

## 기름종개과(Family Cobitidae) 어류의 계통분류에 관한 연구. 4. 미꾸리속 어류 2종의 핵형 및 mtDNA 분석

이혜영 · 양서영 · 박창신 · 정은경 · 김재흡

인하대학교 이과대학 생물학과

미꾸리속 어류 2종의 유전적 차이를 알아보기 위하여 염색체 분석과 미토콘드리아 DNA(mtDNA) 분석을 실시하였다. 일반염색에 의한 핵형 분석 결과 미꾸리(2N=50)와 미꾸라지(2N=48)는 염색체수에 차이가 있었으며, N-banding 분석 결과 두 종간에는 인형성 부위의 위치와 크기에 차이가 있었다. C-banding 결과 미꾸라지는 1번 염색체쌍 동원체부위에 넓게 C-band를 갖고 있었다. 미꾸리속 어류 2종의 mtDNA를 7개의 6-base cutting 제한효소로 처리하여 절편 양상을 비교, 분석한 결과 2종 공히 mtDNA의 genome 크기는 약 16.0Kb였으며 fragment homology(F)에서 미꾸리의 종내 집단간의 F값은 0.674, 미꾸라지는 0.862로 유사하게 나타났으나, 종간 F값은 0.207(0.074-0.417)로 낮았다. 염기치환율은 미꾸리가  $p=0.021$ , 미꾸라지는  $p=0.002$ 로 미꾸라지가 미꾸리에 비해 매우 낮은 염기치환율을 보였고, 종간 평균 염기치환율은  $p=0.104$ 로 차이를 나타냈다. MtDNA 분석과 핵형 분석 결과 미꾸라지는 Robertsonian translocation의 결과 미꾸리로 부터 분화된 것으로 추정 되었다.

**KEY WORDS:** Cobitidae, *Misgurnus anguillicaudatus*, *M. mizolepis*, Karyotype, mtDNA RFLP, Speciation.

세포유전학적 측면에서의 염색체 수와 핵형, banding 방법에 의한 구조적 특징, 그리고 분자수준에서의 DNA 분석 등은 종 및 집단의 유전적 특징을 반영하기 때문에 근연종의 계통 및 진화 단계 분석에 매우 유용하다. 척추동물의 mtDNA 크기는 대부분 15.7-23.0Kb (Brown, 1983; Lansman *et al.*, 1983; Kessler and Avise, 1985)이며 모계 유전물질로 비암호 서열 부위가 존재하지 않아 재조합 현상이 일어나지 않는 특징을 갖고 있어 유전적 표식인자로서의 중요성이 인식되어, 최근에는 염색체 및 mtDNA 분석방법을 이용한 계통진화 연구가 어류(Raicu and Taisescu, 1972; Hartley and Horne, 1982; Lee *et al.*, 1984; Gyllensten *et al.*, 1985; Lee *et*

*al.*, 1988), 양서류(Green, 1983; Spolsky and Uzzel, 1984; Carr *et al.*, 1987), 파충류(Bogart, 1980) 등의 다양한 분류군을 대상으로 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 한국산 미꾸리속의 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus* Cantor)와 미꾸라지(*M. mizolepis* Gunther)를 대상으로 염색체 분석 및 mtDNA 분석을 실시하여 종내 및 종간 유전적 차이 및 세포유전학적 특징을 알아보고자 하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에 필요한 실험재료는 Jeon(1983)의 분류기준에 따라 분류하였으며 투망(망목 5×5mm), 족대(망목 3×3mm) 및 전기충격기

이 연구는 1991년도 교육부 기초과학육성연구비의 지원에 의해 수행된 것임(과제번호 BSRI 91-128).

(300V)를 이용하여 채집하거나 구입하여 핵형 및 mtDNA 분석에 사용하였다(Table 1).

### 1. 핵형분석

채집된 개체들은 생체로 실험실로 운반하여 Ueno와 Ojima(1977)의 방법에 따라 개체당 0.3% colchicine 용액을 복강 주사한 후 신장(kidney), 아가미(gill) 및 척추에서 골수세포를 적출하여 염색체 표본을 제작하고, Giemsa 일반염색, C-banding(Sumner, 1972) 및 N-banding(Howell and Black, 1980) 등을 실시한 후, 광학현미경(Olympus CHB-213)을 사용하여 중기 분열상을 찾아 Leitz Orthoplan으로 확대(1,000×) 촬영하여 분석하였다.

### 2. Mitochondrial DNA 분석

MtDNA의 추출은 간, 심장, 그리고 신장 만

을 적출한 후 Bernatchez 와 Dodson(1990)의 방법으로 mtDNA를 추출 및 분석 하였다. 미꾸리와 미꾸라지의 중간 비교에는 집단내의 여러 개체를 한 group으로 섞어서 사용하였다. 본 실험에 사용된 제한효소는 6개의 염기만을 인식, 절단하는 *Pst* I, *Bcl* I, *Bgl* I, *Hind* III, *Bam* HI, *Sma* I, *Xba* I 등 7가지 제한효소를 사용 하였으며, 각 효소활성도의 적정온도에서 mtDNA를 24시간 분해시킨 다음 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 gel은 ethidium bromide로 염색, 자외선투광기하에서 사진촬영(ASA 12, microfilm)하여 절편의 이동도에 따른 각 집단 및 종간의 공통절편수(F 값)와 염기치환률(P값)로서 분화정도(Upholt, 1977)를 구하여 집단간의 근연치 및 분화양상을 분석하였다.

## 결과

### 1. 일반염색

일반염색에 의한 핵형 분석 결과 미꾸리의 염색체수는  $2n=50$ , 미꾸라지는  $2n=48$ 로 뚜렷한 종간숫적 차이를 나타내었으나 완수(AN=arm number)는 AN=64로 동일하였다(Table 2). 이는 염색체 구성상 bi-arm과 mono-arm 염색체의 숫적 차이에 의하여 핵형분석(Fig. 1)결과 미꾸라지 제1번 염색체는 중부염색체(metacentric chromosome)로 가장 큰 염색체인데 반하여 미꾸리의 1번 염색체는 차중부염색체(submetacentric chromosome)로 차이가 있었다. 또한 미꾸리는 7쌍의 중부염색체로 구성되어 있으나 미꾸라지는 8쌍의 중부염색체를 갖고 있으며 미꾸리는 제3번, 미꾸라지는 제4번 염색체 단완의 말단부위에 1쌍의 2차 수축환이 관

**Table 1.** Collection localities, dates and number of specimens of *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*.

Locality	Collection date	No. of Specimens
<i>M. anguillicaudatus</i>		
1. Hadong	Apr. 10, 1991	20
2. Haenam	Apr. 21, 1991	16
3. Sanchong	Oct. 27, 1991	15
4. Yungduk	Apr. 24, 1991	20
5. Wando	Apr. 21, 1991	9
6. Kapyong	Sep. 8, 1991	13
7. Yungchon	Jul. 30, 1992	12
<i>M. mizolepis</i>		
8. Kangkyeong	Nov. 10, 1991	20
9. Hadong	Apr. 20, 1991	8
10. Soonchon	Jun. 23, 1992	20
11. Maekdori	Jun. 25, 1992	16
12. Puyo	Apr. 21, 1992	13

**Table 2.** Summary of karyotype analysis of the genus *Misgurnus*.

Species	2N	AN	Number of Ag-NORs	Position of Ag-NORs
<i>M. anguillicaudatus</i>	50	64	2	3p (terminal)
<i>M. mizolepis</i>	48	64	2	4p (terminal)

찰되었다(Fig. 1).

2. C-banding 염색

C-banding 결과는 구조적 이질염색질(constitutive heterochromatin=C-band)의

분포가 주로 동원체 부위에 한정되어 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 특히 두 종의 mono-arm 염색체의 C-band 분포는 동원체 부위에서만 관찰되고 bi-arm 염색체에서는 두종 공히 인형성부위의 말단부위에 진한 C-band가 분포되

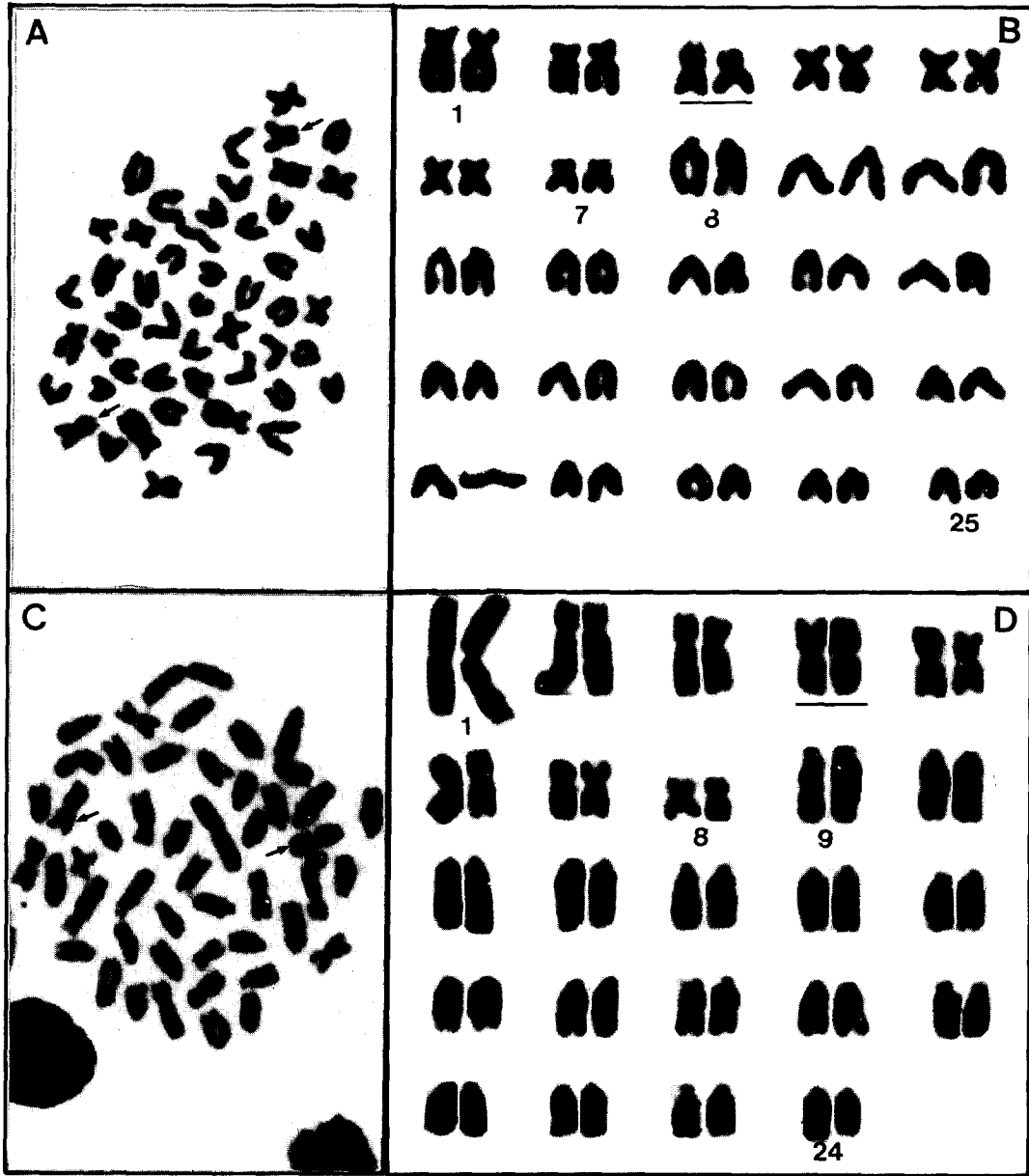
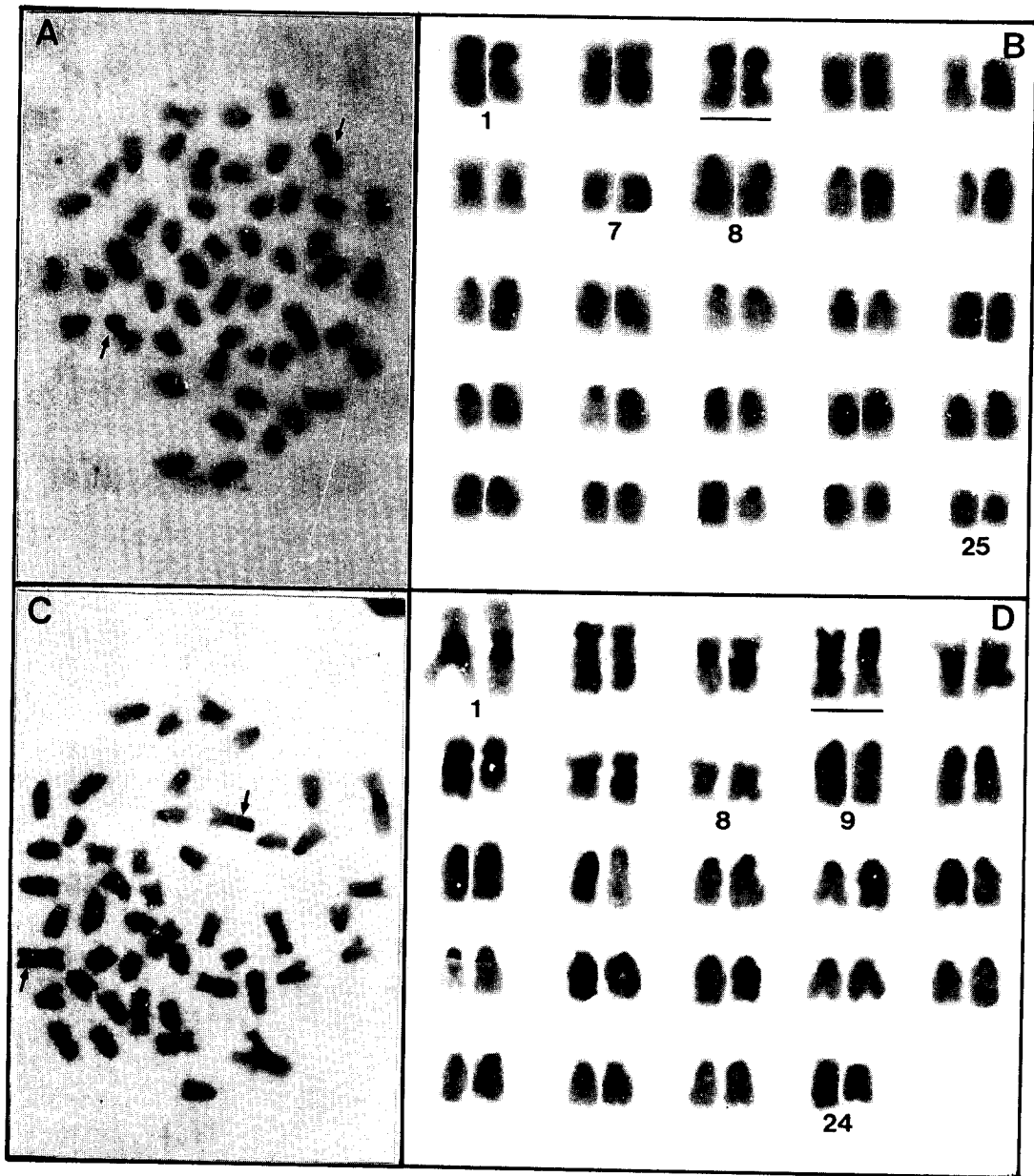


Fig. 1. Conventional stained chromosomes of *Misgurnus anguilicaudatus* (A, B) and *M. mizolepis* (C, D). Arrows and underlines indicate nucleolus organizer regions (NORs).

어 있고 미꾸라지의 염색체 중 가장 큰 염색체인 제1번 염색체는 동원체 부위를 포함하여 상하로 넓게 C-band가 분포하고 있는데 이것은 미꾸라의 2쌍의 mono-arm 염색체의 동원체 부위에서 Robertsonian translocation이 일어나 미꾸라

지의 가장 큰 제1번 bi-arm 염색체가 형성된 것으로 사료된다. 따라서 미꾸라의 제1번 염색체는 미꾸라지의 제2번 염색체에 대응되며 미꾸라 제1번 염색체쌍의 단완 부위에는 짙은 C-band를 관찰할 수 있으나 미꾸라지의 제2번 염색체의



**Fig. 2.** C-banded-chromosomes of *Misgurnus anguilicaudatus* (A, B) and *M. mizolepis* (C, D). Arrows and underlines indicate nucleolus organizer regions (NORs).

단완에는 C-band가 없고 동원체 부위에만 약간의 구조적 이질염색질이 존재한다.

3. N-banding 염색

인형성부위(Nucleolus Organizer Regions:

NORs)를 선택적으로 염색하기 위하여 N-banding 한 결과 각각 1쌍의 염색체에서만 NORs를 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 즉 미꾸리에서는 제3번, 미꾸라지에서는 제4번 염색체의 단완 끝부위에 NORs가 각각 1쌍이 존재하였으

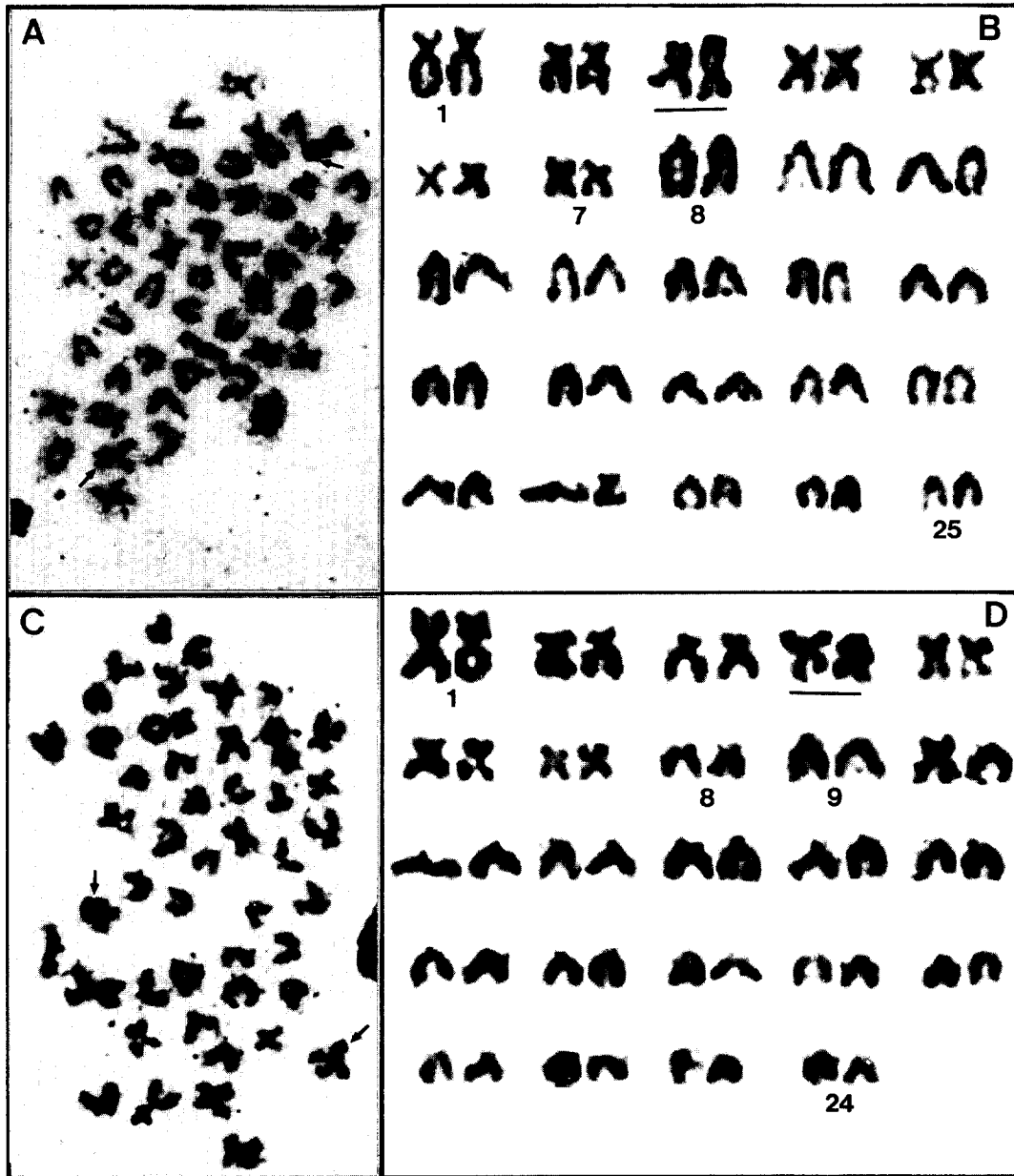
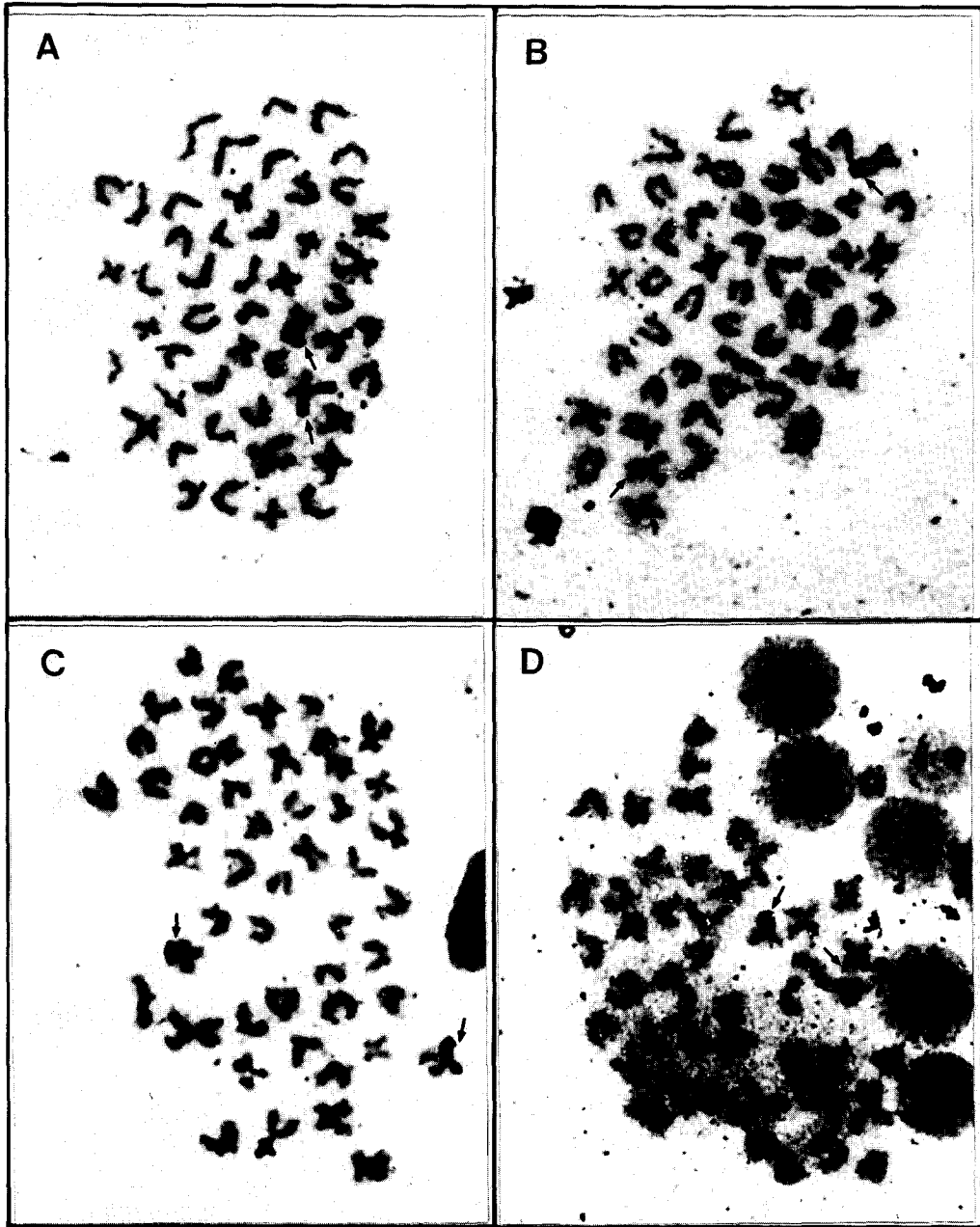


Fig. 3. N-banded-chromosomes of *Misgurnus angulicaudatus* (A, B) and *M. mizolepis* (C, D). Arrows and underlines indicate nucleolus organizer regions (NORs).

며 그 크기는 동형 또는 이형으로 나타났다 (Fig. 4). N-banding 결과 종내에서는 전혀 없었으나 두종 사이에는 차이가 있었다.

#### 4. Mitochondria DNA 분석

미꾸리 7개 집단과 미꾸라지 5개 집단 (Table 1)의 미토콘드리아 DNA(mtDNA)를 분석한



**Fig. 4.** N-banded-metaphase plates of *Misgurnus anguilicaudatus* (A, B) and *M. mizolepis* (C, D). NORs (Arrows) distributed in one pair of chromosome in two species were homomorphic (A, C) or heteromorphic (B, D) in their sizes.

결과 미꾸라지와 미꾸리의 mtDNA 크기는 약 16.0Kb로 황어과의 *Zacco*속 어류와 개복치 종류인 *Lepomis*속 어류에서 보고된 mtDNA의 크기와 비슷한 크기를 나타냈다(Avise et al., 1984; Lee et al., 1988, 1989). 두 종의 mtDNA 크기는 차이가 없었으나 7개의 제한효소를 처리하여 얻어진 절편 양상에서는 뚜렷한 차이를 보였다. 7종류의 제한효소를 처리한 결과 (Table 3) 미꾸리의 총 절편수는 대개 12개로 나타났으나 *Bcl* I, *Bgl* I 그리고 *Pst* I로 처리하여 얻어진 절편수에서 가평과 영천집단이 다른 5개 집단과 차이를 보여 각각 11개와 14개의 절편으로 나타났다. 또한 미꾸라지 5개 집단의 총 절편수는 13개로 대상 집단 모두 동일하게 나타났다. 미꾸리와 미꾸라지의 집단간 공통절편수를 비교한 결과 미꾸리의 경우는 6개에서 12개로 다양하게 나타나는 반면 (Table 4), 미꾸라지는 12개와 13개의 공통절편수를 나타내 집단간 공통절편의 비교에서 거의 유사한 절편 양상을 보였다 (Table 5). 미꾸리 집단 중 하동과 산청집단, 가평과 영천 그리고 영덕과 영천집단이 12개의 공통절편으로 가장 유사한 절편 양상을 보였으며 하동과 영덕, 산청과 영덕집단의 공통절편수는 6개로 가장 적었다 (Table 4). 미꾸리, 미꾸라지의 중간 공통절편수를 비교한 결과 미꾸라지와 미꾸리의 중간 절편 비교에서 두종의 공통

절편수는 1개 내지 2개로 적은 수였으며 미꾸리의 영덕과 가평집단은 미꾸라지 전 집단과 비교하였을 때 4개와 5개의 동일한 절편을 보여 두 종간의 집단간 비교 중 가장 많은 공통 절편을 가지고 있었다 (Table 6).

이들 공통절편수를 토대로 Upholt (1977)의 공식에 의해 공통절편의 비율 (F 값)과 염기치환율 ( $p$  값)을 측정하였다. 미꾸리 종내 집단간의 F 값과  $p$  값을 구한 결과 하동과 산청의 F 값은 1.000 ( $p=0.000$ )으로 유전적으로 동일한 값을 나타냈으며 가평과 영천집단도  $F=0.960$  ( $p=0.002$ )로 가까운 값을 나타냈다 (Table 7). 미꾸리 7개 집단의 평균 염기치환율은  $p=0.021$ 로 나타났다.

한편 미꾸라지의 경우 강경과 하동, 순천과 맥도리 그리고 하동과 부여집단은  $F=1.000$  ( $p=0.000$ )로 차이가 없었으며 그 밖의 집단과는  $F=0.923$  ( $p=0.004$ )의 값을 나타냈다. 미꾸라지의 종내 평균 염기치환율은  $p=0.002$ 로 낮은 염기치환율을 보였다. 미꾸리, 미꾸라지의 중간 염기치환율 중 미꾸리의 가평집단과 미꾸라지 5개 집단의 값은  $p=0.051$ 로 가장 낮은 염기치환율을 보였으며 미꾸리 영덕집단과의 비교에서도  $p=0.068$ 로 비교적 가까운 값을 나타냈다. 다른 미꾸리 집단과 미꾸라지 집단은 상기의 염기치환율 보다는 다소 높은 값을 나타냈으며 영

**Table 3.** Total fragment numbers of mtDNA of *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*.

Species	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Pst</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xho</i> I	Total
<i>M. anguillicaudatus</i>								
1. Hadong	0	1	3	2	3	1	2	12
2. Haenam	0	1	3	2	3	1	2	12
3. Sanchong	0	1	3	2	3	1	2	12
4. Yungduk	0	2	3	2	2	1	2	12
5. Wando	0	2	3	2	2	1	2	12
6. Kapyong	0	1	3	2	2	1	2	11
7. Yungchon	1	2	4	2	2	1	2	14
<i>M. mizolepis</i>								
8. Kangkyeong	2	1	3	3	3	1	0	13
9. Hadong	2	1	3	3	3	1	0	13
10. Soonchon	2	1	3	3	3	1	0	13
11. Maekdori	2	1	3	3	3	1	0	13
12. Puyo	2	1	3	3	3	1	0	13

**Table 4.** The number of shared mtDNA fragments among the populations of *Misgurnus anguillicaudatus*.

Population	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Pst</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xho</i> I	Total
HD/HN	0	1	2	2	1	1	2	9
HD/SC	0	1	3	2	3	1	2	12
HD/YD	0	1	1	2	1	1	0	6
HD/WD	0	1	1	2	1	1	2	8
HD/KP	0	0	1	2	1	1	2	7
HD/YC	0	1	1	2	1	1	2	8
HN/SC	0	1	2	2	1	1	2	9
HN/YD	0	1	2	2	2	1	0	8
HN/WD	0	1	2	2	2	1	2	10
HN/KP	0	0	2	2	2	1	2	9
HN/YC	0	1	2	2	2	1	2	10
SC/YD	0	1	1	2	1	1	0	6
SC/WD	0	1	1	2	1	1	2	8
SC/KP	0	0	1	2	1	1	2	7
SC/YC	0	1	1	2	1	1	2	8
YD/WD	0	1	1	2	2	1	0	7
YD/KP	0	0	3	2	2	1	0	8
YD/YC	0	2	3	2	2	1	2	12
WD/KP	0	0	1	2	2	1	2	8
WD/YC	0	1	1	2	2	1	2	9
KP/YC	0	2	3	2	2	1	2	12

Abbreviations; HD: Hadong, HN: Haenam, SC: Sanchong, YD: Yungduk, WD: Wando, KP: Kapyong, YC: Yungchon

**Table 5.** The number of shared mtDNA fragments among the populations of *Misgurnus mizolepis*.

Population	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Pst</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xho</i> I	Total
KK/HD	2	1	3	3	3	1	0	13
KK/SC	2	1	2	3	3	1	0	12
KK/MD	2	1	2	3	3	1	0	12
KK/PY	2	1	3	3	3	1	0	13
HD/SC	2	1	2	3	3	1	0	12
HD/MD	2	1	2	3	3	1	0	12
HD/BY	2	1	3	3	3	1	0	13
SC/MD	2	1	3	3	3	1	0	13
SC/PY	2	1	2	3	3	1	0	12
MD/PY	2	1	2	3	3	1	0	12

Abbreviations; KK: Kangkyeong, HD: Hadong, SC: Soonchon, MD: Maekdori, PY: Puyo.

천집단과의 비교에서 가장 높은 값인  $p=0.161$  을 보였다. 미꾸리, 미꾸라지 두 종의 중간 평균 염기치환율은  $p=0.104$ 로 측정되었으며 평균 염기치환율을 토대로 하여 염기분화연대를 측정하여 dendrogram을 작성한 결과 미꾸리와 미꾸라지는 중간 10.4%의 뚜렷한 차이를 보이며

cluster 되었다(Fig. 5).

## 고찰

한국산 미꾸리속 어류 2종은 전국의 제하천에



**Table 6.** The number of shared mtDNA fragments between *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*.

Population	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Pst</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xho</i> I	Total
HD/KK	0	1	0	0	0	1	0	2
HD/HD	0	1	0	0	0	1	0	2
HD/SC	0	1	0	0	0	1	0	2
HD/MD	0	1	0	0	0	1	0	2
HD/PY	0	1	0	0	0	1	0	2
HN/KK	0	1	0	0	0	1	0	2
HN/HD	0	1	0	0	0	1	0	2
HN/SC	0	1	0	0	0	1	0	2
HN/MD	0	1	0	0	0	1	0	2
HN/PY	0	1	0	0	0	1	0	2
SC/KK	0	1	0	0	0	1	0	2
SC/HD	0	1	0	0	0	1	0	2
SC/SC	0	1	0	0	0	1	0	2
SC/MD	0	1	0	0	0	1	0	2
SC/PY	0	1	0	0	0	1	0	2
YD/KK	0	0	3	0	0	1	0	4
YD/HD	0	0	3	0	0	1	0	4
YD/SC	0	0	3	0	0	1	0	4
YD/MD	0	0	3	0	0	1	0	4
YD/PY	0	0	3	0	0	1	0	4
WD/KK	0	1	0	0	0	1	0	2
WD/HD	0	1	0	0	0	1	0	2
WD/SC	0	1	0	0	0	1	0	2
WD/MD	0	1	0	0	0	1	0	2
WD/PY	0	1	0	0	0	1	0	2
KP/KK	0	1	3	0	0	1	0	5
KP/HD	0	1	3	0	0	1	0	5
KP/SC	0	1	3	0	0	1	0	5
KP/MD	0	1	3	0	0	1	0	5
KP/PY	0	1	3	0	0	1	0	5
YC/KK	0	0	0	0	0	1	0	1
YC/HD	0	0	0	0	0	1	0	1
YC/SC	0	0	0	0	0	1	0	1
YC/MD	0	0	0	0	0	1	0	1
YC/PY	0	0	0	0	0	1	0	1

서 쉽게 볼 수 있는 어종으로 과거부터 식용으로 널리 이용되어 왔다. 이들은 분포가 매우 넓고 일부 형태형질에 의하여는 뚜렷한 분류학적 차이가 있으나 다양한 형태변이를 나타내므로 종 분류에 혼란이 있다(Yang et al., 1994).

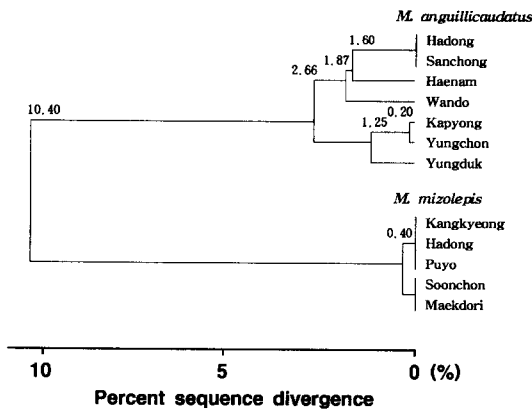
미꾸리 및 미꾸라지의 염색체수에는 차이가 있으나 염색체 완수가 동일하므로 Robertsonian translocation에 의한 핵형 진화로 설명하고 있다. 이와 같은 현상은 염색체의 동원체 융합(centric fusion) 또는 분리(fission)에 의해

형성되며 타 어류에서도 보고된 바 있다(Thorgaard, 1976). Robertsonian type은 서로 다른 염색체쌍에서 일어나는 것이 일반적인 현상이나 상동염색체상에서도 발생할 가능성을 배제할 수는 없다. 본 연구결과 미꾸라지 1번 염색체의 경우는 동원체를 중심으로 양쪽 염색체 완을 형성하고 있는 두 염색체간의 동원체 융합 결과 이루어진 것으로 사료된다(Fig. 6). 또한 C-band 분석에서 미꾸라지 1번 염색체의 C-band가 동원체 부위를 중심으로 넓게 분포하는

**Table 7.** Estimates of mtDNA sequence divergence within and between *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*. Collection localities are represented as abbreviations listed in Table 4 and 5.

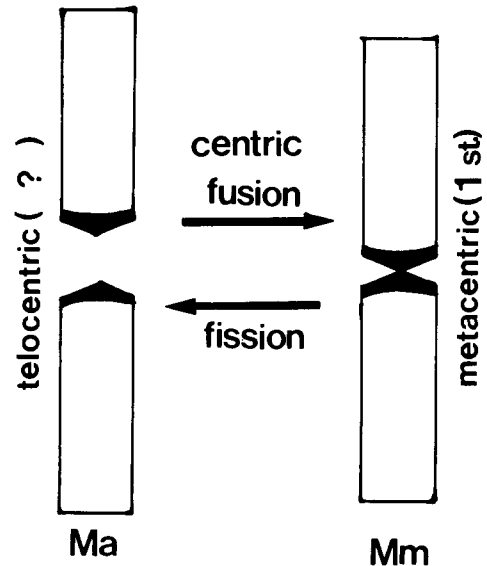
	HD	HN	SC	YD	WD	KP	YC	KK	HD	SC	MD	PY
HD		0.075	1.000	0.500	0.667	0.609	0.615	0.160	0.160	0.160	0.160	0.160
HN	0.016		0.750	0.667	0.833	0.783	0.769	0.160	0.160	0.160	0.160	0.160
SC	0.000	0.016		0.500	0.667	0.609	0.615	0.160	0.160	0.160	0.160	0.160
YD	0.040	0.023	0.040		0.583	0.696	0.923	0.320	0.320	0.320	0.320	0.320
WD	0.023	0.010	0.023	0.031		0.696	0.629	0.160	0.160	0.160	0.160	0.160
KP	0.029	0.014	0.029	0.021	0.021		0.960	0.417	0.417	0.417	0.417	0.417
YC	0.028	0.015	0.028	0.004	0.021	0.002		0.074	0.074	0.074	0.074	0.074
KK	0.112	0.112	0.112	0.068	0.112	0.051	0.161		1.000	0.923	0.000	0.923
HD	0.112	0.112	0.112	0.068	0.112	0.051	0.161	0.000		0.923	0.923	1.000
SC	0.112	0.112	0.112	0.068	0.112	0.051	0.161	0.004	0.004		1.000	0.923
MD	0.112	0.112	0.112	0.068	0.112	0.051	0.161	0.004	0.004	0.000		0.923
PY	0.112	0.112	0.112	0.068	0.112	0.051	0.161	0.000	0.000	0.004	0.004	

Data above the diagonal are total proportions of shared restriction fragments (F), those below the diagonal are nucleotide sequence divergence (p).



**Fig. 5.** Phenogram constructed by UPGMA method of nucleotide sequence divergence (p) estimates in *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*.

점도 동원체 분리 보다는 융합 현상의 가능성을 강하게 시사하여 준다. 따라서 미꾸라지는 동원체 융합에 의해 염색체 수가 감소하는 방향으로 핵형 진화가 일어났고 진정염색질의 이질염색질화(heterochromatinization)에 의해 미꾸라지의 제1번 염색체쌍과 같은 넓은 C-band가 형성된 것으로 사료된다. Fig. 6은 두 종간에서 발생한 Robertsonian type의 핵형 변화의 기작을 도해한 것이며 이 기작중 미꾸리의 핵형에서 유사한 크기의 mono-arm 염색체쌍이 많고 C-



**Fig. 6.** Diagram of Robertsonian-type rearrangement derived from C-banded-chromosomes between *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*. Ma: *M. anguillicaudatus*, Mm: *M. mizolepis*.

band의 양상도 동원체 부위에만 분포하므로 융합에 관여한 2쌍의 mono-arm 염색체가 몇 번째 염색체쌍에서 일어났는지는 구별할 수 없었다.

하동의 경우에는 미꾸리 및 미꾸라지가 공서하

고 있으나 잡종 type은 발견되지 않았다. MtDNA의 분석에서 얻어진 미꾸리의 평균 염기치환율은  $p=0.021$ 로 어류의 일종인 *Clupea harengus*의 mtDNA 연구에서 측정된 염기치환율( $p=0.029$ )과 다소 비슷하게 나타났으며 (Kornfield and Bogdanowicz, 1987) 무척추동물 중 투구게(*Limulus polyphemus*)에서도  $p=0.020$ 으로 유사한 종내 변이값을 보였다 (Saunders et al., 1986). 그러나 미꾸라지의 경우에는 종내 평균 염기치환율이  $p=0.002$ 로 미꾸리에 비해 매우 낮은 치환율을 보였다. 이는 회유성 어류인 뱀장어 *Anguilla*속 내의 종들에서도 1% 이내의 평균 염기치환율이 보고된 바 있으나(Avise et al., 1986) 일반적인 타 분류군에 비해 비교적 낮은 염기치환율이다. MtDNA의 분석 중 *Pst* I, *Hind* III, 및 *Xho* I 등의 절편 수에서 차이를 보여 미꾸리속 2종을 구별할 수 있는 genetic marker로 생각된다. Spolsky와 Uzzel(1984)은 *Rana*속 2종의 mtDNA 분석에서 *Rana ridibunda*를 genetic marker band에 의하여 mtDNA 2 type을 뚜렷하게 구별하였으며 이들 2 type 중 하나가 *R. lessonae*와 유사함을 근거로 종간 잡종문제를 설명하고 있다. 많은 mtDNA 연구 결과 유사한 분류군 간의 mtDNA sequence 차이는 large fragment의 inversion, transposition, deletion 또는 addition 등의 돌연변이 보다는 각 염기치환의 결과인 유전자 돌연변이(point mutation)가 우세하게 작용했음을 지적하였다(Avise et al., 1979; Lansman et al., 1981; Carr et al., 1987; Lee et al., 1988). 미꾸리와 미꾸라지는 제한 효소처리 결과 절편수에서 차이가 있었으며 이는 유전자 돌연변이 중 일부가 독립적으로 발생한 결과일 것으로 사료된다. 본 연구에 사용된 제한 효소는 모두 6-base cutting 효소들로서 그 절편수가 11-14(미꾸리) 및 13(미꾸라지)으로서 다소 적게 나타났다. Sunfish의 일종인 *Lepomis macrochirus*(Avise et al., 1984)의 절편수는 37개(12개 제한효소 사용). 경골어류의 일종인 *Fundulus heteroclitus*는 55개

(18개 효소 처리)(Gonzalez-Villasenor et al., 1986)로 제한효소당 평균 절편수에 있어 미꾸리 및 미꾸라지는 매우 적은 것으로 나타나 주목된다.

핵형 및 mtDNA 분석결과 미꾸리와 미꾸라지는 형태적 차이뿐 아니라 유전적인 차이도 뚜렷하게 나타났으며, 미꾸라지는 Robertsonian translocation의 결과 미꾸리로 부터 종분화가 일어났을 것으로 추정된다. 또한 미꾸리와 미꾸라지는 분포상 차이가 있고, mtDNA 분석결과 미꾸라지가 미꾸리에 비하여 염기치환율이 매우 낮은 점, C-banding 결과 미꾸라지의 1번 염색체가 동원체를 중심으로 C-band가 넓게 분포되어 있는 점 등을 고려할 때 상기와 같은 염색체 감소의 진화방향으로 추정할 수 있다. 한편 이들 미꾸리속 두 종간의 염색체 구성상의 특징 및 제한효소별 mtDNA 절편수의 차이 등은 차후 동남아시아를 비롯한 미꾸리속 및 유연종 전체의 계통 연구가 수행될 때 한국산 미꾸리속 어류에 대한 종 인식 형질로서 유효하게 사용될 것이며 최근 관심이 고조되는 생물다양성 측면에서 중요한 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 인용문헌

- Avise, J.C., E. 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.
- Avise, J.C., R.A. Lansman and R.O. Shade, 1979. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. I. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. *Genetics* **92**: 279-295.
- Bernatchez, 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.

- Bogart, J.P., 1980. Polyploidy in evolution of amphibians and reptiles, In: Polyploidy: Biological Relevance (H.L., Lewis, eds.). Plenum Press, New York, pp. 341-369.
- Brown, W.M., 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Evolution of Genes and Proteins (M. Nei and R.K. Kohen, eds.). Sinauer, Sunderland, Massachusetts, pp. 62-88.
- Carr, S.M., J.A. Brothers and A.C. Wilson, 1987. Evolutionary inferences from restriction maps of mitochondrial DNA from nine taxa of *Xenopus* frogs. *Evolution* **41**: 176-188.
- Gonzalez-Villasenor, L.I., A.M. Burkhoff, V. Corees and D.A. Powers, 1986. Characterization of cloned mitochondrial DNA from the teleost *Fundulus heteroclitus* and its usefulness as an interspecies hybridization probe. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**: 1866-1872.
- Green, D.M., 1983. Evidence for chromosome number reduction and chromosomal homosequentiality in the 24 chromosome of Korean frog *Rana dybowskii* and related species. *Chromosoma* **88**: 222-226.
- Gyllensten, U., R.F. Leary, F.W. Allendorf and A.C. Wilson, 1985. Introgression between two cutthroat subspecies with substantial karyotypic, nuclear and mitochondrial genomic divergence. *Genetics* **111**: 905-915.
- Hartley, S.E. and M.T. Horne, 1982. Chromosome polymorphism in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Chromosoma* **87**: 461-468.
- 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**: 1014-1015.
- Jeon, S.R., 1983. Studies on the distribution and key of Cobitidae fishes (Cypriniformes) from Korea. *Bull. Sangmyung Women's Univ.* **11**: 289-321.
- Kessler, L.G. and J.C. Avise, 1985. A comparative description of mitochondrial DNA differentiation in selected avian and other vertebrate genera. *Mol. Biol. Evol.* **2**: 109-125.
- Kornfield, I. and S.M. Bogdanowicz, 1987. Differentiation of mtDNA in Atlantic herring, *Clupea harengus*. *Fish. Bull.* **85**: 561-568.
- 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. Techniques and potential applications. *J. Mol. Evol.* **17**: 214-226.
- Lansman, R.A., J.C. Avise, C.F. Aquadro, J.F. Shapira and S.W. Daniel, 1983. Extensive genetic variation in mitochondrial DNAs among populations of the deer mouse, *Peromyscus maniculatus*. *Evolution* **37**: 1-16.
- Lee, H.Y., H.S. Lee, J.W. Cho and Y.O. Lee, 1984. The karyotype analysis on 21 species of fresh water fish in Korea (II). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **5**: 125-140.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, S.G. Paik, C.S. Park, S.L. Yu and S.K. Lee, 1988. A study on the speciation of a fresh water fish *Zacco temminckii*. VII. Variation of mitochondrial DNA between 2 types of *Z. temminckii*. *Kor. J. Zool.* **31**: 263-242.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, C.S. Chang and C.S. Park, 1989. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temminckii*). VIII. Mitochondrial DNA analysis of the subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae). *Korean J. Genet.* **11**: 175-187.
- Raicu, P. and E. Taisescu, 1972. *Misgurnus fossilis*, a tetraploid fish species. *J. Heredity* **63**: 92-94.
- Saunders, N.C., L.G. Kessler and J.C. Avise, 1986. Genetic variation and geographic differentiation in mitochondrial DNA of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Genetics* **112**: 613-627.
- Spolsky, C. and T., Uzzell, 1984. Natural interspecies transfer of mitochondrial DNA in amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 5802-5805.
- Sumner, A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exptl. Cell Res.* **75**: 304-306.
- Thorgaard, G.H., 1976. Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Cytogenet. Cell. Genet.* **17**: 174-184.
- Ueno, K. and Y. Ojima, 1977. Chromosome studies of the genus *Coreoperca* (Pisces, Perciformes), with reference to the karyotypic differentiation and evolution. *Proc., Jap. Acad.* **53**: 221-225.
- Upholt, W.B., 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digests. *Nucl. Acids Res.* **4**: 1257-1265.
- Yang, S.Y., H.J. Yang, S.R. Jeon, M.M. Nam, M.S. Min and J.H. Kim, 1994. Systematic study on the fishes of the family cobitidae (Pisces, Cypriniformes). 3. Taxonomic study on morphological variation of the *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis* from Korea. *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.*, **15**: 1-8.

(Accepted June 27, 1994)

---

**Systematic Study on the Fishes of the Family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) 4.  
The Analyses of Karyotype and Mitochondrial DNA between the Two Species of the  
Genus *Misgurnus* from Korea.**

Hei Yung Lee, Suh Yung Yang, Chang Shin Park, Eun Kyung Jung and Jae Heup Kim  
(Department of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea)

Chromosomal and mitochondrial DNA variations were investigated to clarify the genetic differences between *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis*. The somatic chromosomes were analysed by using conventional Giemsa, C-banding and NORs staining methods. The diploid chromosome number of *M. anguillicaudatus* and *M. mizolepis* were  $2n=50$  and  $2n=48$ , respectively, and the position of NORs were different. The wide distribution of constitutive heterochromatin was observed at centromeric region on the 1st chromosome pair of *M. mizolepis*. The mtDNA genome size was 16.0 Kb in both species, but the site variation was detected. The patterns of mtDNA restriction fragment were homogeneous (F value) among the populations of each species as  $F=0.674$  (*M. anguillicaudatus*) and  $F=0.862$  (*M. mizolepis*), but the intraspecific fragment homology was relatively low as  $F=0.207$ . *M. anguillicaudatus* showed higher level of nucleotide sequence divergence ( $p=0.021$ ) than *M. mizolepis* ( $p=0.002$ ). The mean value of nucleotide sequence divergence between two species of the genus *Misgurnus* was  $p=0.104$ . Based on the results of karyotype and mtDNA analyses, we assumed that *M. mizolepis* was speciated from *M. anguillicaudatus* to the direction of decrease in a chromosome number by Robertsonian translocation.