

## *Spirometra erinacei*의 발육에 따른 LDH와 SDH의 조직화학적 연구

곽기훈 · 김창환

경상대학교 자연과학대학 생물학과

*Spirometra erinacei*의 유충(sparganum)을 전이숙주(paratenic host)인 흰쥐와 종숙주인 고양이에 감염시켜 발육단계에 따라 회수해서 유충과 성충조직의 LDH(lactate dehydrogenase)와 SDH(succinate dehydrogenase)의 분포상 및 동위효소 유형을 효소조직화학적 방법과 전기영동법으로 조사하였다.

첫째, 유충조직에서의 LDH 분포는 발육과정에 따른 차이는 없었으며 표피층과 실질근층에 비해 표피근층이 많이 분포하였다. 성체조직에서도 표피근층에 많이 분포하였는데 특히 성체의 표피층에서의 LDH 활성은 수태편절에서 상당히 많은 활성을 보인 반면 다른 편절의 표피층에서는 LDH의 활성이 없었다.

둘째, SDH의 조직분포는 유충과 성충 모두 표피근층에 많이 분포하였으며 유충에서의 발육 후기는 발육초기보다 SDH의 분포량이 증가하였다.

셋째, LDH 동위효소 유형은 유충과 성충에서 2개씩 나타났는데 유충에서는 M. W. 140 Kd가, 성충에서는 56 Kd가 주분획(major band)이었다.

넷째, SDH 동위효소는 유충에서 1개(132 Kd), 성충에서 2개(132 Kd, 45 Kd)가 분리되었으며 성충에서 활성이 높게 나타난 band는 45 Kd인 단백질이었다.

**KEY WORDS:** Enzyme-histochemical studies, LDH, SDH, *Spirometra erinacei*

*Spirometra erinacei*는 수중에서 부화된 총란이 제 1 중간숙주를 거쳐 제 2 중간숙주인 개구리나 뱀, 쥐 등의 조직에 침입하여 sparganum으로 발달하였다가 종숙주인 개나 고양이의 소장에서 성체로 발육하는 촌충류(cestoda)이다(Faust *et al.*, 1970; Beach *et al.*, 1980). 이 촌충은 전생활사를 통하여 소화기관의 분화가 없기 때문에 숙주의 양분을 직접 체표로 흡수해서 체내 대사에 이용한다(Kwa, 1972; Pappas and Read, 1975). *Spirometra erinacei*를 비롯한 대부분의 촌충류는 glucose와 galactose를 주에너지원으로 이용하는데 산소의 존재와는 관계없이 무기호흡대사로 생활하나 임의적으로 유기호흡도 병행한다(Bryant, 1978; Gerald and Larry, 1981). 능동수송 및 확산에 의해 흡수된 탄수화물은 기질로 이용되어 호흡대사를 거쳐 lactate, acetate, succinate 등의 최종산물

로 축적된다는 보고가 있다(Barrett, 1984; Smyth and Mcmanus, 1989). 이 대사과정에는 LDH, MDH, SDH 등이 촉매작용을 하는데, 이들 효소에 대한 연구는 촌충강 *Hymenolepis* sp.를 재료로 한 많은 보고가 있다(Logan *et al.*, 1977; Moon *et al.*, 1977; Peter and Schroeder, 1979). 그러나 *Spirometra* sp.의 호흡대사 과정이나 대사를 촉매하는 동위효소에 관한 보고는 없는 실정이며 성장 발육에 따라 호흡효소의 활성변화를 비교한 보고도 아직 접하지 못하였다.

본 연구는 *Spirometra erinacei*의 발육과정에 있어서, 체표로 흡수된 탄수화물의 산화과정에서 lactate와 succinate의 생성을 촉매하는 LDH와 SDH의 조직분포와 동위효소 유형을 비교해 봄으로서 본 종의 호흡과정을 밝히는 기초자료를 얻고자 효소조직화학적 방법 및 전기영동법을 이용하여 조

사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

**sparganum**: 유혈목이(*Natrix tigrina lateralis*)를 해부하여 피하조직에 기생하고 있는 *Spirometra erinacei*의 제 3기 유충 plerocercoid(sparganum)를 적출한 다음, 두부(scolex)와 경부(neck)가 포함되게 5 mm 길이로 잘라 체중 200 g의 흰쥐(*Wister immanichi albino*)에 인공구장 감염시켰다. 흰쥐 1마리당 절단한 sparganum 20마리씩을 감염시킨 흰쥐 20마리를 5마리씩 4개의 실험구로 나누어 사육한 후, 감염일이 15일 경과될 때마다 한 실험구씩 흰쥐를 해부하여 sparganum을 회수하였다.

**성체**: 유혈목이에서 적출한 sparganum을 고양이에게 섭식 감염시켜 변검사를 통해 충란이 확인된 25일 후 고양이를 해부하여 소장내 기생중인 성체를 회수하였다. 회수된 성체는 해부현미경하에서 생식기관의 발육 및 충란발생 상태를 확인하여 미성숙편절(immature proglottid), 성숙편절(mature proglottid), 수태편절( gravid proglottid)로 구분해서 실험재료로 사용하였다. 흰쥐와 고양이에서 회수한 sparganum의 체부와 성체의 각 편절을 생체로 냉동절편을 만들고 일부는 생리식염수에 넣어  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동실에 보관한 후 전기영동 재료로 사용하였다.

### 실험방법

#### 효소조직화학적 방법

**냉동절편의 제작**: 살아있는 충체를  $-20^{\circ}\text{C}$  cryostat에서 포매시켜  $8\ \mu\text{m}$  두께로 절편(cross section)을 만들어  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동실에 보관하였다가 효소검정 재료로 사용하였다.

**효소의 검정**: (1) LDH 발색반응은 tetrazolium salt procedure(Lojda *et al.*, 1979)에 따라 stock solution(0.1 M phosphate buffer pH 7.3 20 ml, 0.03% nitroblue tetrazolium 20 ml, 0.05% NaCN 8 ml, 1%  $\text{MgCl}_2$  8 ml, D.W. 16 ml)을 섞은 혼합액을 준비하여 이 혼합액 20 ml에  $\text{NAD}^+$

30 mg과 1 M lactate 2 ml를 첨가시킨 반응액(pH 7.4)을 조직에 가하여  $37^{\circ}\text{C}$  습실에서 30분간 반응시켰다.

(2) SDH 발색반응도 tetrazolium salt procedure를 이용하여 stock solution 20 ml에 1 M succinate 2 ml, phenazine methosulfate 2 mg을 섞은 반응액(pH 7.4)을 조직에 가하여  $37^{\circ}\text{C}$  습실에서 30분간 정온 반응시켜 발색하였다. 충체조직에 발색된 효소의 분포는 표피층(tegument), 표피근층(epidermal musculature), 실질근층(parenchymal musculature)으로 구분하여 발색반응의 강도에 따라 강양성반응(+++), 중양성반응(++), 약양성반응(+), 음성반응(0)으로 구분 판정하였다.

#### 전기영동에 의한 효소의 검정

냉동시킨 유충과 성충을 막자바위와 초음파분쇄기(ultrasonicator)로 균질화한 후  $16000 \times \text{g}$ 로  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 2회 원심분리하여 상정액을 취했다. 이 상정액을  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 PBS로 투석하였다. 발육단계에 따라 채취된 7종의 시료액을 Lowry법(Lowry *et al.*, 1951)으로 단백질을 정량한 다음, 단백질  $200\ \mu\text{g}$ 씩이 똑같이 함유된 시료로 만들어서 각 시료 주입구에 주입하였다. 전기영동은 5-15% polyacrylamide gradient gel을 이용해서 Laemmli의 방법(Laemmli, 1970)을 약간 변형한 방법으로 행하였다. 분자량 측정을 위해 native M.W. marker(Sigma)를 사용하였고 0.01%(w/v) bromophenol blue 수용액을 tracking dye로서 사용하였다.  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 50 mA로 1시간동안 전개시킨 gel을 simultaneous capture method(Jakoby, 1971)에 따라 1 M sodium lactate 10 ml,  $\text{NAD}^+$ (10 mg/ml) 10 ml, 0.1 M NaCl 10 ml, 5 ml, tris-HCl buffer(pH 7.4) 25 ml, PMS(1 mg/ml) 2.5 ml을 섞은 혼합액을 준비한 다음, LDH 염색 반응은 이 혼합액 102.5 ml에 1 M lactate 2.5 ml을 첨가하여 반응액을 만들고, SDH 염색은 1 M succinate disodium salt 10 ml을 섞은 반응액을 만들어  $37^{\circ}\text{C}$  습실에서 40분간 gel과 반응시켜 각 동위효소를 확인하였다.

## 결 과

### LDH의 분포와 등위효소 유형

LDH는 NBT와 반응하여 암청색으로 발색되었다. 유충조직에서의 LDH 분포는 발육에 따른 차이는 없었으나 표피층과 실질근층에 비해 표피근층에서 다소 강한 반응이 나타났다. 성충시기에도 다른 조직층에 비해 표피근층에 많이 분포하였으며, 특히 성체의 표피층에 분포된 LDH 활성은 수태편절에서는 상당히 높게 나타났으나 미성숙편절과 성숙편절의 표피층에서는 LDH의 분포가 없었다(Plate 1, Table 1). LDH 등위효소 분획 유형은 유충과 성충 모두 2개씩의 분획이 분리되었는데 유충시기에는 140 Kd의 분자량을 가진 분획이, 성충시기에는 56 Kd의 비교적 저분자량의 분획이 각각 주분획(major band)으로 나타났다(Fig. 1). 발육에 따른 분획 유형은 유충시기에 높은 활성을 보였으며, 또한 gel의 시료 주입구 근처에 분자량이 확인되지 않은 고분자 분획 1개가 분리되었는데 성충시기보다 유충시기에 다소

높은 활성을 보였다.

### SDH의 분포와 등위효소 유형

조직에 분포하는 SDH는 NBT와 반응하여 청색으로 발색되었는데 유충과 성충 모두 표피층과 실질근층에 비해 표피근층에 많이 분포하였다. 유충시기의 SDH 분포도는 감염후 45일, 60일이 경과된 유충에서 15일, 30일이 경과된 유충보다 모든 조직층에서 높게 나타났다. 성충시기에서도 다른 조직층에 비해 표피근층에 많이 분포하였으며 미성숙편절과 성숙편절의 표피층에는 SDH의 분포가 확인되지 않았다(Plate 2, Table 2). SDH 등위효소의 분획 유형은 유충시기에 132 Kd 분획 1개가 분리되었으며 성충시기에는 2개의 SDH 등위효소 분획(132 Kd, 45 Kd)이 분리되었다. 유충의 발육에 따른 활성변화는 없었으나 성충시기에는 132 Kd의 등위효소 활성은 유충시기보다 감소되고 45 Kd의 분획이 주분획으로서 강하게 나타났다(Fig. 2). 한편, 성숙편절과 수태편절의 생식기관조직에 SDH와 LDH가 많이 분포하였는데 그 중 정소에는 아주 많은 분포를 보

Table 1. Relative amount of lactate dehydrogenase activity on developing *Spirometra erinacei*.

Tissue	Sparganum				Adult		
	15 days	30 days	45 days	60 days	Immature proglottid	Mature proglottid	Gravid proglottid
T	+	+	+	++	0	0	++
EM	++	++	++	++	++	+++	+++
PM	+	+	+	+	++	+	+

\*T: tegument, EM: epidermal musculature, PM: parenchymal musculature, \*\* +++: intensively stained, ++: moderately stained, +: slightly stained, 0: no stained.

Table 2. Relative amount of succinate dehydrogenase activity on developing *Spirometra erinacei*.

Tissue	Sparganum				Adult		
	15 days	30 days	45 days	60 days	Immature proglottid	Mature proglottid	Gravid proglottid
T	+	+	++	+++	0	0	++
EM	++	++	+++	+++	+++	++	+++
PM	+	+	++	++	++	++	+

\*T: tegument, EM: epidermal musculature, PM: parenchymal musculature, \*\* +++: intensively stained, ++: moderately stained, +: slightly stained, 0: no stained.

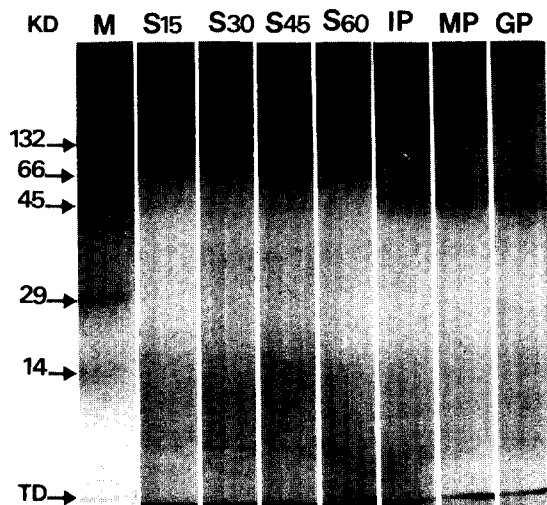


Fig. 1. Isozyme band patterns of LDH on developing *Spirometra erinacei*.

\*S15: 15 Day elapsed sparganum after infection  
 S30: 30 Day elapsed sparganum after infection  
 S45: 45 Day elapsed sparganum after infection  
 S60: 60 Day elapsed sparganum after infection  
 IP: Immature proglottid. MP: Mature proglottid. GP: Gravid proglottid. TD: Tracking dye. KD: Kilo-dalton. M: Marker protein.

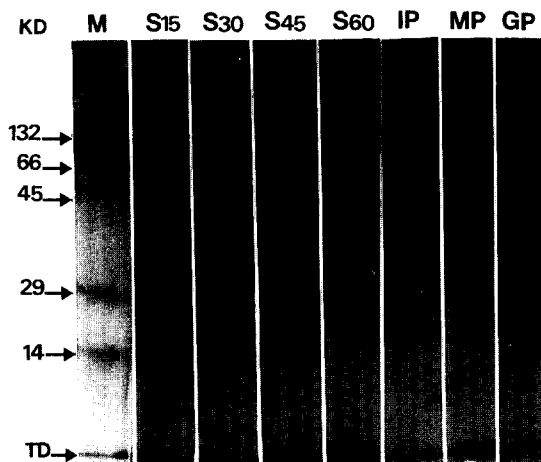


Fig. 2. Isozyme band pattern of SDH on developing *Spirometra erinacei*.

\*S15: 15 Day elapsed sparganum after infection  
 S30: 30 Day elapsed sparganum after infection  
 S45: 45 Day elapsed sparganum after infection  
 S60: 60 Day elapsed sparganum after infection  
 IP: immature proglottid. MP: Mature proglottid. GP: Gravid proglottid. TD: Tracking dye. KD: Kilo-dalton. M: Marker protein.

였다(Plate 1-g, h, Plate 2-g, h).

### 고찰

촌충류의 체표로 흡수된 탄수화물은 충체의 발육에 이용되며 신경계, 생식계 등의 기관발육은 성체의 성숙편절에서 완성된다(Pappas and Read, 1975; Hopkins and Allen, 1979). 충체에 흡수된 탄수화물의 호흡대사는 포유동물의 조직에서 행하는 해당과정과 유사하게 진행되는데 유기환경에서 전자전달계를 거치는지는 분명치 않으나 일단 산소의 이용과는 관계없이 lactate, succinate 등이 축적된다(Gerald and Larry, 1981; Smyth and Mcmanus, 1989). Rhaman과 Meisner(1973)는 *Hymenolepis diminuta*(Cestoda)의 연구에서 산소환경과는 상관없이 조직세포에 젖산과 숙신산이 축적됨을 보고하였다. Barrett(1984)는 *Spirometra dendriticum*(Cestoda)의 유충과 성충

조직에서는 최종산물로 젖산, 숙신산이 축적되었으나, 같은 숙인 *S. mansonioides*의 조직에서는 무기환경에서만 젖산과 숙신산 등의 산물이 축적되었다고 보고하였다. 본 연구에 사용된 *S. erinacei*도 유충과 성충조직에서 LDH와 SDH가 많이 분포하는 것으로 보아 젖산과 숙신산이 축적된 것으로 사료된다. Saraki(1961), Kwa(1972) 등은 *Spirometra* sp.의 표피층과 표피근층에 alkaline phosphatase와 acid phosphatase가 많이 분포한다고 보고하였는데, LDH와 SDH가 표피근층에 많이 분포한 본 연구결과로 보아 체표로 흡수된 양분의 산화는 표피근층에서 가장 활발히 진행되는 것으로 추정된다. 한편, 성체의 미성숙편절과 성숙편절의 표피층에는 LDH와 SDH의 활성이 모두 음성반응으로 나타났으며 성숙편절과 수태편절의 생식기관에서는 많은 분포를 보였다. 이러한 결과는 근층조직에 위치한 생식기관의 발육 및 충란의 발생에 왕성한 호흡대사가 소요되는 것

으로 생각된다. 양서류의 배발생에 따른 LDH와 SDH의 효소활성은 발생이 진행되면서 점차 증가한다는 보고가 있다(Park and Ha, 1980). Watts와 Fairbairn (1974)의 *H. diminuta* 연구에서는 충체의 성장에 따른 젖산의 생성율은 점차 감소하고 숙신산의 생성율이 증가한다고 보고하였다. 본 연구에 나타난 LDH와 SDH를 비교해 보면, 성충 편절에서는 대체로 유사한 변화를 보였다. 그러나 유충시기에는 LDH 활성은 거의 변화가 없는데 반해 SDH 활성은 초기 발육단계에 비해 후기 발육단계에서 활성이 증가하여 Watts와 Fairbairn (1974)의 보고와 일치하였다. 이러한 활성증가는 감염후기에 성체로의 변태에 대비해서 호기성 호흡을 위주한 활발한 발육대사에서 기인된 것이 아닌가 사료된다. 한편, Peter와 Schroeder (1979)는 *Hymenolepis microstoma*(Cestoda)에서 2개의 LDH 동위효소를 분리하였는데 주분획의 분자량은 160 Kd였다. Walkey와 Fairbairn(1973), Moon 등(1977)은 *H. diminuta*에서 2개의 LDH 동위효소를 분리하였고 William 등(1972)은 *H. diminuta*에서 1개의 LDH 분획(M.W. 141 Kd)을 분리하였다. 또한 Logan 등(1977)은 *H. diminuta*에서 2개의 LDH 동위효소(140 Kd, 65 Kd)를 분리하였다. 본 실험에서는 유충과 성충에서 각각 2개씩의 동위효소가 분리되었는데 선명하게 분리된 주분획의 분자량은 140 Kd와 60 Kd였다. 이상의 결과로 보아, 동일 강(class)인 *Hymenolepis* sp.과 *S. erinacei*에 존재하는 LDH 동위효소는 2종류였으며 분자량은 대략 140 Kd와 60 Kd로서 유사하였다.

촌충류의 호기성 탄수화물 산화과정은 PEP (phosphoenolpyruvate)를 거쳐 oxaloacetate, malate, fumarate, succinate 순으로 진행되는데, 이 산화과정을 촉매하는 호흡효소에 관해서는 MDH에 대한 연구가 주로 보고되었다(Tung *et al.*, 1972; Watts and Fairbairn, 1974; Peter and Schroeder, 1979). Moon 등(1977)은 *H. diminuta*에서 4개의 MDH 동위효소를 분리하였고 Peter와 Schroeder(1979)는 *H. microstoma*의 성충에서 3개의 MDH 분획을 분리하여 gel chromatography를 통해 M.W. 49 Kd의 주분획을 얻었다. 본 연구에서는 *S. erinacei*의 조직에서 2개의 SDH 동

위효소(132 Kd, 45 Kd)가 분리되어 촌충류에 존재하는 호기성 호흡효소들의 동위효소가 다양하게 나타났다. 한편, 본 연구에서는 유충시기에서 보다 성충시기의 LDH, SDH의 동위효소 유형 및 활성도의 변화가 뚜렷하였다. 이러한 변화는 중간숙주의 조직에서 유충상태로만 발육하고 종숙주의 소장에서 성충으로 발육하는 근본적으로 다른 발육환경(숙주, 기생부위)의 차이로 볼 수 있다. 그러나 이러한 서로 다른 환경에서 편절분화와 동시에 나타나는 56 Kd의 LDH 동위효소와 45 Kd의 SDH 동위효소의 새로운 출현에 대해서는, 이들 효소의 순수분리를 통한 효소유전적 차원에서 더 깊이있게 추궁되어야 할 것으로 생각된다.

한편, 표피근층과 실질근층에서 석회과립(calcareous corpuscles)이 나타났는데, 이 미세포성 과립의 기능에 대해서는 상세히 알려진 바는 없으나 숙주의 유해물에 대한 충체의 방어물질 공급 및 무기이온( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  등)의 공급처 역할을 한다는 보고가 있다(Von and Nysten, 1970; Baldwin *et al.*, 1978). 유충시기에 석회과립이 많이 관찰된 본 연구결과로 보아 성충보다는 유충의 숙주환경이 더 유해하며, 성체의 편절분화보다 유충의 성장발육이 더 활발한 것으로 생각된다.

## 인용문헌

- Baldwin, J. L., A. K. Berntzen, and B. W. Brown, 1978. *Mesocestoides corti*; cation concentration in calcareous corpuscles of tetrathyridia grown *in vitro*. *Exp. Parasitol.* **44**: 90-196.
- Barrett, J., 1984. The anaerobic end-products of helminths. *Parasitology* **88**: 179-198.
- Beach, D. H., J. F. Mueller, and G. G. J. Holz, 1980. Lipids of stages in the life cycle of the cestods *Spirometra mansonioides*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1**: 249-263.
- Bryant, C., 1978. The regulation of respiratory metabolism in parasitic helminths. *Adv. Parasitol.* **16**: 311--331.
- Faust, E. C., P. F. Russel, and R. C. Jung, 1970. Craig and Faust's clinical parasitology. 8th Ed. Lea and Febiger Philadelphia, pp. 591.
- Gerald, D. S. and S. R. Lary, 1981. Foundations of parasitology. Mosby Co., pp. 360-361.
- Hopkins, C. A. and L. M. Allen, 1979. *Hymenolepis*

- diminuta*; the role of the tail in determining the position of the worm in the intestine of the rat. *Parasitology* **79**: 401-410.
- Jakoby, W. B., 1971. Methods in enzymology; enzyme purification and related techniques. Academic press, New York, Vol. 22, pp. 585-586.
- Kwa, B. H., 1972. Studies on the sparganum of *Spirometra erinacei*. I. The histology of the sparganum scolex. *Int. J. Parasitol.* **2**: 23-28.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature* **227**: 680-685.
- Logan, J., J. E. Ubilaker, and R. C. Vrijenhoek, 1977. Isozyme of L (+)-LDH in *Hymenolepis diminuta*. *Comp. Biochem. Physiol.* **57B**: 51-53.
- Lojda, Z., R. Gossary and T. H. Schiebler, 1979. Enzyme histochemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, pp. 59-71, 71-87, 117-118.
- Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Moon, T. W., W. C. Hulbert, W. Mustafa, and D. F. Mettrick, 1977. A study of lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase in adult *Hymenolepis diminuta* (cestoda). *Comp. Biochem. Physiol.* **56B**: 249-254.
- Pappas, P. W. and C. P. Read, 1975. Membrane transport in helminth parasites; a review. *Exp. Parasitol.* **37**: 469-530.
- Park, Y. C. and D. B. Ha, 1980. Studies on the change of isozyme patterns of lactate and malate dehydrogenase during embryonic development of some amphibians. *Korean J. Zool.* **23**: 263-272.
- Peter, W. P. and L. L. Schroeder, 1979. *Hymenolepis microstoma*; lactate and malate dehydrogenases of the adult worm. *Exp. Parasitol.* **47**: 134-139.
- Rhaman, R. and H. Meisner, 1973. Respiratory studies with mitochondria from the rat tapeworm *Hymenolepis diminuta*. *Int. J. Biochem.* **4**: 153-162.
- Saraki, T., 1961. A histochemical study on the maleic acid in manson's tapeworm (in Japanese; English summary). *Acta Sch. Med. Univ. Gifu.* **9**: 176-189.
- Smyth, J. D. and D. P. Mcmanus, 1989. The biochemistry of cestodes. Cambridge Univ. Press, New York, pp. 83-84.
- Tung, L., R. W. Grac, and B. G. Harris, 1972. Studies on enzymes from parasitic helminths-II. Purification and properties of malic enzyme from the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Archives of biochemistry and Biophysics* **150**: 397-406.
- Von, B. T. and M. U. Nylén, 1970. Organic matrix of cestode calcareous corpuscle. *Exp. Parasitol.* **28**: 566-576.
- Walky, M. and D. Fairbairn, 1973. L (+)-lactate dehydrogenase from *Hymenolepis diminuta* (cestoda). *J. Exp. Zool.* **183**: 365-374.
- Watts, S. D. M. and D. Fairbairn, 1974. Anaerobic excretion of fermentation acids by *Hymenolepis diminuta* during development in the definitive host. *J. Parasitol.* **60**: 621-625.
- William, F. B., R. W. Gracy, and B. G. Harris, 1972. Studies on enzymes from parasitic helminths-III. Purification and properties of lactate dehydrogenase from the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Comp. Biochem. Physiol.* **43B**: 345-359.

(Accepted April 30, 1992)

---

**Enzyme-histochemical Studies of LDH and SDH on Developing *Spirometra erinacei*.**

Kee Hoon Kwak and Chang Hwan Kim (Department of Biology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea)

This study was carried out to investigate the distribution and isozyme band pattern of LDH and SDH on developing *Spirometra erinacei* (sparganum, adult). The sparganum and adult were recovered from rats and cat that were infected with sparganum collected from snake.

The obtained result were as follows:

1. Lactate dehydrogenase (LDH). LDH had a strong activity in the epidermal musculature of sparganum and of adult, but no detectable level in tegument of immature and mature proglottid. There were no changes of LDH activity on developing sparganum. Two LDH isozyme bands were detectable in sparganum and adult, respectively. Of these bands, 140 Kd band and 56 Kd band was major band in sparganum and adult.

2. Succinate dehydrogenase (SDH). The activity of SDH was strong in the epidermal musculature of sparganum and of adult, but no detectable level in tegument of immature and mature proglottid. SDH activity in sparganum was stronger in the late part of infection than in the early part of infection. One and two SDH isozyme bands were detectable in sparganum and adult. Of these bands, 132 Kd and 45 Kd band was major band in sparganum and adult.

**Explanation of Plates**

**Plate 1.** Histochemical localization of LDH activity on developing *Spirometra erinacei*.

- a. Sparganum elapsed 15 days after infection. (100×)
- b. Sparganum elapsed 15 days after infection. (400×)
- c. Sparganum elapsed 30 days after infection. (400×)
- d. Sparganum elapsed 45 days after infection. (400×)
- e. Sparganum elapsed 60 days after infection. (400×)
- f. Immature proglottid of adult. (100×)
- g. Mature proglottid of adult. (100×)
- h. Gravid proglottid of adult. (100×)

**Plate 2.** Histochemical localization of SDH activity on developing *Spirometra erinacei*.

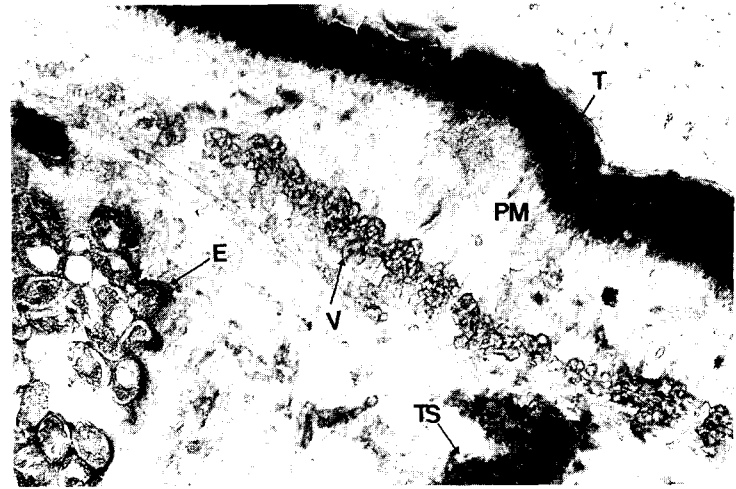
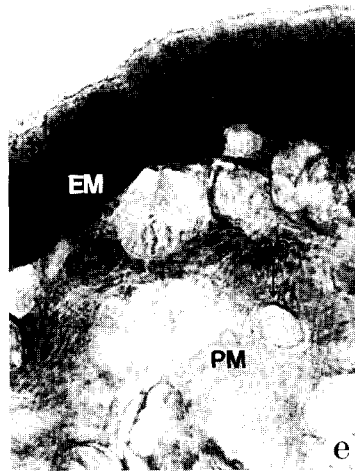
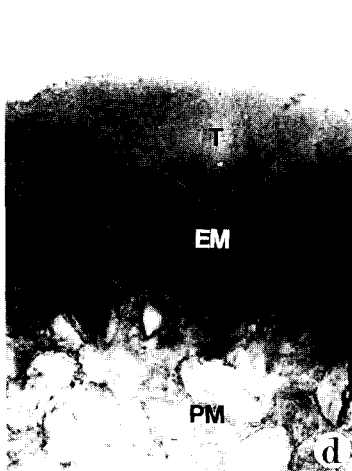
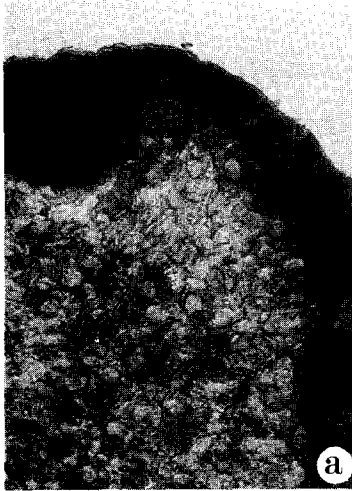
- a. Sparganum elapsed 15 days after infection. (100×)
- b. Sparganum elapsed 15 days after infection. (400×)
- c. Sparganum elapsed 30 days after infection. (400×)
- d. Sparganum elapsed 45 days after infection. (400×)
- e. Sparganum elapsed 60 days after infection. (400×)
- f. Immature proglottid of adult. (100×)
- g. Mature proglottid of adult. (100×)
- h. Gravid proglottid of adult. (100×)

**Abbreviation**

CC: calcareous corpuscles, EM: epidermal musculature, PM: parenchymal musculature, T: tegument, TS: testis, V: vitelline gland.



PLATE 1



**PLATE 2**

