

뱀장어속 어류 2종의 동위효소 및 mtDNA 분석*

민미숙 · 양서영

인하대학교 이과대학 생물학과

뱀장어속(*Anguilla*)의 뱀장어(*A. japonica*)와 무태장어(*A. marmorata*) 및 피봉장어(*Anago anago*)의 유전적 특징과 종간 유연관계를 밝히기 위하여 isozyme 분석과 mtDNA 분석을 실시하였다. Isozyme 분석결과 20개의 효소 및 비효소단백질에서 총 39개의 유전자를 검출하였고 각종 특유의 genetic marker를 확인하였다. 3종의 평균 유전적 변이는 뱀장어가 $H_D = 0.057$, $H_G = 0.065$, 무태장어는 $H_D = 0.067$, $H_G = 0.053$, 피봉장어가 $H_D = 0.018$, $H_G = 0.020$ 으로 각각 나타났다. 뱀장어와 무태장어의 평균 종간 유전적 근연관계는 $\bar{S} = 0.420$ ($\bar{D} = 0.869$)로 멀게 나타났다. 6 base를 인지하는 10종류의 제한효소를 처리한 결과 mtDNA 절편양상은 각 종내에서 동일하게 나타났으나 각종간에 차이를 보였고, 종간 평균염기치환율은 뱀장어와 무태장어가 $\bar{p} = 3.4\%$, 뱀장어속 2종과 피봉장어는 $\bar{p} = 9.6\%$ 로 나타났다.

KEY WORDS: *Anguilla*, *Anago*, Isozyme, MtDNA, Speciation

각 생물군들은 집단 및 종에 따라 고유한 유전적 특성을 나타내고 있으므로 이 같은 유전적 특성을 생화학적, 분자유전학적 방법들을 이용하여 연구함으로써 각 생물군의 정확한 종의 위치와 유사종간의 근연정도 및 분자진화 정도를 밝힐 수 있다.

뱀장어속 어류는 담수역에서 주로 서식하며 산란기에 심해의 난류성 수계로 들어가 산란하는 어종으로 우리나라에는 뱀장어속(*Anguilla*)의 뱀장어(*A. japonica*)와 무태장어(*A. marmorata*) 2종이 분포하는 것으로 보고되어 있다 (Chyung, 1977; Choi *et al.*, 1990; Kawanabe and Mizuno, 1989). 특히 무태장어의 경우는 이들의 분포가 제주도 서귀포시의 천지연 폭포지역에만 제한 서식하는 천연기념물로 지정된 어종이다. 또한 뱀장어의 경우 주로 서, 남해안의 하천에 분포하며 주된 양식대상종으로 이용되는 어종이며 이들에 대한 계통분류학적 측면에서의 유전적 분석은 전무한 상태이다.

본 연구는 이들 뱀장어속 어류 2종과 비교종으

로 피봉장어(*Anago anago*) 등 3종을 대상으로 전기영동법을 통한 isozyme 분석과 mtDNA 분석을 실시하여 이들 3종의 유전적 변이 정도 및 종간 유연관계를 구명하고 아울러 급변하는 환경 변화에 따른 유전자 보존을 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 채집지

본 실험에 사용한 채집지역은 Table 1과 같다. 실험재료는 채집후 생체로, 실험실로 운반하여 연구시료로 사용하였다.

2. Isozyme 분석

전기영동방법은 Buth(1986) 및 Yang 등(1991)의 방법으로 어체의 근육을 1g정도 적출하여 D.W와의 비율을 1:0.8정도로 하여 glass homogenizer로 마쇄하고 저온원심분리를 이용 18,000rpm으로 30분동안 원심분리하여 상

*본 연구는 1992년도 교내연구비지원에 의한 것임.

층액을 추출, 전기영동 시료로 사용하였다. 전기영동은 Tris citrate(pH 8.0), LiOH(pH 8.1), Poulik(pH 8.2), T.M(pH 7.4) buffer 등을 사용하여 12% starch gel 전기영동을 실시하였다. 전기영동 조건은 Table 2와 같다. 전기영동후 얻어진 각 효소 및 비효소단백질의 전기영동상을 이용하여 각 개체별 유전자형을 확인하고 BIOSYS-1 program(Swofford and Selander, 1981)을 이용하여 각 집단 유전인자빈도(allele frequency), 평균다형성빈도(%

polymorphism) 및 이형접합자빈도(heterozygosity)값을 구하여 각 집단의 유전적 변이 정도를 구하였다(Selander, 1976). 각 집단간 유전적 근연관계는 Rogers(1972)의 유전적 근연치(S)와 Nei(1972)의 유전적 차이치(D)를 구한 다음 UPGMA방법(Sneath and Sokal, 1973)으로 dendrogram을 작성하여 비교 검토하였다.

Table 1. Collecting localities, date, and number of specimens of the genera *Anguilla* and *Anago*.

Collection Localities	No. of Specimens	Collection Date
<i>Anguilla japonica</i>		
1. Namhae: Namhae-up, Namhae-gun, Kyongsangnam-do	3	June 26, 1992
2. Haenam: Haenam-up, Haenam-gun, Chollanam-do	8	June 25, 1992
3. Incheon: Yonan-pier, Incheon-shi	7	May 31, 1992
4. Cheju: Chongiyeon, Sokwipo-shi, Cheju-do	1	July 29, 1992
<i>Anguilla marmorata</i>		
5. Amami: Amami Isl., Japan	5	June 24, 1993
<i>Anago anago</i>		
6. Incheon: Yonan-pier, Incheon-shi	10	June 23, 1993

Table 2. Buffer systems and stains for electrophoresis.

Buffer system	E.C.No.	Enzyme	Volt/Time
Continuous tris citrate II (TC II, pH: 8.0)	2.6. 1. 2	Alanine aminotransferase (<i>Alat</i>)	100V/3hrs
	2.7. 4. 3	Adenylate kinase (<i>Ak-1,2</i>)	
	2.7. 3. 2	Creatine kinase (<i>Ck-1,2,3</i>)	
	1.1.99. 5	α Glycerophosphate dehydrogenase (<i>αGpd-1,2</i>)	
	1.1. 1.42	Isocitrate dehydrogenase (<i>Idh</i>)	
	1.1. 1.27	Lactate dehydrogenase (<i>Ldh-1,2</i>)	
	1.1. 1.37	Malate dehydrogenase (<i>Mdh-1,2</i>)	
	5.3. 1. 8	Mannose-6-phosphate isomerase (<i>Mpi-1,2</i>)	
	2.7. 5. 1	Phosphoglucomutase (<i>Pgm-1,2</i>)	
Discontinuous tris citrate (Poulik, pH: 8.2)	4.2. 1. 3	Aconitase (<i>Aco</i>)	200V/3hrs
	1.1. 1.40	Sorbitol dehydrogenase (<i>Sdh</i>)	
Lithium hydroxide (LiOH, pH: 8.1)	3.1. 1. 1	Esterase (<i>Est-1,3,4</i>)	250V/3hrs
		General protein (<i>Gp-1,2,3,4,5</i>)	
	3.4.11.11	Peptidase (<i>Pept-1,2,3</i>)	
	5.3. 1. 9	Phosphoglucose isomerase (<i>Pgi-1,2</i>)	
Tris maleic EDTA (TM, pH: 7.4)	4.2. 1. 2	Fumerase (<i>Fum</i>)	100V/5hrs
	2.6. 1. 1	Glutamate oxaloacetate transaminase (<i>Got-1,2</i>)	
	1.1. 1.40	Malic enzyme (<i>Me-1,2</i>)	
	1.1. 1.44	6 Phosphogluconate dehydrogenase (<i>6Pgd</i>)	

3. MtDNA 분석

조직 중 mitochondria의 함량이 높은 간, 심장 등을 적출하여 Bernachetz와 Dodson (1990)의 방법을 이용, mtDNA를 추출하였다. 세포를 파괴하기 위해 1-2g의 조직을 homogenize 완충액(0.24M Sucrose, 0.01M EDTA, pH 7.4)으로 마쇄하여 핵과 세포질물질의 분리를 위해 농도구배를 주어 원심분리한 후 시료에 남아있는 염색체 DNA와 RNA를 제거하기 위하여 DNase I과 RNase A를 처리하였다. 10% NP-40을 이용 mitochondria의 막을 파괴한 후 원심분리하여 상층액을 추출하고 mtDNA 정제과정을 거쳐 70% ethanol로 세척한 후 진공건조 시킨다음 증류수로 희석하고 Avise 등(1984)의 방법에 따라 제한효소를 처리한 다음 Mack 등(1986)의 방법에 의하여 0.8% agarose gel 전기영동을 하였다. 전기영동 후 이동된 DNA 절편을 ethidium bromide (EtBr)로 염색한 후 UV-illuminator 상에서 절편을 확인한 후 사진을 촬영하였다. 각 DNA 절편의 이동도에 따른 절편 유사성(F값)과 염기서열 분화정도(p값)(Upholt, 1977)를 구하여 집단 및 종간 변이를 분석하였다.

결과

1. 동위효소분석 결과

뱀장어속 2종과 피봉장어에 대한 동위효소분석 결과 20개의 효소 및 비효소단백질에서 총 39개의 유전자를 검출하였고 각 유전자에 대한 유전인자 빈도를 구한 결과는 Table 3과 같다. 전체 39개 유전자중 *Pgm-1*, *Pept-2*, *Got-1* 등 3개 유전자는 변이가 없이 3종 모두가 동일한 유전인자였다.

뱀장어 4집단의 경우 *Idh*, *Mpi*, *6Pgd*, *Got-2*, *Me-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Est-1*, *Est-3*, *Pept-1*, *Sdh*, *Aco* 등 12개 유전자(30.8%)를 제외한 나머지 유전자(69.2%)는 변이가 없이 모두 동일한 유전인자였으며 *6Pgd*와 *Aco*의 경

우는 4개 집단 모두에서 변이를 나타내었다. 제주 집단의 1개체는 *Aco*, *Est-1*, *6Pgd*에서 이형접합자로 변이를 나타내었다. *Idh*는 해남집단에서, *Mpi-1*, *Got-2*, *Pgi-1*, 및 *Sdh*는 인천집단에서, 그리고 *Pgi-2*는 남해집단에서만 변이를 나타내었다. *6Pgd*와 *Aco*는 4집단 모두에서 변이를 나타내었고, *Est-1*은 남해집단을, *Me-1*은 제주집단을 제외한 나머지집단에서 변이를 나타내었다.

무태장어의 경우 *6Pgd*, *Got-2*, *Pgi-1*, *Est-3*, *Gp-2*에서 변이를 나타내었으며 *Est-1b*, *Est-3c*, *Gp-2b*인자는 무태장어 특유의 유전인자였다.

동일속에 속하는 뱀장어와 무태장어는 전체 유전자중 19개의 유전자(Table 3)가 완전히 다른 대립인자로 뚜렷한 차이를 보였다.

피봉장어의 경우는 *Pgm-2*, *α Gpd-1*, *Ldh-1*, *Aco*에서 변이가 확인되었으며 나머지 유전자는 변이가 없었다.

전체 유전자 중 *α Gpd-1*, *α Gpd-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Mpi-2*, *Ak-1*, *Ck-2*, *Ck-3*, *Alat*, *Fum*, *Me-2*, *Est-3*, *Pept-3*, *Gp-1*, *Gp-4*, *Ipo* 등 총 18개 유전자는 각종 특유의 Genetic marker로 확인되었다(Table 3, Fig. 1). *Pgm-2*, *α Gpd-1*, *Ldh-1*은 피봉장어에서만 변이를 나타내었고 나머지 2종은 변이가 없었다. *Aco*의 경우 뱀장어 집단과 피봉장어에서는 변이를 나타내었으나 무태장어에서는 종 특유의 인자로 변이가 없었고, *Gp-2*의 경우는 무태장어에만 변이가 있었다.

각 집단 및 종간 변이정도를 구한 결과는 Table 4와 같다. 뱀장어 4집단의 평균 유전적 변이는 $H_D = 0.057$, $H_G = 0.065$ 였으며 무태장어는 $H_D = 0.067$, $H_G = 0.053$, 피봉장어는 $H_D = 0.018$, $H_G = 0.020$ 으로서 피봉장어의 유전적 변이가 가장 낮았다.

Table 3의 유전인자빈도를 이용하여 각 집단 및 종간의 유전적 근연치(S) (Rogers, 1972)와 유전적 차이치(D) (Nei, 1972)를 구한 결과는 Table 5와 같다.

뱀장어의 경우 해남집단과 인천집단이 $S = 0$.

Table 3. Allele frequencies of 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*

Locus	Population						Locus	Population								
	A. j				A. m			A. j				A. m		A. a		
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6			
<i>Idh</i>	a	1.00	.88	1.00	1.00	1.00	1.00	b	1.00	1.00	1.00	1.00				
	b		.12					c					1.00			
<i>Pgm-1</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	<i>Alat</i>	a							1.00
<i>Pgm-2</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		b								1.00
	b						.95	c	1.00	1.00	1.00	1.00				
	c						.05	<i>6Pgd</i>	a							1.00
<i>αGpd-1</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00			b		.19	.07				.10	
	b						.05	c	.67	.50	.57	.50		.50		
	c						.95	d	.33	.31	.36	.50		.40		
	d					1.00		<i>Got-1</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>αGpd-2</i>	a						1.00	<i>Got-2</i>	a			.07			.10	
	b						1.00	b	1.00	1.00	.93	1.00		.90		
	c	1.00	1.00	1.00	1.00			c								1.00
<i>Mdh-1</i>	a						1.00	<i>Fum</i>	a							1.00
	b	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	b	1.00	1.00	1.00	1.00				1.00
	c						1.00	c								1.00
<i>Mdh-2</i>	a						1.00	<i>Me-1</i>	a							1.00
	b	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	b	.50	.12	.14	1.00				1.00
	c						1.00	c	.50	.88	.86			1.00		
<i>Ldh-1</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00			<i>Me-2</i>	a							1.00
	b						.05	b							1.00	
	c						.95	c	1.00	1.00	1.00	1.00				
	d					1.00		<i>Pgi-1</i>	a			.07			.10	
<i>Ldh-2</i>	a						1.00	b	1.00	1.00	.93	1.00		.90	1.00	
	b						1.00	<i>Pgi-2</i>	a	.83	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
	c	1.00	1.00	1.00	1.00			b	.17							
<i>Mpi-1</i>	a	1.00	1.00	.93	1.00	1.00	1.00	<i>Est-1</i>	a	1.00	.75	.93	.50			.10
	b			.07				b							.90	
<i>Mpi-2</i>	a						1.00	c		.25	.07	.50				1.00
	b						1.00	d								
	c	1.00	1.00	1.00	1.00			<i>Est-3</i>	a		.12	.07			.70	
<i>Ak-1</i>	a						1.00	b	1.00	.88	.93	1.00			.30	
	b	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	c								1.00
	c						1.00	d								
<i>Ak-2</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	<i>Est-4</i>	a							1.00
	b						1.00	b							1.00	
<i>Ck-1</i>	a						1.00	c	1.00	1.00	1.00	1.00				
	b	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		<i>Pept-1</i>	a		.12	.36				
<i>Ck-2</i>	a						1.00	b	1.00	.88	.64	1.00	1.00		1.00	
	b						1.00	c								1.00
	c	1.00	1.00	1.00	1.00			<i>Pept-2</i>	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Ck-3</i>	a						1.00	<i>Pept-3</i>	a						100	

Table 3. (Continued)

Locus	Population						Locus	Population						
	A. j				A. m	A. a		A. j				A. m	A. a	
	1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6	
Gp-1	b	1.00	1.00	1.00	1.00		Gp-5	a						1.00
	c					1.00		b	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
	a							1.00	Sdh	a				
Gp-2	b					1.00	b	1.00	1.00	.93	1.00	1.00		
	c	1.00	1.00	1.00	1.00	.80	c			.07				
	a						1.00	Aco	a					.25
Gp-3	b					.20	b						.70	
	c	1.00	1.00	1.00	1.00	.80	c	.16	.12	.07			.05	
	a						1.00	d	.67	.76	.79	.50		
Gp-4	b	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	e	.16	.12	.14	.50			
	a						1.00	f				1.00		
	b					1.00	1.00	Ipo	a				1.00	
Gp-5	c	1.00	1.00	1.00	1.00		b				1.00			
	a						c	1.00	1.00	1.00	1.00			
	b													

973(D = 0.004)으로 유연관계가 가장 가까웠고 뱀장어 4개 집단의 평균 유전적 근연치는 $\bar{S} = 0.957$ 이었다. 뱀장어와 무태장어의 평균 유전적 근연관계는 $\bar{S} = 0.420(\bar{D} = 0.869)$ 였으며 무태장어와 피봉장어의 유전적 근연치는 $S = 0.193(D = 1.698)$ 으로 근연관계가 제일 멀었다.

Table 5의 유전적 근연치를 토대로 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 2와 같다.

2. mtDNA 분석 결과

뱀장어류 3종에 대한 mtDNA를 추출하여 6base를 인식하는 10개의 제한효소로 처리하여 mtDNA절편을 분석하였다. 각 절편들에 따른 각 집단 및 종들의 절편수와 비교집단들의 공통 절편 수는 Table 6과 같다. 절편양상에서 각 절편 크기의 함으로 산출된 mtDNA크기는 뱀장어는 16.8Kb, 무태장어는 16.7Kb, 피봉장어는 17.7Kb로 각각 나타났으며 뱀장어 4집단의 경우는 집단간 절편양상이 동일하게 나타났다. *Bgl* II는 뱀장어와 무태장어에서, *Sma* I은 3종 모두에 효소인식부위가 없었으며 나머지 제한효소에서는 1개 이상의 절편들을 가지고 있었다. *Bst* EII는 전 집단이 동일한 절편 양상을 보였고, 뱀장어와 무태장어는 *Bgl* I와 *Hin* dIII에서

차이가 없이 동일하게 나타났다. 각 집단의 총 절편수는 피봉장어가 21개로 무태장어와 뱀장어 집단이 나타낸 18개의 절편수보다 약간 많은 절편수를 가지고 있었다. 무태장어와 뱀장어와의 집단간 공통절편수는 피봉장어와 공유하는 공통 절편수 보다 2배 이상 많은것으로 나타났다. Table 6을 이용하여 중간 공통절편수의 비율(F 값)과 염기치환율(p 값)을 구한 결과(Table 7) 뱀장어와 무태장어와의 평균 염기치환율은 $\bar{p} = 3.4\%$ 였으며 뱀장어속 2종과 피봉장어와의 평균 염기치환율은 $\bar{p} = 9.6\%$ 로 높게 나타났다.

고찰

최근 척추동물의 유전적 분석형질로 많이 이용되고 있는 전기영동법을 통한 동위효소분석이나 mtDNA분석은 자연집단의 유전적 변이나 집단의 구성 및 계통적 유연관계를 밝히는데 효율적이며 특히 이들방법은 핵유전자와 모계유전자를 각각 분석하는 특징을 가지고 있어 최근 두가지의 분석방법을 동시에 적용하는 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다.

뱀장어과(Anguillidae), 뱀장어속(*Anguilla*)

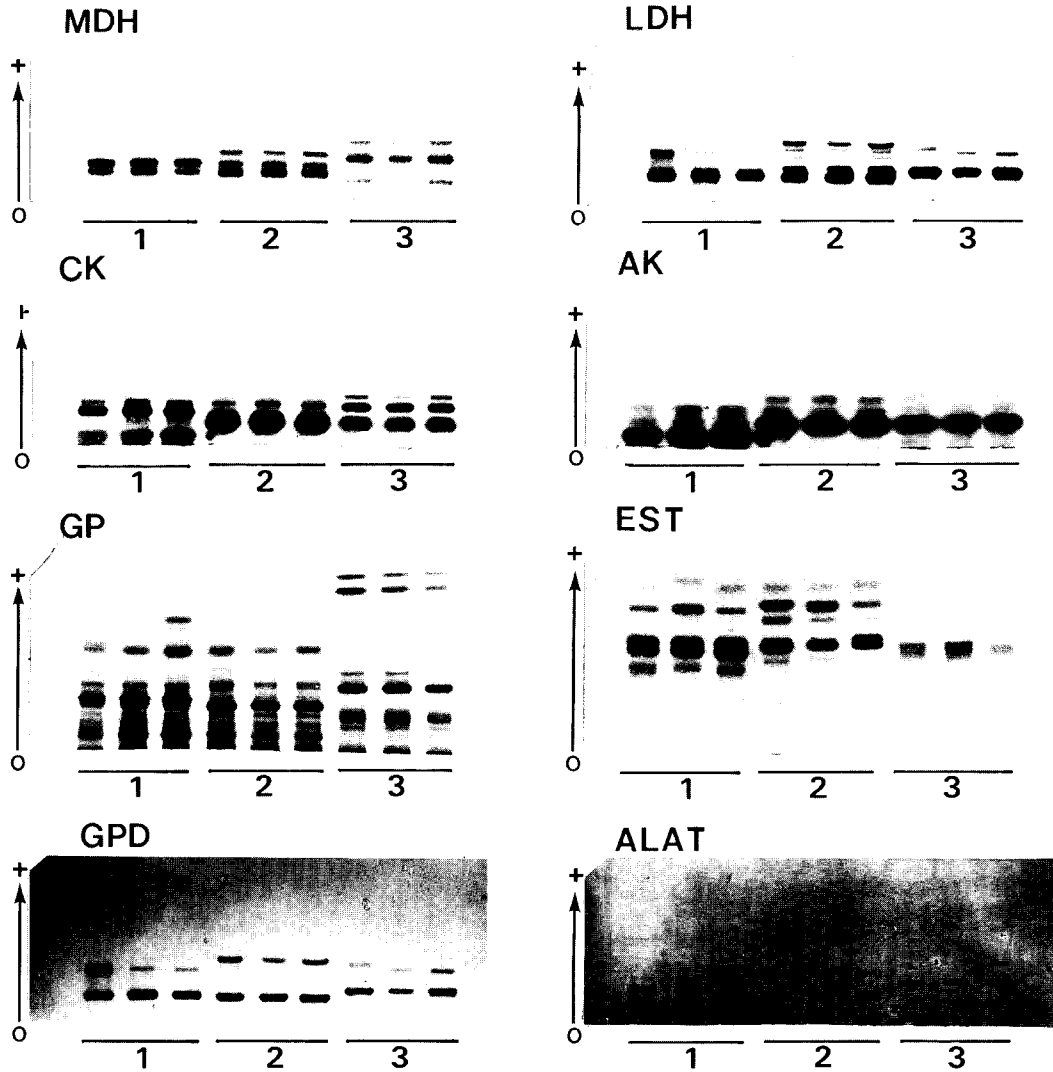


Fig. 1. Zymogram of 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*. 1: *A. japonica* 2: *A. marmorata* 3: *A. anago*

에 속하는 뱀장어(*A. japonica*)와 무태장어(*A. marmorata*)는 바다에서 산란하여 *Leptocephalus* 유생기를 거쳐 연안의 담수지역으로 올라와 성숙되며 3-5년의 성숙기간을 가진 후 다시 바다로 내려가 산란장에 산란을 하는 특유한 생활사를 가진 어종으로 우리나라를 비롯하여 일본, 대만, 필리핀, 인도네시아등지에 분포하는 고온성 어종이다(Chyung, 1977; Choi *et al.*, 1990). 세계적으로 뱀장어과에는 1속 16종이 분류된 것으로 알려져 있으며(Ege, 1939; Tesch,

1977; Nelson, 1984) 우리나라에는 2종이 분포하고 있다.

뱀장어과 어류의 유전적 분석 결과 이들의 유전적 변이정도는 뱀장어가 $H_D = 0.057$, $H_G = 0.065$, 무태장어가 $H_D = 0.067$, $H_G = 0.053$ 으로 타어류의 평균유전적 변이정도와 유사하였으나(Selander, 1976), 바다와 담수의 회유성어류인 연어(*Salmo*), 무지개송어(Rainbow trout) 및 큰가시고기과(*Gasterosteus aculeatus*, *Pungitius sinensis*)어류의 유전적 변이정도 보

Table 4. Genic variations of 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*.

	Mean No. of alleles per locus (A)	% Polymorphism per locus (%P)	Heterozygosity	
			Direct (H_D)	Expect (H_G)
<i>A. japonica</i>				
1. Namhae	1.1	10.3	0.051	0.053
2. Haenam	1.2	17.9	0.051	0.062
3. Incheon	1.3	25.6	0.048	0.066
4. Cheju	1.1	7.7	0.077	0.077
<i>A. marmorata</i>				
5. Amami	1.2	15.4	0.067	0.053
<i>A. anago</i>				
6. Incheon	1.1	10.3	0.018	0.020

Table 5. Rogers' (1972) coefficients of genetic similarity (S)(above diagonal) and Nei's (1972) coefficients of genetic distance (D)(below diagonal) of the genera *Anguilla* and *Anago*.

	1	2	3	4	5	6
<i>A. japonica</i>						
1. Namhae		0.964	0.961	0.958	0.412	0.216
2. Haenam	0.009		0.973	0.948	0.430	0.221
3. Incheon	0.009	0.004		0.937	0.421	0.221
4. Cheju	0.017	0.028	0.033		0.418	0.221
<i>A. marmorata</i>						
5. Amami	0.882	0.841	0.873	0.879		0.193
<i>A. anago</i>						
6. Incheon	1.572	1.560	1.561	1.555	1.698	

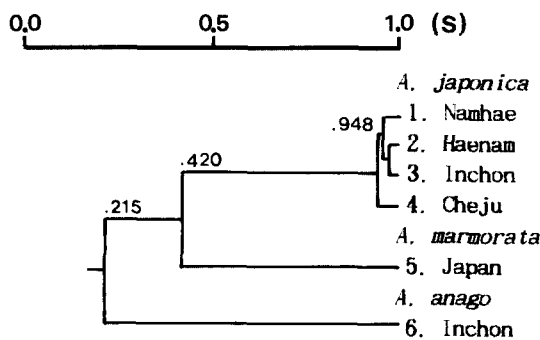


Fig. 2. Dendrogram based on Rogers' (1972) genetic similarity coefficients (S) of 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*.

다 낮았으며(Allendorf and Utter, 1979; Yang and Min, 1990) 한국산 잉어과 어류의 평균 유전적 변이보다는 높았다(Min, 1991). 한편 비교종으로 조사된 피복장어의 유전적 변이

정도는 낮아($H_D = 0.018$, $H_G = 0.020$) 한국산 담수어류인 갈겨니(*Zacco temmincki*) 집단과 은어(*Plecoglossus altivelis*), 해산어류인 가송어(*Liza haematocheila*) 집단의 유전적 변이와 유사하였고(Yang and Min, 1987; Hong *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1989b) 뱀장어속 2종의 유전적 변이가 약 3배정도 더 높은 것으로 나타났다.

뱀장어 4개 집단의 유전적 근연치는 평균 $\bar{S} = 0.957$ 로서 종내 집단간 유연관계를 나타내었고 이는 황어아과의 버들치(*Moroco oxycephalus*), 버들개(*M. lagowskii*), 금강모치(*M. keumkang*) 등 버들치속 어류(Min and Yang, 1986, Suh and Yang, 1989)와 망둑어과 어류(Kim *et al.*, 1992), 피라미아과의 갈겨니(*Z. temmincki*), 피라미(*Z. platypus*)의 종내 집단간 평균 유전적 근연치와 유사하였고(Min and Yang, 1991), 타 생물군의 종내

Table 6. Comparative analysis and estimated number of mtDNA fragments among populations within 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*.

RE	1	2	3	4	5	6	1,2,3,4/5	1,2,3,4/6	5/6
<i>Bgl</i> I	1	1	1	1	1	2	1	0	0
<i>Bgl</i> II	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Bam</i> HI	2	2	2	2	2	1	0	0	0
<i>Bst</i> EII	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Eco</i> RI	3	3	3	3	3	3	1	0	0
<i>Hin</i> dIII	4	4	4	4	4	5	4	1	1
<i>Pst</i> I	3	3	3	3	3	2	2	0	1
<i>Pvu</i> II	2	2	2	2	3	3	1	2	1
<i>Sma</i> I	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Xba</i> I	2	2	2	2	1	2	0	0	0
Total	18	18	18	18	18	21	10	4	4

Table 7. Estimates of mtDNA variation of 3 species of the genera *Anguilla* and *Anago*. Above diagonal indicates total proportion of shared restriction fragments (F) and below the diagonal indicates nucleotide sequence divergence (p) from approach of Upholt (1977).

Species	1	2	3
1. <i>A. japonica</i>		0.056	0.205
2. <i>A. marmorata</i>	0.034		0.205
3. <i>A. anago</i>	0.096	0.096	

집단간 근연치와도 유사하였다(Avise, 1976).

같은속에 속하는 뱀장어와 무태장어는 서로 유전적 조성에 큰 차이를 보였으며(Table 3) 이들의 종간 평균 유전적 근연치는 $\bar{S} = 0.420$ ($\bar{D} = 0.869$)으로 한국산 담수어류의 종간 평균 유전적 근연치(Yang and Min, 1987, 1990; Park *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1991)나 타생물군의 평균 종간차이치 보다 큰것으로 나타났다(Avise, 1976). 또한 같은 뱀장어속의 유럽산 뱀장어(*A. anguilla*)와 미국산 뱀장어(*A. rostrata*)의 유연관계치($S = 0.896$) (Williams and Koehn, 1984)보다 유연관계가 매우 낮았다. 그러나 이 2종의 근연치는 형태적으로는 매우 유사하나 서식처의 분리와 유전적으로 뚜렷한 큰차이를 나타내는 피라미속의 피라미(*Z. platypus*)와 갈겨니(*Z. temmincki*)의 종간 근연치와 유사하였다(Min and Yang,

1991). 또한 먹붕장어과(Congridae)의 피붕장어와 뱀장어, 피붕장어와 무태장어의 유연관계는 각각 $\bar{S} = 0.220$ ($\bar{D} = 1.562$) 및 $S = 0.193$ ($D = 1.698$)으로 유연관계가 매우 낮은점으로 보아 이들은 오래전에 분화된 것으로 여겨진다.

뱀장어속 2종과 피붕장어의 mtDNA의 평균 크기는 16.7-17.7Kb로서 대부분의 척추동물 mtDNA의 크기범위내에 속하고 있었다(Brown, 1980; Moritz *et al.*, 1987). 또한 mtDNA분석에서는 뱀장어와 무태장어와의 평균 염기서열분화정도값이 $\bar{p} = 0.034$ 로, 형태적으로 유사하나 산란장이 분리되어 있는 미국산 뱀장어(*A. rostrata*)와 유럽산 뱀장어(*A. anguilla*)와의 유연관계($p = 0.037$) (Avise *et al.*, 1986)와 유사하여 뱀장어속내 종들간 차이를 보였으나, 이같은 차이는 타생물군의 동일속내의 종간 평균 염기분화정도의 차이보다 적은것으로 나타났다(Brown and Simpson, 1981; Lansman *et al.*, 1981; Avise and Saunder, 1984; Spolsky and Uzzell, 1984; Birmingham *et al.*, 1986; Mack *et al.*, 1986; Thomas *et al.*, 1986; Becker *et al.*, 1988; Lee *et al.*, 1989a).

뱀장어의 경우 동위효소에서 집단간에 변이가 있었으나 mtDNA에서는 변이가 전혀 발견되지 않은것은 북미나 유럽산 뱀장어의 경우, 또는 도롱뇽(*Phaenognathus hubrichti*)집단의 경우와 유사하였다(McKnight *et al.*, 1991:

Avise *et al.*, 1986). 이는 생활조건이 나쁜 환경에 처한 집단이나, 특이한 생활 pattern(anadromous, catadromous)을 갖는 어종에서 볼수 있는 현상으로 보이며, 특히 뱀장어의 경우 심해의 동일 산란장에서 부화하여 해류를 타고 각 서식지역으로 올라가 성장하게되는 pan-mictic population의 특징이라 사료되며, 핵유전자(isozyme)와 모계유전자(mtDNA)간의 유전적변이 축적의 차이를 보이는 것은, 일반적으로 모계유전물질의 진화속도(evolutionary rate)가 핵유전물질에 비하여 빠르며 변이가 큰 것으로 알려져 있으나(Avise, 1985; Brown *et al.*, 1979), mtDNA가 모계유전으로 haploid상태의 유전이며 핵유전자집단크기의 1/4만이 적용되는 효과이므로 뱀장어집단이 대량으로 부터 연안이나 담수지역으로 올라오는 동안 병목현상(bottlenecking)을 받는다면 핵유전자에 비해 모계유전자의 병목현상효과는 더 크게 작용하여 변이의 축적이 상대적으로 적을것으로 사료되며 이같은 현상이 뱀장어집단에서 나타난 것으로 사료된다. 그러나 뱀장어속 2종은 유전적으로 뚜렷히 분화되어 유전적 근연정도는 타 생물군의 유전적 근연관계보다 훨씬 낮았으며, 뱀장어속 2종의 분화정도는 동위효소의 분석결과(Nei's D, 1975) 약 400만년전인 신생대 3기 말에 분화된것으로 추산되었다.

인용문헌

- Allendorf, F.W. and F.M. Utter, 1979. Population genetics. In: Fish Physiology (W.S. Hoar, ed.). VIII. Academic Press. Inc., pp407-454.
- Avise, J.C., 1976. Genetic Differentiation During Speciation, In: Molecular Evolution (Ayala, F.J., ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 106-122.
- Avise, J.C., 1985. Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals, In: The Evolution of DNA Sequences (Clarke B. C., A. Robertson, and A. J. Jeffreys eds.). Proc. R. Soc. Lond.
- Avise, J.C. and N.C. Saunderson, 1984. Hybridization and introgression among species of sunfish (*Lepomis*): analysis by mitochondrial DNA and allozyme markers. *Genetics* **108**: 237-255.
- Avise, J.C., A. Bermingham, L.G. Kessler and N.C. Saunders, 1984. Characterization of mitochondrial DNA variability in a hybrid swarm between subspecies of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Evolution* **38**: 931-941.
- Avise, J.C., G.S. Helfman, N.C. Saunders, and L.S. Hales, 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: Population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **83**: 4350-4354.
- Becker, I.I., W.S. Grant, R. Kirby, and F.T. Robb, 1988. Evolutionary divergence between sympatric species of Southern African hakes, *Merluccius capensis* and *M. paradoxus*. II. Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Heredity* **61**: 21-30.
- Bermingham, E., T. Lamb, and J.C. Avise, 1986. Size polymorphism and heteroplasmy in the mitochondrial DNA of lower vertebrates. *Heredity* **77**: 249-252.
- Bernachetz, L. and J.J. Dodson, 1990. Allopatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial DNA restriction analysis. *Evolution* **44**: 1263-1271.
- Brown, W.M., 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **77**: 3605-3609.
- Brown, G.G. and M.V. Simpson, 1981. Intra-interspecific variation of the mitochondrial genome in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*: restriction enzyme analysis of variant mitochondrial DNA molecules and their evolutionary relationship. *Genetics* **97**: 125-143.
- Brown, W.M., M. George, Jr., and A.C. Wilson, 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **76**: 1967-1971.
- Buth, D.G., 1986. Locus nomenclature and enzyme staining procedures for teleost fishes. (personal description)
- Choi, K.C., S.R. Jeon, I.S. Kim, and Y.M. Son, 1990. Coloured illustrations of freshwater fishes of Korea. Hyang Moon-Sa, pp.22-24.
- Chyung, M.K., 1977. The Fishes of Korea. Il-Ji Sa, Seoul, pp.230-234.
- Ege, V., 1939. A revision of the genus *Anguilla* Shaw, a systematic, phylogenetic and geographical study. *Dana Rep.* **16**: 1-256.
- Hong, Y.H., M.S. Min, and S.Y. Yang, 1993. Geographic variation of the sweet smelt, *Plecoglossus altivelis* in Korea. *Bull. I. B. S. Inha Univ.*, **14**: 119-125.

- Kawanabe, H. and N. Mizuno, 1989. Freshwater Fishes of Japan. Yama-Kei Publ. Co. Tokyo, Japan. pp.47-51.
- Kim, J.B., S.Y. Yang, and H.J. Son, 1992. The taxonomic study on the freshwater goby (*Rhinogobius brunneus*, Family Gobiidae) in Korea. *Bull. I.B.S. Inha Univ.*, **13**: 49-61.
- Lansman, R.A., R.O. Shade, J.F. Shapira, and J.C. Avise, 1981. The use of restriction endonuclease to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. III. Techniques and potential applications. *J. Mol. Evol.* **17**: 214-226.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, C.S. Chang, and C.S. Park, 1989a. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temminckii*). VIII. Mitochondrial DNA analysis of subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae). *Korean J. Genetics* **11**: 175-187.
- Lee, Y.C., S.Y. Yang, G.L. Hwang, and J.H. Kim, 1989b. A study on the geographic variation of *Liza haematocheila* (Family Mugilidae) in Yellow Sea, Korea. *Yellow Sea Reserch.* **3**: 31-37.
- Mack, A.L., F.B. Gill, R. Colburn, and C. Spolsky, 1986. Mitochondrial DNA: A source of genetic markers for studies of similar passerine bird species. *Auk* **103**: 676-682.
- McKnight, M.L., C.K. Dodd, Jr., and C.M. Spolsky, 1991. Protein and mitochondrial DNA variation in the salamander *Phaeognathus hubrichti*. *Herpetologica*. **47**: 440-447.
- Min, M.S., 1991. Systematic study on the genus *Zacco* (Pisces, Cyprinidae). Ph.D. Thesis Inha Univ.
- Min, M.S. and S.Y. Yang, 1986. Classification, distribution and geographic variation of two species of the genus *Moroco* in Korea. *Korean J. Syst. Zool.* **2**: 63-78.
- Min, M.S. and S.Y. Yang, 1991. Systematic study on the genus *Zacco* (Pisces, Cyprinidae). I. Genic variation. *Korean J. Zool.* **34**: 556-569.
- Moritz, D., T.E. Dowling, and W.M. Brown, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 269-282.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natural.* **106**: 283-292.
- Nei, M., 1975. *Molecular Population Genetics and Evolution*. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Nelson, J.S., 1984. *Fishes of the World*. A Wiley-Interscience Publ. New York.
- Park, B.S., J.H. Kim, J.B. Kim, and S.Y. Yang, 1991. Systematic studies of the genus *Cobitis* (Pisces: Cobitidae) in Korea II. Geographic variations of *Cobitis longicorpus*. *Korean J. Zool.* **34**: 585-593.
- Rogers, J.S., 1972. Measure of genetic similarity and genetic distance. *Studies in Genetics VII*. Univ. Texas Publ. **7213**: 145-153.
- Selander, R.K., 1976. Genic variation in natural populations. *In: Molecular Evolution* (Ayala, F.J. ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 21-45.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal, 1973. *Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman Co., San Francisco.
- Spolsky, C. and T. Uzzell, 1984. Natural interspecies transfer of mitochondrial DNA in amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **81**: 5802-5805.
- Suh, J.H. and S.Y. Yang, 1989. Studies on the geographic variation and speciation of *Moroco sp.* *Bull. I. B. S. Inha Univ.*, **10**: 183-192.
- Swofford, D.L. and R.B. Selander, 1981. BIOSYS-1; A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.* **72**: 282-283.
- Tesch, F.W., 1977. *The eel*. Chapman and Hull, London.
- Thomas, W.K., R.E. Withler, and A.T. Beckenbach, 1986. Mitochondrial DNA analysis of Pacific salmonid evolution. *Can. J. Zool.* **64**: 1058-1064.
- Upholt, W.B., 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digests. *Nucl. Acids Res.* **4**: 1257-1265.
- Williams, G.C. and R.K. Koehn, 1984. Population Genetics of North Atlantic Catadromous Eels (*Anguilla*) *In: Evolutionary Genetics of Fishes* (Turner, B.J. ed.). Plenum press, New York, pp.529-560.
- Yang, S.Y. and M.S. Min, 1987. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temminckii*) IV. Genetic variation, morphology and artificial hybridization. *Korean J. Zool.* **30**: 417-431.
- Yang, S.Y. and M.S. Min, 1990. Genetic variation and systematics of the sticklebacks (Pisces, Gasterosteidae) in Korea. *Korean J. Zool.* **33**: 499-508.
- Yang, S.Y., H.Y. Lee, H.J. Yang, and J.H. Kim, 1991. Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) I. Geographic variation of *Nemacheilus toni*, *Lefua costata* and *Niwaella multifasciata*. *Korean J. Zool.* **34**: 110-122.

(Accepted September 7, 1993)

**Isozyme and MtDNA Analyses of 2 Species of the Genus *Anguilla*
(Pisces, Anguillidae)**

Mi Sook Min and Suh Yung Yang (Dept. of Biology, Inha University Incheon 402-751, Korea)

Isozyme and mtDNA analyses were performed to investigate the genetic relationships and characteristics of 2 species of the genus *Anguilla* and one species of the genus *Anago* inhabiting in Korea and Japan. 39 presumptive loci from 20 isozymes and general proteins were screened and analysed and found out genetic markers of each species. The average degree of genetic variation of *A. japonica* and *A. marmorata*, and *Anago anago* were $\overline{H_D} = 0.057$ ($\overline{H_G} = 0.065$), $H_D = 0.067$ ($H_G = 0.053$), and $H_D = 0.018$ ($H_G = 0.020$), respectively. The average genetic similarity of *A. japonica* and *A. marmorata* was $\overline{S} = 0.420$ ($\overline{D} = 0.869$), and this value suggests that they might have differentiated during the late Pliocene epoch (about four million years ago). Digestion of mtDNA with each of 10 restriction enzymes resulted in fragment patterns that did not vary in each species, however, restriction fragments are distinct from species to species. The average nucleotide sequence divergence (p value) between *A. japonica* and *A. marmorata* and between 2 species of the genus *Anguilla* and *Anago anago* were $\overline{p} = 3.4\%$ and $\overline{p} = 9.6\%$, respectively.