forms and egg size of mixoploid forms was similiar to that of triploid forms. Worm size of triploid forms was larger than that of diploid forms and was more similar to that of mixoploid forms, but the statistical data were not significant.

Diploid chromosome consisted of one pair of metacentric chromosome(m), four pairs of submetacentric chromosomes(sm), five pairs of subtelocentric chromosomes(st), while triploid chromosome consisted of one pair of metacentric chromosome, seven pairs of submetacentric chromosomes, one pair of subtelocentric chromosome and telocentric chromosome(t), respectively. In mixoploid chromosome, constitution of the chromosomes of diploid or triploid cell was consistent with that of diploid or triploid.

이 논문은 1989년도 문교부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

Chromosomes of gonadal tissues from pancreatic fluke, *Eurytrema pancreaticum* consisted of 13 pairs of homologs($2n=26$, $n=13$). The mitotic and meiotic divisions were observed frequently. In the mitotic metaphase, Karyotype consisted of five pairs of metacentric chromosomes, four pairs of submetacentric chromosomes, three pairs of subtelocentric chromosomes and one pair of telocentric chromosome.

Chromosomes of gonadal tissues from stomach fluke, *Calicophoron calicophorum* consisted of 9 pairs of homologs($2n=18$, $n=9$). The meiotic divisions was frequently observed, but mitotic divisions was rare. In the mitotic metaphase, Karyotype consisted of two pairs of metacentric chromosomes, three pairs of submetacentric chromosomes and four pairs of subtelocentric chromosomes.

Karyotype of *Calicophoron calicophorum* differed from that of Japanese *C calicophorum* which was similar to that of *Paramphistomum cervi* of Korean cattle. Though that of *Calicophoron calicophorum* of Korean cattle was similar to that of *Paramphistomum explanatum* of Korean cattle, that have been recognized to be a different species of fluke.

Key words: Trematoda, *Fasciola* spp, *Eurytrema pancreaticum*, *Calicophoron calicophorum*, chromosome, air-drying method, Korean cattle, Karyotype.

서 론

종의 유사관계를 규명하는데 있어서 과거에는 형태학적 및 조직학적 소견을 토대로 하여 이루어져 왔으나 최근에 염색체의 분석을 통한 세포학적 연구방법이 도입되어 많은 발전이 이루어졌다.¹⁻³

1905년 Schubmann에 의하여 간질에 대한 염색체의 분석이 처음으로 시도된 이래 많은 연구자들에 의하여 이에 대한 세포학적 연구가 수행되어 왔다.⁴⁻⁸ *Fasciola hepatica*의 염색체수는 8개에서 30개까지 *F gigantea*의 그것은 16개에서 30개까지 다양하게 보고되어져 왔으나 현재는 기본수 $n=10$ 을 근간으로 하여 20개와 30개 즉, $2n$ 형, $3n$ 형 및 $2n/3n$ 혼합형이 존재한다고 알려져 있다.⁹ 국내에서 간질은 총체와 그 내부기관 및 총란등의 형태학적 특징에 의거하여 *Fasciola hepatica*, *F gigantea*와 *F indica*(?)로 분류 보고 되어 있으나^{10,11} 분류방법에 많은 의문점이 남아 있기 때문에 종의 유사관계를 밝히는데 있어서 형태학적인 소견에 덧붙여 세포학적 구명을 시도하는 것이 바람직하다고 하겠다. 국내에서 간질의 세포학적 연구는 최근에 Saka-guchi et al¹², Terasaki와 Moriyama¹³ 및 이 등¹⁴에 의해서 수행되었고 그 간질의 핵형은 대부분 $2n$ 형과 $3n$ 형으로 구성되었으며 $2n/3n$ 혼합형이 약간 존재한다고 알려져 있다.

*Dicrocoelidae*과에 속하는 *Eurytrema*속의 체질은 소, 물소, 양, 염소, 낙타 그리고 사람 등의 체장이나 담관에 기생하는 흡충류이다.¹⁵⁻¹⁷ 종류는 *Eurytrema*

pancreaticum, *E rebelle*, *E cladorchis*, *E spaeriorchis*, *E tokinense*, *E ovis*, *E medium*, *E escuderoi*, *E dajii*와 *E parvum*의 11종이 알려져 있다.¹⁸ 반추동물에 기생하는 체질은 심한 영양장애, 빈혈과 변비 등의 증상을 주로 일으키며 조직학적으로 체관이 눈에 띄게 비후되고 그 내막에 선종양의 증식이 있고, 호산구, 임파구등의 세포침윤이나 간질결합조직의 증식등 양성 병변을 일으킨다고 한다.¹⁹ 국내에서는 1915년 河村²⁰이 한우에서 체질의 감염률을 보고한 이래 重正²¹과 김 등²²이 한우에서의 감염률을 보고한 바 있으며 이 등²³이 체질의 생활환을 완전히 밝힌 바 있다. 국내에서는 *E coelomaticum*이 보고되어²⁴ 체질은 2종이 분포하고 있음이 알려 졌으나 염색체의 연구는 수행된 바 없다.

쌍구흡충류(Family *Paramphistomatidae*)는 반추동물 및 포유동물과 냉혈동물의 위장이나 담관 그리고 맹장에 기생하는 흡충으로 포유동물에서 약 150여종이 알려져 있다.^{15,18,19} 국내에서는 조직학적 소견 및 전자현미경 등을 통한 형태학적 소견을 위주로 하여 주가 한우에서 6종을 보고한 바 있으며 이 등은 5종, 강 등은 7종을 보고하였다.²⁵⁻²⁶ Willmott³⁰에 의하여 쌍구흡충에 대한 염색체의 분석이 시도된 이래 많은 연구자들에 의하여 연구가 이루어져 왔다.³¹⁻³⁵ 국내에서는 이 등이 *Paramphistomum explanatum*, *P cervi*와 *Fiscoederius cobboldi* 3종에 대한 염색체의 분석을 시도 하였을 뿐이며^{26,36,37} 이것들에 대한 세포학적 연구는 실제로 미미한 실정이다.

저자 등은 국내 흡충류의 염색체 분석을 시도함으로써 세포학적 연구의 기초를 구축하고자 하였다. 그리고 핵형과 그에 대비되는 표현형의 차이를 비교 검토함으로써 정확한 분류의 기반을 확립하고 체질과 칼리코포론쌍구흡충의 핵형을 재확인하려고 본시험을 수행하게 되었다.

재료 및 방법

재 료

1) 서울시내의 3개 도축장에서 도살되는 소에서 간질, 췌장 및 쌍구흡충을 채집하여 0.9% 생리식염수에 넣어 실험실로 즉시 가져온 다음 실험에 공시하였다.

2) 간질들은 총체가 길고 폭이 좁은 것(type I)과 총체가 짧고 폭이 넓은 종류(type II)로 구분하여 대부분은 70% 알콜에 압착 고정된 후 총체와 총란의 크기를 측정하였으며 일부는 아래와 같은 방법으로 염색체 분석에 사용하였다.

3) 쌍구흡충은 Yamaguti¹⁸와 강²⁸의 의견을 참고로 하여 형태학적 특징에 따라 종을 분류한 후 *Calicophoron calicophorum*으로 인지되는 총체는 염색체 조사를 위한 실험에 공시하였다.

방 법

채집한 간질, 췌장 및 쌍구흡충은 각 개체별로 생리식염수 중에서 정소부위를 해부현미경하에서 분리한 후 Terasaki와 Nakamura³⁶의 공기건조법을 약간 변형하여 아래와 같이 수행하였다. 24 well microplate의 한 구멍에 2ml씩의 배지(MEM 950mg, D.W 100ml, NaHCO₃ 100mg, colchicine 100mg)를 분주하여 그곳에 각각 한 개체의 정소조직을 넣은 다음 CO₂ 배양기에서 37°C, 3시간 동안 단기간 배양하였다. 배양후 정소조직을 배양액에서 꺼내어 충분히 세정한 다음 원심관에 넣어 약 5ml의 0.075M KCl 저장액으로 실온에서 40분간 처리한 후 1,200rpm으로 5분간 원심하여 상

층액을 버리고 그 침전물에 냉장보관한 5~7ml의 Karnoy액(메칠알콜 3: 초산 1)을 가하여 20분간 고정하였다. 그 후 1,200rpm으로 5분간 원심하여 상층액을 버리고 위의 원심 고정과정을 3회 반복 실시하였다. 마지막 원심 고정 후 남은 침전물에 다시 적량의 Karnoy액을 가하여 세포를 부유 시킨후 피펫을 사용하여 처리정도에 따라 50~100cm의 높이에서 슬라이드위에 낙하시켜 자연건조 시켰다. 슬라이드는 20% Giemsa액으로 40분간 염색하여 현미경하에서 염색체를 관찰하였다. 그리고 염색체의 분류는 Levan et al³⁹의 방법에 의해 수행하였다.

결 과

1. 간질의 핵형과 표현형

도축장에서 도살되는 소의 간에서 간질을 채집하여 그중 *Fasciola gigantica*로 여겨지는 type I 간질 58마리와 *F. hepatica*로 여겨지는 type II 간질 56마리의 총체 및 총란의 크기와 형태학적 특징을 조사한 결과 type I의 총체는 어깨가 좁으며 크기는 29.78±4.90×9.90±1.58mm로 체장에 비하여 체폭은 좁았으며 그 비는 3.06이었다. type II의 총체는 어깨가 비교적 넓으며 크기는 23.07±6.14×10.85±1.83mm로 체장에 비하여 체폭은 비교적 넓으며 그 비는 2.13으로서 type I에 비하여 고도의 유의성 있는 차이(p<0.01)를 나타내었다. 총란의 크기는 type I의 경우 161.16±5.46×87.97±6.11μm이었으며 type II의 경우 155.00±12.2×83.61±8.51μm로 전자의 총란 크기에 비하여 약간 작았다(p<0.01)(Table 1과 Fig 1).

Type I 간질 17마리와 type II 간질 18마리를 각각 배양하여 핵형의 출현빈도를 분석한 결과 type I은 3n형(35.29%)에 비하여 2n형(58.82%)이 많이 출현한 반면에 type II는 반대로 3n형(72.22%)이 2n형(22.22%)에 비하여 월등히 많이 나타났으며 2n/3n혼합형은

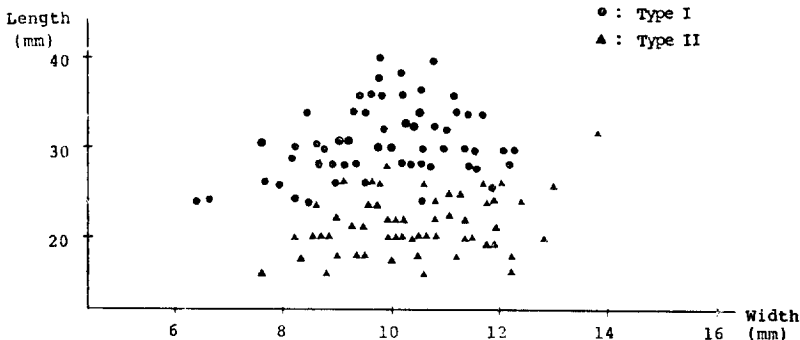


Fig 1. Comparison of *Fasciola* spp in the relation of length and width.

Table 1. Data of comparative characteristics between 114 individuals of *Fasciola* spp

Characteristics	Type I	Type II
Body size(mm)		
Length	29.78±4.90	23.07±6.14
Width	9.90±1.58	10.85±1.83
Ratio	3.06±0.56	2.13±0.40
Egg size(μm)		
Length	161.16±5.46	155.00±12.2
Width	87.97±6.11	83.61±8.51
Ratio	1.84±0.14 ^N	1.87±0.20 ^N

Table 2. Appearance rates of three karyotype in *Fasciola* spp

Species	2n	3n	2n/3n
Type I (%)	10/17 (58.82)	6/17 (35.29)	1/17 (5.88)
Type II (%)	4/18 (22.22)	13/18 (72.22)	1/18 (5.56)
Total(%)	14/35 (40.00)	19/35 (54.29)	2/35 (5.71)

*p<0.01, N : Not significantly.

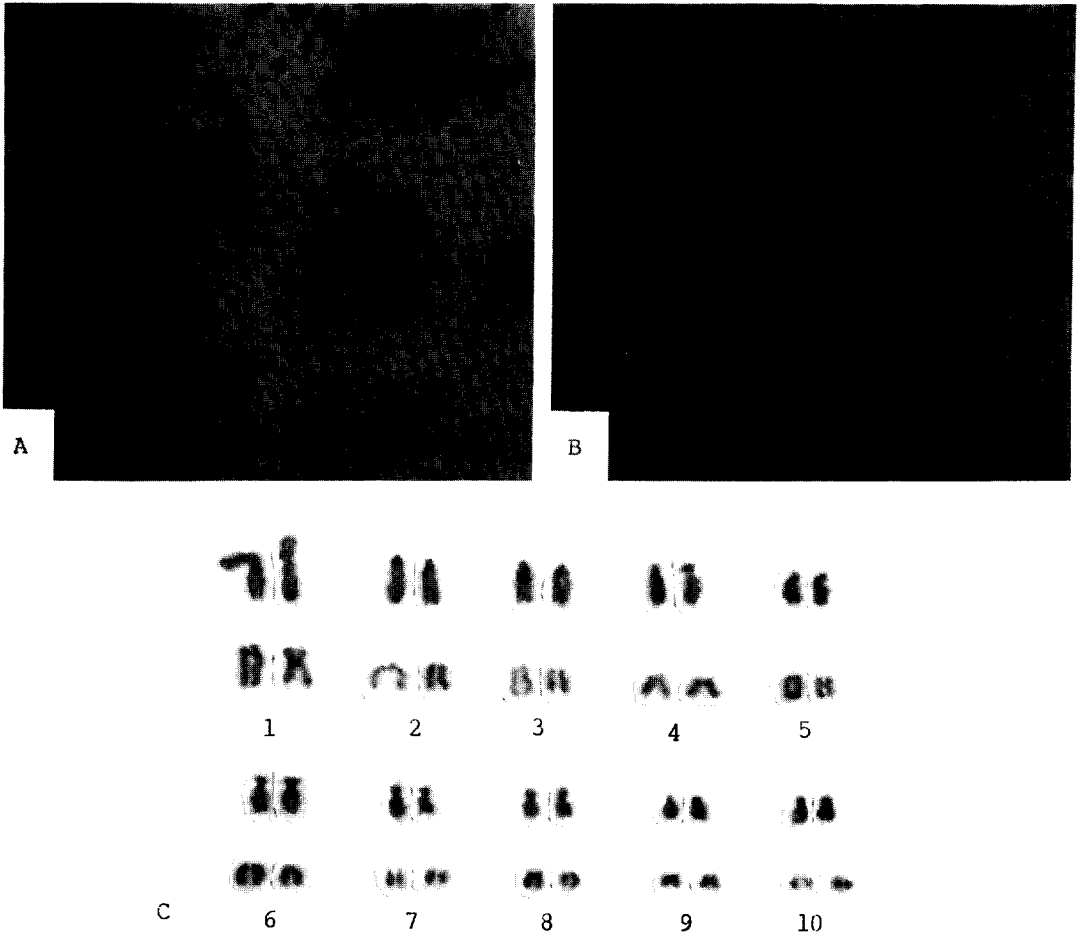


Fig 2. Metaphase figures from the gonadal cells of *Fasciola* spp (2n=20) observed by the air-drying method, Giemsa stain.

- A: Eight-cell colony at mitotic metaphase.
- B: Mitotic metaphase.
- C: Karyotype of the cells.

Table 3. Data of comparative characteristics between three types of *Fasciola* spp

Characteristics	2n	3n	2n/3n
Body size(mm)			
Length	28.19±5.96	32.10±8.96	30.90±5.90
Width	10.90±2.26	9.26±2.50	9.78±0.83
Ratio	2.63±0.49	3.47±1.45	3.13±0.34
Egg size(μm)			
Length	151.03±10.88 ^b	161.61±6.67 ^a	160.72±12.38 ^a
Width	86.52±9.06	83.76±16.2	83.55±5.03
Ratio	1.76±0.19	1.91±1.15	1.92±0.03

a and b : values with different superscript in the same row differ significantly (p<0.01).

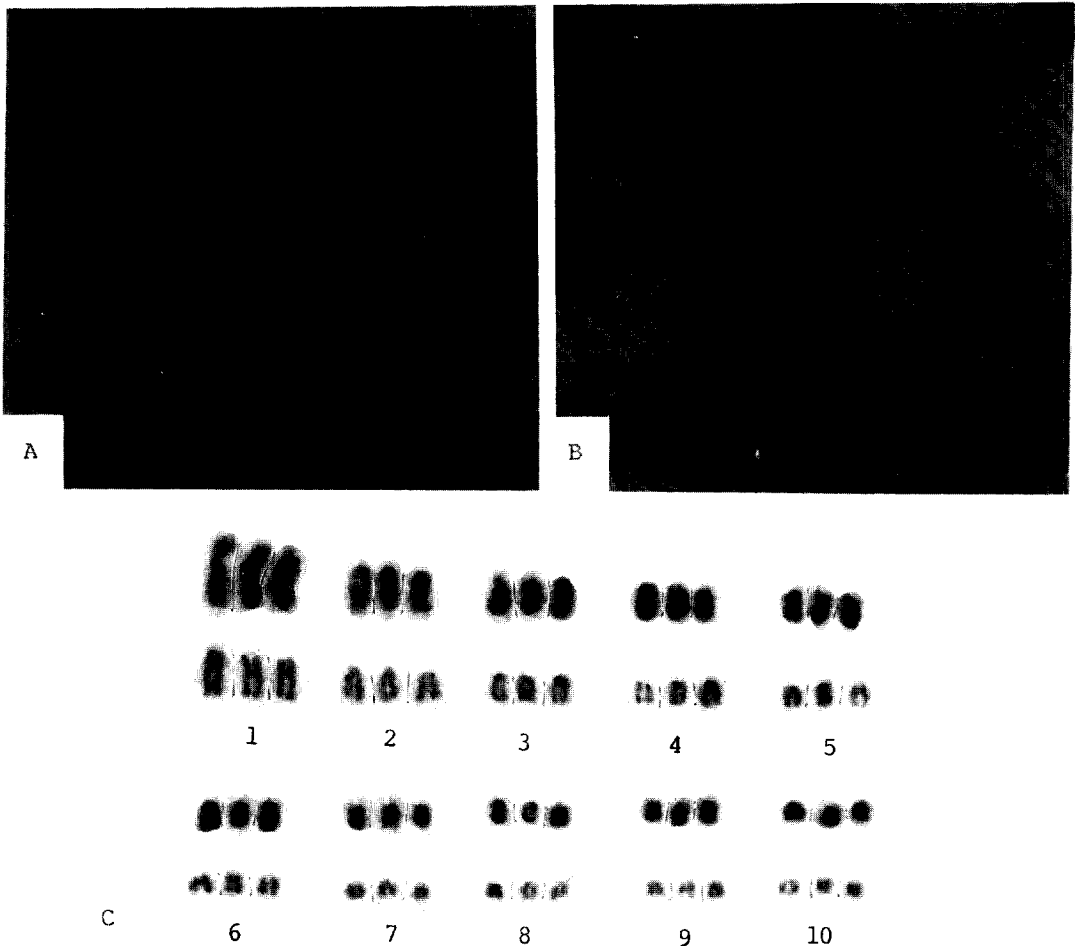


Fig 3. Metaphase figures from the gonadal cells of *Fasciola* spp (3n=30) observed by the air-drying method, Giemsa stain.

- A: Eight-cell colony at mitotic metaphase.
- B: Mitotic metaphase.
- C: Karyotype of the cells.

Table 4. Quantitative characteristics of *Fasciola* spp karyotype based on measurements of the gonadal cell chromosomes

Chromosome pair No.	Type	Relative length ^a	Arm ratio ^b	Centromeric index ^c	Centromere ^d position
1	3n	18.03±1.40	1.50±0.45	41.04±4.49	m
	2n	18.07±0.01	1.68±0.29	37.77±3.97	m
2	3n	13.48±0.87	9.33±1.12	11.21±3.09	t
	2n	12.97±0.56	5.01±0.65	17.82±1.76	st
3	3n	12.26±0.61	4.23±0.23	22.25±4.54	st
	2n	11.66±0.64	7.06±0.76	13.85±2.87	st
4	3n	10.58±0.39	2.63±0.37	27.87±1.07	sm
	2n	10.69±0.40	4.18±0.59	20.96±2.19	st
5	3n	9.70±0.38	2.69±0.45	27.47±2.93	sm
	2n	9.84±0.38	3.35±0.64	23.42±3.32	st
6	3n	8.67±0.46	2.44±0.31	29.31±1.65	sm
	2n	8.83±0.35	2.74±0.08	27.82±1.86	sm
7	3n	7.80±0.24	3.01±1.61	27.04±4.5	sm
	2n	7.98±0.49	3.09±0.95	25.64±3.72	sm
8	3n	7.24±0.30	2.24±0.52	31.72±2.48	sm
	2n	7.43±0.44	2.99±0.88	26.23±2.34	sm
9	3n	6.56±0.54	2.66±0.43	28.90±2.58	sm
	2n	6.59±0.38	3.79±0.93	21.63±1.29	st
10	3n	5.67±0.68	1.99±0.74	35.40±3.12	sm
	2n	5.93±0.69	2.84±0.52	26.48±1.52	sm

a : Relative length=length of each chromosome/total length of whole chromosomes.

b : Arm ratio=length of long arm/length of short arm.

c : Centromeric index=length of short arm×100/total length of each chromosomes.

d : Centromere position according to the quantitative definitions, nomenclature and abbreviations are those proposed by Levan et al (1964).

각각 5.88%와 5.56%로 비슷한 분포를 나타내었다. 전체적으로는 2n형과 3n형이 대부분이었으며 그 빈도는 각각 40.00%와 54.29%로 비슷한 분포를 나타내었으나 2n/3n혼합형은 5.71%로 아주 적게 나타났다 (Table 2). 그리고 핵형에 따른 총체의 크기는 3n형이 2n형에 비하여 약간 큰 것으로 나타났으며 2n/3n형은 3n형과 유사하였으나 상호간에 유의성은 없었다 (Table 3). 총난의 크기는 3n형이 2n형보다 유의성있게 컸으며 2n/3n형은 3n형과 거의 유사하였다. 3n형과 2n/3n형의 총난 크기는 type I의 총난 크기와 일치하였으며 2n형의 총난 크기는 type II의 것과 일치하였다.

세포의 분열상에서 만수체성 염색체(haploid)는 관찰되지 않았으며 제 1정모세포군인 8세포군에서 이배체성 염색체와 삼배체성 염색체가 많이 관찰되었다 (Fig 2와 3). 이배체성 염색체는 대형 1종, 중형 3종 및 소

형 6종으로 이루어져 있으며 방추사의 부착부위인 동원체의 위치에 따라 분류하면 1쌍의 중부착사형 (median region), 4쌍의 아중부착사형 (submedian region)과 5쌍의 아말부착사형 (subterminal region)으로 이루어져 있었다. 그리고 삼배체성 염색체는 이배체성 염색체와 마찬가지로 대형 1종, 중형 3종 및 소형 6종으로 이루어져 있으며 1쌍의 중부착사형, 7쌍의 아중부착사형, 1쌍의 아말부착사형과 1쌍의 말부착사형 (terminal region)으로 이루어져 있었다 (Table 4).

2. 핵질의 핵형

소의 췌장에 기생하는 *Eurytrema pancreaticum*의 생식세포의 분열상에서 염색체는 Fig 4에서 처럼 2n=26, n=13으로 확인되었다. 이배체성 염색체를 크기의 순으로 No. 1에서 No. 13까지 번호를 붙여서 나열하여 방추사의 부착위치에 따라 분류하여 보면 No. 1, 8,

Table 5. Comparison of centromere position in 2n karyotype of *Fasciola* spp

Remarks	Chromosome number									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Moriyama et al (1979)	sm	st	t	st	st	st	sm	st	st	sm
Sakaguchi (1980)	m	st	st	st	st	st	sm	sm	sm	sm
Lee et al (1987)	m	st	st	st	st	sm	sm	sm	sm	sm
Jang et al (1990)	m	st	st	st	st	sm	sm	sm	st	sm

Table 6. Comparison of centromere position in 3n karyotype of *Fasciola* spp

Remarks	Chromosome number									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Moriyama et al (1979)	m	st	t	st	st	st	st	st	sm	sm
Sakaguchi (1980)	m	st	st	st	st	st	sm	sm	sm	st
Lee et al (1987)	m	st	st	st	st	sm	sm	sm	sm	st
Jang et al (1990)	m	t	st	sm	sm	sm	sm	sm	sm	sm

Abbreviations:

m=metacentric chromosome, sm=submetacentric chromosome, st=subtelocentric chromosome, t=telocentric chromosome.

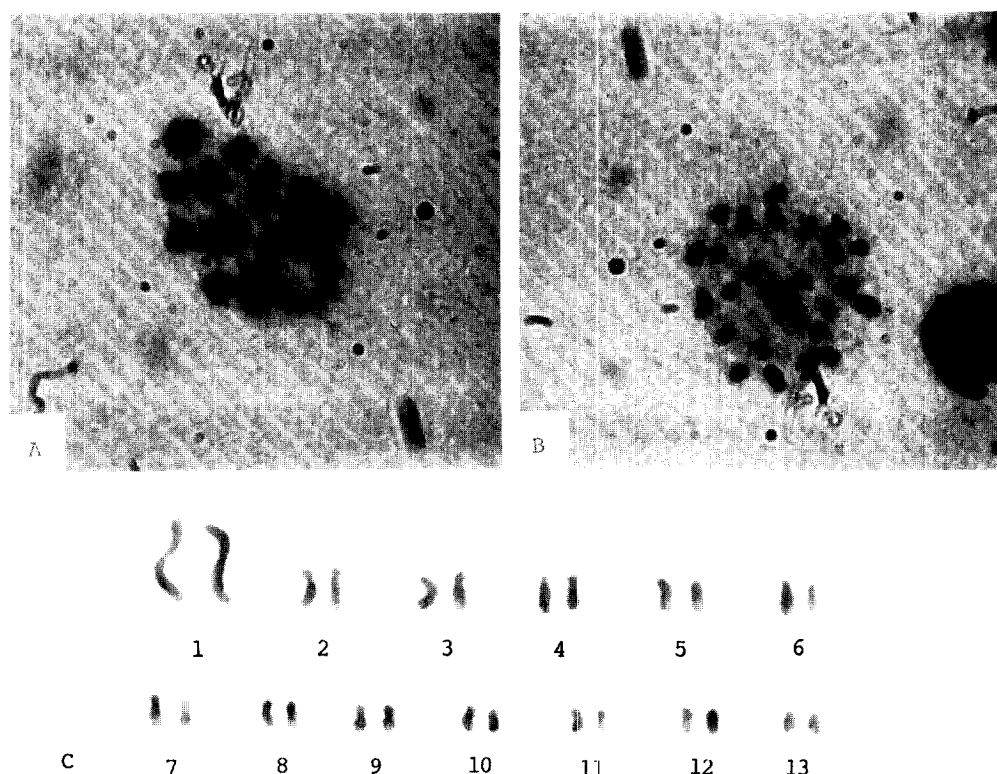


Fig 4. Metaphase figures from the gonadal cells of *Eurytrema pancreaticum* (2n=26) observed by the air-drying method, Giemsa stain.

A: Meiotic metaphase. B: Mitotic metaphase. C: Karyotype of the cells.

Table 7. Quantitative characteristics of *Eurytrema pancreaticum* karyotype based on measurements of the gonadal cell chromosomes

Chromosome pair No.	Relative length ^a	Arm ratio ^b	Centromeric index ^c	Centromere position ^d
1	18.83±1.69	1.34±1.23	43.03±3.79	m
2	9.15±0.32	2.13±0.61	32.93±2.15	sm
3	8.52±0.53	2.17±0.47	32.14±1.86	sm
4	7.83±0.47	3.50±0.99	22.95±3.14	st
5	7.27±0.24	8.11±0.84	15.67±2.55	st
6	7.00±0.41	4.99±1.17	17.25±3.51	st
7	6.75±0.22	2.12±0.59	32.95±1.53	sm
8	6.44±0.20	1.53±0.54	40.93±1.25	m
9	6.32±0.29	1.80±0.16	35.81±2.01	sm
10	5.94±0.24	1.47±0.35	41.16±2.48	m
11	5.63±0.29	1.30±0.18	43.74±3.33	m
12	5.44±0.26	1.48±0.15	41.46±3.98	m
13	4.87±0.18	10.28±1.58	8.95±1.25	t

a: Relative length=length of each chromosome/total length of whole chromosomes.

b: Arm ratio=length of long arm/length of short arm.

c: Centromeric index=length of short arm×100/total length of each chromosomes.

d: Centromere position according to the quantitative definitions, nomenclature and abbreviations are those proposed by Levan et al (1964).

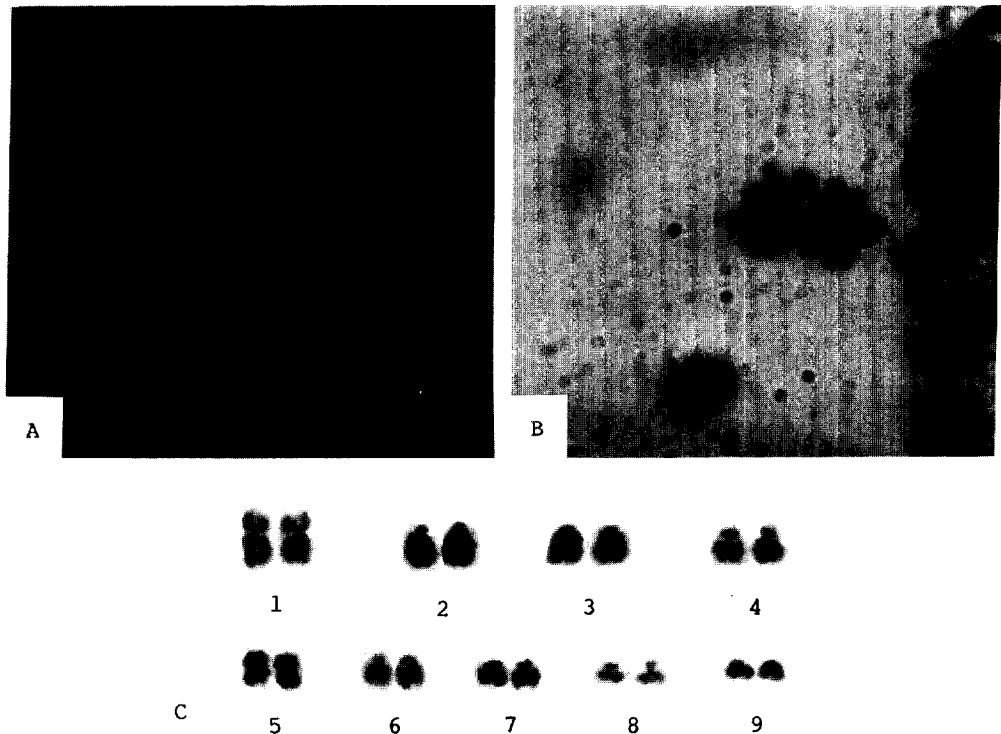


Fig 5. Metaphase figures from the gonadal cells of *Calicophoron calicophorum* ($2n=18$) by the air-drying method, Giemsa stain.

A: Meiotic metaphase.

B: Mitotic metaphase.

C: Karyotype of the cells.

Table 8. Quantitative characteristics of *Calicophoron calicophorum* karyotype based on measurements of the gonadal cell chromosomes

Chromosome pair No.	Relative length ^a	Arm ratio ^b	Centromeric index ^c	Centromere position ^d
1	17.96±1.57	1.54±0.26	39.90±2.51	m
2	15.15±1.28	4.20±1.63	21.08±4.15	st
3	13.16±0.43	3.49±1.12	23.50±3.08	st
4	11.65±0.50	2.18±0.78	33.14±4.90	sm
5	11.05±0.33	1.51±0.27	40.24±1.97	m
6	9.56±0.73	3.67±0.42	21.60±0.11	st
7	8.59±0.49	2.25±0.54	29.83±1.28	sm
8	7.17±0.71	2.70±0.93	28.66±2.57	sm
9	5.72±0.70	4.35±1.60	20.35±3.58	st

a: Relative length=length of each chromosome/total length of whole chromosomes.

b: Arm ratio=length of long arm/length of short arm.

c: Centromeric index=length of short arm×100/total length of each chromosomes.

d: Centromere position according to the quantitative definitions, nomenclature and abbreviations are those proposed by Levan et al (1964).

Table 9. Comparison of centromere position of three species in *Paramphistomidae*

Species	Chromosome number									Remarks
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Paramphistomum</i>										
<i>cervi</i>	m	st	st	sm	m	sm	st	st	sm	Lee et al (1987)
<i>explanatum</i>	m	st	sm	sm	m	st	sm	sm	sm	Lee et al (1986)
<i>Calicophoron</i>										
<i>calicophorum</i>	m	st	st	sm	m	st	sm	sm	st	Jang et al (1990)
	sm	t	st	sm	m	sm	st	st	sm	Moriyama et al (1979)

Abbreviations:

m=metacentric chromosome, sm=submetacentric chromosome, st=subtelocentric chromosome, t=telocentric chromosome.

10, 11과 12는 중부착사형, No. 2, 3, 7과 9는 아중부착사형, No. 4, 5와 6은 아말부착사형, 그리고 No. 13은 말부착사형이었다(Table 7). 핵형을 구성하는 13쌍의 상동염색체 중에서 비교적 쉽게 인지되는 대형의 중부착사형 염색체 1쌍(No. 1)을 제외한 12쌍의 중형내지 소형의 염색체(No. 2~No. 13)의 상대적인 길이는 서로 유사하였다.

3. 칼리코포론쌍구흡충의 핵형

*Calicophoron calicophorum*의 염색체를 관찰한 결과 많은 수의 반수체성 염색체와 소수의 이배체성 염색체가 관찰되었으며 염색체 수는 9쌍의 상동염색체(n=9, 2n=18)로 이루어져 있었다(Fig 5).

이배체성 염색체는 5쌍의 중형염색체와 4쌍의 소형

염색체로 구성되어져 있으며 크기에 따라 No. 1에서 No. 9까지 번호를 붙여 방추사의 부착부위에 따라 분류하여 보면 No. 1과 5는 중부착사형, No. 4, 7과 8은 아중부착사형, No. 2, 3, 6과 9는 아말부착사형이었다(Table 8).

Moriyama et al²⁶이 보고한 일본산 *Calicophoron calicophorum*의 염색체 구성과 본 조사결과를 비교한 결과 No. 3, 4와 5의 염색체에서만 일치되고 나머지는 아주 달랐다. 또한 이 등^{26, 27}이 보고한 *Paramphistomum explanatum*의 염색체 구성과 *C calicophorum*의 구성을 비교한 결과 No. 3과 9의 염색체에서 차이가 있었으나 유사하였으며 *P cervi*와는 달랐다(Table 9).

고 찰

국내에서 간질의 분류는 형태학적 특징에 의거하여 3종으로 분류되기도 하였으나¹¹ 최근에 염색체와 생활사에 의한 연구를 통하여 2종류 즉 간질(*Fasciola hepatica*)과 거대간질(*F. gigantica*)만이 인정되고 있으며 대부분이 거대간질에 속하고 간질은 소수만이 기생하고 있다고 알려져 있다.¹⁰

간질의 크기는 보고자에 따라 약간의 차이가 있으나 *F. gigantica*의 총체는 25-75×5-12mm, 충난은 156-197×90-104 μ m이며, *F. hepatica*의 총체는 20-30×8-13mm, 충난은 130-145×63-90 μ m으로 보고되어 있다.^{18,19} 본 실험에 사용된 간질은 총체가 길고 폭이 좁은 것(type I)과 총체가 짧고 폭이 넓은 종류(type II)이며 총체와 충난의 크기를 측정하여서 구분하였다. Type I 간질 58마리와 type II 간질 56마리의 총체 및 충난의 크기를 살펴본 결과 type I의 총체는 크기가 29.78±4.90×9.90±1.58mm로 체장에 비하여 체폭은 좁았으며 그 비는 3.06이었다. type II의 총체는 크기가 23.07±6.14×10.85±1.83mm로 체장에 비하여 체폭은 비교적 넓으며 그 비는 2.13으로서 type I에 비하여 고도의 유의성 있는 차이(p<0.01)를 나타내었다. 충난의 크기에 있어 type I은 161.16±5.46×87.97±6.11 μ m이었으며 type II는 155.00±12.2×83.61±8.51 μ m로 type I의 충난 크기에 비하여 약간 작았다(p<0.01). 이런 특징에 의거하여 type I은 *F. gigantica*, type II는 *F. hepatica*로 사료되나 다른 여러가지 형질에 대한 자세한 분석이 분류의 확정에 필요하였다.

간질의 염색체에 관한 연구는 Schubmann⁴에 의해서도된 이래 많은 연구자들에 의해 많은 진전이 이루어져 왔으며 그 핵형은 지역에 따라 약간의 차이가 있으나 2n형, 3n형과 2n/3n혼합형이 존재한다고 알려져 있다.^{5-8,13,40,42-44} 일본산 간질에 대하여 Sakaguchi와 Yoneda⁴¹는 2n형의 출현빈도를 4.6%, 3n형은 95.4%로 보고하였으며 2n/3n형은 관찰되지 않았다고 하였으며 Moriyama et al⁴⁵은 2n형 17.1%, 3n형 76.7%, 그리고 2n/3n혼합형 6.2%로 보고하였다. 또한 Sakaguchi⁹는 2n형 16.7%, 3n형 75.8%와 2n/3n혼합형 7.5%로 보고하여 일본산 간질은 대부분이 3n형이며 2n/3n혼합형도 소수 존재하는 것으로 알려져 있다. 한국산 간질의 염색체에 대한 연구는 Sakaguchi et al¹²에 의하여 처음으로 시도되었는데 2n형의 출현빈도를 74.5%, 3n형은 23.6%, 2n/3n형은 1.9%로 보고하였으며 이 등¹¹은 2n형의 출현빈도를 67.45%, 3n형은

10.85%, 2n/3n형은 21.70%로 보고하여 일본산 간질과는 달리 3n형에 비하여 2n형이 더 많이 출현하였다고 보고한 바 있다. 본 실험 결과에서 전체적으로는 2n형과 3n형이 대부분이었으며 그 빈도는 각각 40.00%와 54.29%로 비슷한 분포를 나타내었으나 2n/3n혼합형은 5.71%로 아주 적게 나타났다. 각각을 따로 살펴보면 *F. gigantica*로 믿어지는 type I의 간질에서는 2n형의 출현빈도가 58.82%로 3n형의 35.29%보다 더 높게 나타났으며 2n/3n형은 5.88%로 소수 출현하여 Sakaguchi et al¹²과 이 등¹⁴이 보고한 결과와 유사하였으나 2n형의 비율은 다소 낮았다. 그러나 *F. hepatica*로 믿어지는 type II에서는 3n형의 출현빈도가 72.22%로 2n형의 22.22%보다 더 높아 오히려 일본산 간질의 핵형 출현빈도와 일치되는 경향을 나타내었다.

핵형의 차이에 대한 총체와 충난의 표현형 차이에 관하여 Moriyama et al²¹은 3n형의 일본산 간질충난(168.4×92.2 μ m)은 2n형의 충난(145.4×88.5 μ m)보다 대형이었으며 2n/3n형의 충난(172.8×91.35 μ m)은 3n형의 충난과 가까운 경향을 나타내었다고 보고하였으며, Sakaguchi et al¹²은 핵형에 따라 한국산 간질에 대하여 총체의 체장과 체폭 및 충난의 크기를 측정하여 3n형 개체의 총체(35.6×12.5mm)와 충난(157.6×95.6 μ m)의 크기가 2n형의 총체(30.8×9.99mm)와 충난(139.0×79.5 μ m)의 크기보다 더 크다고 보고하였다. 그러나 이 등¹⁴은 3가지 핵형에서 모두 차이가 없었다고 하였다. 본 연구결과에서는 3n형의 총체 크기가(32.10×9.26mm) 2n형의 총체 크기(28.19×10.90mm)보다 약간 큰것으로 나타났으나 유의성은 인정되지 않았으며 2n/3n혼합형의 크기(30.90×9.78mm)는 3n형의 크기에 더 가까워 Sakaguchi et al¹²이 보고한 사실과 유사하였으나 각 형에 대한 총체의 크기는 더 작았다. 충난의 크기에 있어서도 총체의 경우와 마찬가지로 3n형의 것(161.61×83.76 μ m)이 2n형의 것(151.03×86.52 μ m)보다 더 컸으며 2n/3n형의 것은 3n형의 것과 유사하였다. 3n형과 2n/3n형의 충난 크기는 *F. gigantica*로 여겨지는 type I의 충난 크기와 일치하였으며 2n형의 충난 크기는 *F. hepatica*로 여겨지는 type II의 것과 일치하였다. Terasaki와 Moriyama¹³는 한국산 간질 및 일본산 간질의 여러가지 형질을 비교한 결과 2n형은 일반적으로 *F. hepatica*와 같은 형이며 3n형은 *F. gigantica*와 같은 형이라고 보고하였는데 본 조사결과에서도 같은 경향을 나타내었다.

본 연구결과 세포의 분열상에서 반수체성 염색체(haploid)는 관찰되지 않았으나 제 1경도세포군인 8세포군에서 2n형(diploid)과 3n형(triploid)의 상동염색체

가 많이 관찰되었으며 2n/3n혼합형(mixoploid)도 소수 관찰되었다. 2n형 염색체는 대형 1종, 중형 3종 및 소형 6종으로 이루어져 있으며 방추사의 부착부위인 동원체의 위치에 따라 분류하면 1쌍의 중부착사형(median region), 4쌍의 아중부착사형(submedian region)과 5쌍의 아말부착사형(subterminal region)으로 이루어져 있었다. 그리고 3n형 염색체는 2n형 염색체와 마찬가지로 대형 1종, 중형 3종 및 소형 6종으로 이루어져 있으며 1쌍의 중부착사형, 7쌍의 아중부착사형, 1쌍의 아말부착사형과 1쌍의 말부착사형(terminal region)으로 이루어져 있었으며 2n/3n혼합형의 구성은 2n형 및 3n형의 구성과 일치하였다. 2n형과 3n형의 핵형구성에 대하여 Sakaguchi⁹, 이 등¹⁴, Moriyama et al⁴⁵의 결과와 본 조사결과를 비교하여 보면 2n형에 있어서는 table 5에서 보는 바와 같이 거의 유사한 결과를 나타내고 있으나 3n형에 있어서는 table 6에서 처럼 No 4와 5의 염색체에서 상당한 차이를 나타내고 있다. 폐흡충인 *Paragonimus ohirai*에서 한 나라안의 지역적인 차이에 의해 염색체에 약간의 변이가 관찰되었으며⁴⁶ 또한 간질의 경우에 있어서도 나라에 따라 다양한 형태의 핵형과 그 구성이 밝혀지고 있으므로 앞으로 이런 차이를 규명하는데 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

소에 기생하는 체질에는 *Eurytrema pancreaticum*과 *E. coelomaticum*의 2종이 있다고 알려져 있다.¹⁸ 그러나 두 종체는 대소, 체형 및 구, 복흡반의 직경비 등으로 구별이 가능하지만 그 형태는 비슷하여 뚜렷한 구별이 곤란하다고 알려져 있다. *Eurytrema*속의 분류 지표로 가장 중시되는 형질의 하나는 구흡반에 대한 복흡반의 비인데 지금까지의 연구에서는 *E. pancreaticum*과 *E. coelomaticum*의 사이에는 유의한 차이가 있으며 후자는 전자보다 크다고 한다. 또 충란의 크기에 대해서도 *E. pancreaticum*은 *E. coelomaticum*보다 대형이라고 하며 양자는 동일숙주내에 공존하지 않고 기생하는 상황도 다르다고 한다.^{47,48} Pryadko는 다수의 체질충체를 계측하여 비교한 결과 *E. media* 및 *E. coelomaticum*이라 불리던 것이 *E. pancreaticum*과 동종임을 밝혔으며⁴⁷ 또한 Chinone과 Itagaki⁴⁸는 감염실험을 통하여 중숙주내에서의 발육과정을 추적한 결과 *E. coelomaticum*으로 불리는 것에는 *E. pancreaticum*의 발육단계에 해당되는 것이 포함되어 있을 것으로 추정하였다.

체질의 분류에 있어서 세포유전학적 연구는 적은 편이며 국내에서는 시도된 바 없다. Cho와 Sasada⁵⁰는 체질의 난원세포 및 경모세포의 염색체관찰을 통하여

2n=26, n=13이라는 염색체수와 간단한 핵형분석결과를 보고하였다. 최근에 Moriyama et al⁴⁷과 Moriyama⁴⁸는 일본의 소에 기생하는 *E. pancreaticum*과 *E. coelomaticum*의 핵형과 그에 대비한 표현형을 조사하여 *E. pancreaticum*의 염색체중 No. 5와 12의 동원체 위치는 말부착사형이며 No. 7은 아중부착사형인데 반하여 *E. coelomaticum*의 No. 5와 12의 동원체 위치는 아중부착사형이며 No. 7은 말부착사형으로 두 종간의 차이가 있다고 밝혔다.

이번의 연구결과는 Moriyama⁴⁸와 Moriyama et al⁴⁷가 분석한 *E. coelomaticum*의 핵형과는 달랐으며 *E. pancreaticum*의 핵형과 유사하였으나 약간의 차이가 있었다. 본 연구결과에서 No. 1의 상대적 길이가 18.83으로 Moriyama et al⁴⁷가 보고한 *E. pancreaticum*의 No. 1의 20.70보다 약간 작았으나 나머지 No. 2에서 No. 13까지의 상대적 길이는 유사하였다. 그리고 본 연구결과에서 밝혀진 No. 2와 3의 동원체 위치는 아중부착사형이었으며 No. 5의 위치는 아말부착사형인데 반하여 Moriyama et al⁴⁷가 분석한 *E. pancreaticum*의 No. 2와 3은 아말부착사형이었으며 No. 5는 말부착사형으로 약간의 차이가 있었으며, No. 5의 동원체 위치는 오히려 *E. coelomaticum*의 것과 일치되었다. No. 12와 13의 동원체 위치는 각각 중부착사형과 말부착사형으로 Moriyama et al⁴⁷가 보고한 위치와는 뒤따라가 나타났으며 나머지 번호의 염색체쌍들은 일치하였다. 같은 종사이에서도 지역에 따라 핵형의 차이가 나타난다는 사실은 이미 간질과 폐흡충의 핵형연구를 통하여 잘 알려진 사실이다.^{46,51} 그러므로 이번에 조사한 체질의 핵형에 있어서도 일본산 체질의 핵형과 차이가 있는 것은 지역적인 차이로 사료되나, 앞으로 C-band염색 등의 분염법을 통하여 더 자세하게 염색체를 비교하면 그 차이가 보다 뚜렷이 나타날 것으로 생각되며 또한 국내에 존재하는 것으로 알려진 *E. coelomaticum*에 대한 핵형의 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

국내에 분포하는 쌍구흡충류의 종류에 대하여 현재까지 명확하게 밝혀지지 않고 있으나 주²⁵는 부산지역의 한우에서 6종의 쌍구흡충을 검출하여 *Paramphistomum cervi*, *P. explanatum*, *P. orthocoelium*과 *Gastrothylax elongatus*는 혼하였지만 *G. cobboldi*와 *P. gotoi*는 간혹 수집되어 희귀한 것으로 보고하였으며 이 등²⁶은 전북지역의 한우에서 5종의 쌍구흡충을 검출하여 *P. explanatum*과 *P. cervi*가 가장 많으며 *Orthocoelium orthocoelium*, *Fischoederius cobboldi*와 *Cotylophorum cotylophorum*이 소수 출현하였다고 보고하였다. 그러나 강 등²⁷은 전국적인 조사에서 7종의 쌍구흡충을 검

출하여 *Calicophoron calicophorum*이 주종을 이루고 있으며 그 다음으로는 *P cervi*, *P gotoi*, *C cotylophorum* 등이 많으며 *O streptocoelium*, *F elongatus*와 *P ichikawai*가 소수 분포한다고 보고하여 국내에 분포하는 쌍구흡충류의 종류에 대하여 서로 다른 견해를 보이고 있다. 도축장들에서 도살되는 소의 제 1 위내에서 쌍구흡충을 수집한 본 조사에서는 *C calicophorum*이 가장 많이 검출되어 강 등⁶의 보고와 일치되었다. 연구자들 사이의 이런 차이가 분류상의 기술적인 문제인지 지역적인 분포차이에 의한 것인지 명확하지 않아 앞으로 전국적인 조사와 더불어 세포학적 연구가 더욱 더 요망된다.

쌍구흡충의 염색체에 대한 연구는 Willmott³⁰가 *Gigantocotyle bathycotyle*의 염색체 수를 보고한 이래 많은 연구자들에 의해 여러 쌍구흡충들에 대한 염색체 수와 구성이 밝혀졌다. Sey³⁵는 *P microbothrium*의 염색체 수를 $n=7$, $2n=14$ 로 보고하였으며 Kusano와 Sakaguchi³¹는 *Gastrothylax elongatus*, *P gotoi*, *Ceylonocotyle streptocoerium*과 *Gigantocotyle explanatum*의 염색체 수를 모두 $n=9$, $2n=18$ 이라고 하였다. 또한 Moriyama et al³²은 *Calicophoron calicophorum*의 염색체 수를 $n=9$, $2n=18$ 이라고 보고하였으며 Mutafova³⁴는 *Paramphistomum microbothrium*의 염색체 수를 $n=9$, $2n=18$ 이라고 하였으며, Moriyama et al³³은 *Orthocoelium streptocoelium*의 염색체 수를 $n=7$, $2n=14$ 이라고 하였다. 국내의 쌍구흡충류에 대한 염색체 연구는 *P explanatum*, *P cervi*와 *Fischoederius cobboldi* 3종에 대하여 이 등에 의하여 수행되었으며 그 수는 각각 $n=9$, $2n=18$ 이라고 하였다.^{26,36,37} 그러나 *Calicophoron calicophorum*에 대한 염색체의 연구는 국내에서 시도된 바가 없으며, 본 연구결과에서 이 종의 염색체 수는 $n=9$, $2n=18$ 로 나타났으며 Moriyama et al³²의 보고와 일치하였다. 그러나 정소세포의 분열상에서 이배체성 염색체는 5쌍의 중형염색체와 4쌍의 소형염색체로 구성되어져 있으며 크기에 따라 No. 1에서 No. 9까지 번호를 붙여 방추사의 부착부위에 따라 구분하면 No. 1과 5는 중부착사형, No. 4, 7과 8은 아중부착사형, No. 2, 3, 6과 9는 아말부착사형으로 구성되어 있어 Moriyama et al³²가 보고한 일본산 *C calicophorum*과는 상당 부분 달랐다. 그리하여 이 등^{26,37}이 전북지역에서 많이 분포한다고 보고한 *P cervi*와 *P explanatum*의 염색체 구성과 본 연구결과를 비교하여 본 결과 *P cervi*와는 달랐으며 *P explanatum*과는 유사하였으나 No. 3과 9의 염색체에 있어서 동원체 위치의 차이가 인지되어 서로 다른 종일

것으로 사료된다. 한편 일본산 *C calicophorum*의 염색체 구성은 No. 1과 2의 염색체에서 차이가 있을뿐이 등이 보고한 한국산 *P cervi*의 염색체 구성과 유사하였다. 따라서 앞으로 이들 종에 대하여 더욱더 세밀한 비교 검토가 수행되어야 할 것으로 믿어진다.

결 론

국내 기생충의 세포학적 연구를 위한 기초를 구축하고자 흡충류의 염색체 분석을 시도하여 간질의 핵형과 그에 대비되는 표현형의 차이를 비교 검토하였으며 또한 체질과 칼리코포론쌍구흡충의 핵형을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 서울시내 도축장에서 도살되는 소의 간에서 채집한 35마리 간질의 염색체 수를 조사한 바 $n=10$ 을 기본 수로 하여 $2n=20$ 형, $3n=30$ 형과 $2n/3n$ 혼합형이 존재하는 것을 확인하였으며 그 출현 빈도는 각각 40.00%, 54.29%와 5.71%였다.

2. *Fasciola gigantica*로 여겨지는 type I의 간질 17마리에서 2n형의 출현빈도가 58.82%로 3n형의 35.29%보다 더 높게 나타났으며 2n/3n형은 5.88%로 소수 출현하였다. *F hepatica*로 여겨지는 type II의 간질 18마리에서 3n형의 출현빈도가 72.22%로 2n형의 22.22%보다 더 높았으며 2n/3n형은 type I에서와 마찬가지로 5.56%로 소수 출현하였다.

3. 핵형에 대비한 총체와 총난의 표현형을 검토한 결과 총체에 있어서는 3n형의 크기가 2n형의 크기보다 약간 큰 것으로 나타났으나 유의성은 인정되지 않았으며 2n/3n혼합형의 크기는 3n형의 것과 유사하였다. 총난의 크기는 길이에 있어서 3n형이 2n형보다 유의성 있게 컸으며 2n/3n형은 3n형과 거의 유사하였다. 3n형과 2n/3n형의 총난 크기는 type I의 총난 크기와 일치하였으며 2n형의 총난 크기는 type II의 것과 일치하였다.

4. 세포의 분열상에서 반수체성 염색체는 관찰되지 않았으며 2n형과 3n형의 동원체 부착위치는 상당 부분 달랐다. 2n형 염색체는 대형 1종, 중형 3종 및 소형 6종으로 이루어져 있으며 방추사의 부착부위인 동원체의 위치에 따라 분류하면 1쌍의 중부착사형(median region), 4쌍의 아중부착사형(submedian region)과 5쌍의 아말부착사형(subterminal region)으로 이루어져 있었다. 그리고 3n형 염색체는 2n형 염색체와 마찬가지로 대형 1종, 중형 3종 및 소형 6종으로 이루어져 있으며 1쌍의 중부착사형, 7쌍의 아중부착사형, 1쌍의 아말부착사형과 1쌍의 말부착사형(terminal region)으로 이루어져 있었으며 2n/3n혼합형의 구성은 2n형 및

3n형의 구성과 일치하였다.

5. *Eurytrema pancreaticum*의 정소세포 분열상에서 반수체성 염색체와 이배체성 염색체는 $n=13$, $2n=26$ 으로 확인되었으며 유사분열기와 감수분열기가 많이 관찰되었다. 이배체성 중기염색체는 1쌍의 대형 염색체와 12쌍의 중형 및 소형 염색체로 구성되어 있으며 방추사의 부착부위에 따라 분류하면 No. 1, 8, 10, 11과 12는 중부착사형, No. 2, 3, 7과 9는 아중부착사형, No. 4, 5와 6은 아말부착사형, No. 13은 말부착사형이었다.

6. *Calicophoron calicophorum*의 정소세포 분열상에서 많은 수의 반수체성 염색체와 적은 수의 이배체성 염색체가 관찰되었으며 염색체 수는 9쌍의 상동 염색체($n=9$, $2n=18$)로 이루어져 있었다. 이배체성 염색체는 5쌍의 중형염색체와 4쌍의 소형 염색체로 구성되어 있으며 크기에 따라 No. 1에서 No. 9까지 번호를 붙여 방추사의 부착부위에 따라 염색체를 구분하여 보면 No. 1과 5는 중부착사형, No. 4, 7과 8은 아중부착사형, No. 2, 3, 6과 9는 아말부착사형이었다.

7. 일본산 *Calicophoron calicophorum*의 염색체 구성과 한국산 *C. calicophorum*의 염색체 구성은 상당부분이 달랐으며 한국산 *Paramphistomum explanatum*의 염색체 구성과 *C. calicophorum*의 구성을 비교한 결과 유사하였으나 No. 3과 9의 염색체에서 차이가 인지되어 다른 종으로 인정된다.

감사의 글 : 본 연구를 수행하는데 필요한 증체의 채집에 협조하여 주신 서울시 보건환경연구원 김은 수의 사, 하태은 수의사 및 관계자 여러분께 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 中西 有. 染色體の研究. 東京:東京大學出版會, 1986;167.
2. Macgregor HC, Varley JM. *Working with Animal Chromosomes*. Chichester: John & Sons, 1983;250.
3. Short RB. Presidential adress, 57th annual meeting, American Society of Parasitologists. *J Parasitol* 1983;69:3~22.
4. Schubmann W. Ueber die Eibildung und Embryonalentwicklung von *Fasciola hepatica* L. (*Distomum hepaticum* Betz). *Zool Jah Abth f Anat Ont* 1905;571~605.
5. Terasaki K, Akahane H, Habe S, et al. The geographical distribution of common liver flukes (the Genus *Fasciola*) with normal and abnormal spermatogenesis. *Jpn J Vet Sci* 1982;44:223~231.
6. Sakaguchi Y, Kusano M, Hirai H, et al. Studies on the chromosome of helminth(18) Chromosomes and spermatogenesis of *Fasciola* spp and *Fasciola hepatica* from Thailand, India, Pakistan and Puerto Rico. *Jap J Parasit* 1980;29(Suppl):31.
7. Sakaguchi Y, Ueno H. Studies on chromosomes of helminths(10). Karyotype of *Fasciola hepatica* from England. *Jap J Parasit* 1978;27(Suppl):77.
8. Sakaguchi Y, Kusano M, Hirai H. Studies on the chromosome of helminths(19) Two types of *Fasciola* sp from India. *Jap J Parasit* 1980;29(Suppl):88.
9. Sakaguchi Y. Karyotype and Gametogenesis of the common liver fluke, *Fasciola* sp, in Japan. *Jap J Parasit* 1980;29:507~513.
10. 장두환, 윤희정, 전계식. 간질피낭유충의 생산에 관한 연구. 대한수의학회지 1987;27:291~299.
11. 주정균, 김영규. 한국산 간질의 분류학적 연구: 기생충학잡지 1967;5:139~146.
12. Sakaguchi Y, Kusano M, Kihara S. Studies on the chromosome of helminths(11) Chromosomes of *Fasciola* sp. obtained from cattle in Korea. *Jap J Parasit* 1979;28(Suppl):29~30.
13. Terasaki K, Moriyama N. Morphological comparison between diploid and triploid types of common liver flukes (*Fasciola*) in Japan and Korea. *Jap J Parasit* 1985;34(Suppl):48.
14. 이재구, 은길수, 이상복. 한국산 간질의 핵형분석. 기생충학잡지 1987;25:37~44.
15. Soulsby EJJ. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982;27~71.
16. Takaoka H, Mochizuki Y, Hiiro E, et al. A human case of eurytremaiasis: Demonstration of adult pancreatic fluke, *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) in resected pancreas. *Jap J Parasit* 1983;32:501~508.
17. Ishii Y, Koga M, Fujino T, et al. Human infection with the pancreas fluke, *Eurytrema pancreaticum*. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32:1019~1022.
18. Yamaguti S. *Systema helminthum*. Vol 1 New

- York: Interscience, 1958;834~965.
19. 石井 進, 石井俊雄, 板恒 博, 等. 獸醫臨床寄生蟲學. Tokyo: 文永堂, 1979;118~159.
 20. 河村 了. 南鮮家畜內部寄生蟲 種類調査表. 三次牛疫血製造所 年報. 1915;134~144.
 21. 重正定志. 屠畜検査上に於ける肝蛭の寄生例に就いて. 朝鮮之畜産 1930;9:74~76.
 22. 김삼기, 이병도, 임영문. 한우의 내부기생충분포 조사. 농사시험 연구보고 1974;69~74.
 23. 이장락, 장두환, 이창업, 등. 한우의 체질기생실태조사 및 체질구제제에 관한 연구. 과학기술처 E68-102 1968;54.
 24. 양용석, 주경균. 한국산 한우에 감염된 *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892)에 대하여. 기생충학회지 초록 1982;17~18.
 25. 주경균. 한국산 황우에 기생하는 쌍구흡충에 관한 연구. 기생충학잡지 1972;10:34~43.
 26. 이재구, 강창원, 이호일. 한국산 *Paramphistomum explanatum* (Creplin, 1849)의 핵형분석. 기생충학잡지 1986;24:42~48.
 27. 강영배, 김상희, 장환, 등. 소의 쌍구흡충증 진단 기술 개발과 전망. 대한수의사회지 1987;23:527~533.
 28. 강영배. 소의 쌍구흡충증 *Calicophoron calicophorum*에 대한 주사전자 현미경적 관찰소견. 농시논문집 1988;30:10~14.
 29. 강영배. 소의 쌍구흡충증 *Orthocoelium streptocoelium*에 대한 주사전자현미경적 관찰소견. 농시논문집 1988;30:15~19.
 30. Willmott S. Gametogenesis, and early development in *Gigantocotyle bathycotyle* (Fischöeder, 1901) Näsmark, 1937. *J Helminth* 1950;14:1~14.
 31. Kusano M, Sakaguchi Y. Studies on chromosome of helminths(16) Chromosomes of four stomach flukes, *G elongatus*, *P gotoi*, *C streptocoerium*, *G explanatum*. *Jpn J Parasit* 1979;28(Suppl):107.
 32. Moriyama N, Tinone C, Seto T. Chromosomes of paramphistomes(1) The karyotype of *Calicophoron calicophorum*. *Jpn J Parasit* 1979;28(Suppl):17.
 33. Moriyama N, Tinone C, Seto T. Chromosomes of paramphistomes(1) The karyotype of *Orthocoelium streptocoelium*. *Jpn J Parasit* 1979;28(Suppl):107.
 34. Mutafova T. Studies on the karyotype of *Paramphistomum microbothrium*. *Khelmitologiya* 1984;16:37~41.
 35. Sey O. Gametogenesis in *Paramphistomum microbothrium* Fischöeder, 1901. *Acta Vet Acad Sci Hung* 1971;21:93~106.
 36. 이재구, 윤낙훈, 이호일. 한국산 코블드쌍구흡충의 핵형분석. 기생충학잡지 1988;26:107~111.
 37. 이재구, 김용환, 박배근. 한국산 사슴쌍구흡충의 핵형분석. 기생충학잡지 1987;25:154~158.
 38. Terasaki K, Nakamura T. A simple technique for chromosome studies in the flukes. *Bull Azabu Vet Coll* 1978;3:273~278.
 39. Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 1964;52:201~220.
 40. Sakaguchi Y, Ueno H. Chromosomes of the liver flukes, *Fasciola hepatica* from Australia. *Chromosome Information Service* 1977;23:14.
 41. Sakaguchi Y, Yoneda W. A further chromosome study of the common liver fluke (*Fasciola* sp) in Japan. *Chromosome Information Service* 1976;20:25~26.
 42. Sakaguchi Y, Nakagawa C. A note on the chromosome of the common liver fluke(*Fasciola* sp) from Japan. *Chromosome Information Service* 1975;19:20~21.
 43. Sakaguchi Y, Kusano M. Studies on the chromosome of helminths(15) Karyotype of *Fasciola hepatica* obtained from cattle in USA. *Jap J Parasit* 1979;28(Suppl):106.
 44. Sakaguchi Y, Ueno H. Studies on chromosomes of helminths(13). Chromosomes and gametogenesis of *Fasciola gigantica* from Hawaii. *Jap J Parasit* 1978;26(Suppl):72.
 45. Moriyama N, Tsuji M, Seto T. Three karyotypes and their phenotypes of Japanese liver flukes (*Fasciola* sp). *Jap J Parasit* 1979;28:23~33.
 46. Hirai H, Sakaguchi Y, Habe S. Geographical variation of C-band polymorphism in chromosome 4 of *Paragonimus ohirai* group. *Jap J Parasit* 1985;34(suppl):48.
 47. Moriyama N, Tsuji M, Seto T. Karyological studies of bovine pancreatic flukes (*Eurytrema*

- sp) and their phenotypes. *Jap J Parasit* 1980; 29:281~291.
48. Moriyama N. Karyological studies of bovine pancreatic flukes (*Eurytrema* sp) and their phenotypes. *J Parasitol* 1982;68:898~904.
49. Chinone S, Itagaki H. Development of *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda) II. Development in definitive hosts. *Bull Azabu Vet Coll* 1976;1:73~81.
50. Cho H, Sasada K. Chromosomes of pancreatic fluke, *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda: Digenea: Dicrocoelidae). *Chromosome Information Service* 1978;24:18~19.
51. Terasaki K, Akahane H, Habe S, et al. The geographical distribution of common liver flukes (the Genus *Fasciola*) with normal and abnormal spermatogenesis. *Jpn J Vet Sci* 1982;44:223~231.