

形態 및 蛋白質 電氣泳動像에 依한 韓國產 통가리屬 魚類의 比較

孫 永 牧*·崔 義 烈·安 泰 仁
(清州師大 生物教育科*·서울大 生物教育科)

Comparisons Among the Fishes of Genus *Liobagrus* in Korea
by Their Morphology and Electrophoretic Patterns of Proteins

*Yeong-Mok Son, Eui Yul Choi and Tae In Ahn

(*Department Biology, Cheongju College of Education, Department Biology
Education, Seoul National University)

(Received November 1, 1983)

ABSTRACT

Two species of fishes of Genus *Liobagrus* that had been collected from three separate river systems in Korea were compared by their morphology and gel electrophoretic patterns of water soluble proteins. In morphology *L. andersoni* from Han River was distinctly different from *L. mediadiposalis* collected from both Gum River and Nagdong River. But *L. andersoni* collected from Gum River not only showed partial similarity for both groups of fishes above in their classifying characteristics but also had a unique ratio of body width/standard length.

Comparable similarity and difference among the three groups were also noted in their protein patterns of SDS polyacrylamide gel electrophoresis of various tissues. The difference was clearer and more distinct in the gel run with muscle proteins. A couple of more distinctly different low molecular polypeptides were detected by two dimensional gel electrophoresis.

Since the protein patterns shown in this study are not only agreeable with the morphological results but also provide detailed comparisons, fishes of *Liobagrus* from various water sources can be classified reliably by gel electrophoresis. On the bases of the findings above, *L. andersoni* like fishes collected from Gum River should no longer be classified as *L. andersoni*. Before naming them as an independent species, the possibility of natural hybrid between the two defined species, or of a varient of *L. andersoni* by geographic isolation should be tested.

序 論

퉁가리 (*Liobagrus*) 屬은 楊子江 以南의 中國大陸과 臺灣, 大同江과 赤壁江 以南의 韓半島 및 日本列島에 걸쳐棲息하는 南方系 魚類로 現在까지 記載된 것은 8種이며 (宮地等, 1976), 우리나라에는 퉁가리 (*L. andersoni*) 와 자가사리 (*L. mediadiposalis*)의 두 種이 알려져 있으며 (Mori, 1936), 分布와 形態的 特徵에서 論難이 있어왔다 (内田, 1939; 宮地等, 1976; 鄭, 1977; 田, 1980; 崔等, 1980; 金等, 1981; 孫, 1981).

内田 (1939)은 두 種의 形態와 生活史等에 關한 記載에서 *L. andersoni*와 *L. mediadiposalis*는 각각 漢江水系 以北과 錦江水系 以南으로 구분되어 분포한다고 하였으나, 田 (1980)은 錦江水系에는 두 종이 모두 분포한다고 하였으며, 金等 (1981)은 漢江水系의 것 만이 완전한 *L. andersoni*의 特徵을 잘 나타내고 있고, 錦江水系를 비롯한 他 水系에서 採集된 標本은 대부분이 *L. mediadiposalis*였으며, 錦江水系의 일부 標本은 두 종의 中間形質을 보여 주었다고 보고하였다. 本屬 魚類에 대한 孫 (1981)의 調查에서는 분포상태는 田 (1980)의 결과와一致하였고, 漢江產 및 錦江產 *L. andersoni*의 形態的 形質에서 몇가지 주목할 만한 차이가 있음을 보고한 바 있다. 本 研究에서는 韓國產 *Liobagrus* 屬에 대해서 種別·水系別로 形態的 特徵과 水溶性 蛋白質의 電氣泳動像을 比較検討하였던바 注目할 만한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 採集, 測定 및 蛋白試料 準備

標本은 1983年 5月부터 9月 사이에 漢江水系, 錦江水系 및 洛東江水系에서 網目 5 mm × 5 mm의 족대로 採集하였다 (Fig. 1).

8회에 걸쳐 4個地所에서 採集된 標本은 總 350個體로서 일부는 形態的 形質을 調査하기 위하여 現場에서 10% 흐르마린液에 고정하고 1/20 mm 캘리퍼와 解剖顯微鏡으로 測定 觀察하였다 (Fig. 2). 水溶性 蛋白質의 電氣泳動像을 알아보기 위하여 生體로 운반한 標本은 각 集團별로 20마리 쪽을 열음상자에서 cold shock로 麻醉시킨 후 腹部를 切開하여 간, 아가미 및 심장을 분리하고 體側中央上部의 肾臍조직을 절라내었다. 각 集團에서 分리해낸 試料는 냉각된 0.01 M Tris HCl pH 7.4 완충액으로 3회 반복 洗滌하고 약 2mm 부피의 완충액을 채운 다음 가위로 얇게 자른후 glass homogenizer로 磨碎하였다. 均質化된 試料는 遠心分離 (10,000 g, 1시간) 후 최성층에 형성된 지방층을 제거한 상층의 蛋白質을 Lowry等 (1951) 方法에 의해 定量하였다.

2. 電氣泳動法

SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS PAGE): SDS PAGE는 Laemmli (1970)의 젤 및 완충액 시스템을 이용하여 平板젤 (14 cm × 12 cm)에서 하였다.

蛋白質試料는 1% SDS, 5% mercaptoethanol, 0.02% bromphenol blue, 2.5% sucrose, 0.125 M Tris HCl pH 6.8의 용액에 100°C에서 1.5분간 前處理 후 각 well마다 50 µl (50~100 µg)의 蛋白質을 適用하였다. 電氣泳動은 0.125 M Tris HCl pH 6.8, 0.1% SDS를 含有한 3.3% stacking 젤과, 0.375 M Tris HCl pH 8.8, 0.1% SDS를 含有한 8% separating

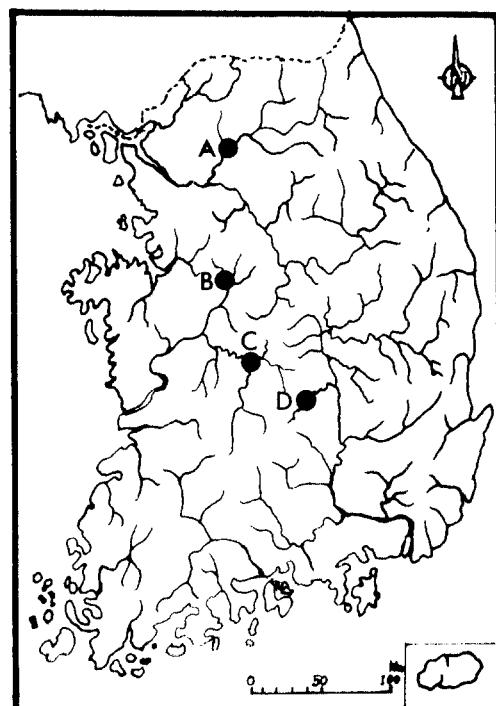


Fig. 1. Collecting sites of *Liobagrus* in Korea.

- A. Gapyeong (Han River)
- B. Jincheon (Geum River)
- C. Yeongdong (Geum River)
- D. Geumreung (Nagdong River)

겔에서 70 V로 6~7시간 분리후 Coomassie brilliant blue로 염색하고 7% acetic acid로 단색하였다. 分子量 表示 蛋白質로는 heavy myosin (분자량 200,000), bovine serum albumin (분자량 68,000), G-actin (분자량 42,000), 및 tropomyosin (분자량 36,000)을 사용하였다.

二次元電氣泳動 : SDS PAGE의 결과 比較 集團間에 가장 뚜렷한 차이를 나타낸 筋蛋白質을 약간의 수정을 제외하고는 O'Farrell (1975)의 방법에 따라 二次元電氣泳動을 하였다 (Ahn, 1983). 等電焦點分離는 LKB ampholine (pH 3.5~10, pH 5~7)을 pH勾配剤로 한 4% polyacrylamide겔에서 400 V로 20시간, 최종 1시간은 800 V로 하여 총 8,800 V.hr되게 하였다. 二次元電氣泳動은 0.1% SDS를 含有한 8~14%의 濃度勾配를 가진 acrylamide겔에 Laemmli (1972)의 완충액 시스템을 이용하였으며, 100V에서 8시간 泳動후 methanol로 固定하고 Coomassie brilliant blue로 염색하거나 感度를 높이기 위하여 silver stain (Merril et al, 1981)하였다.

結 果

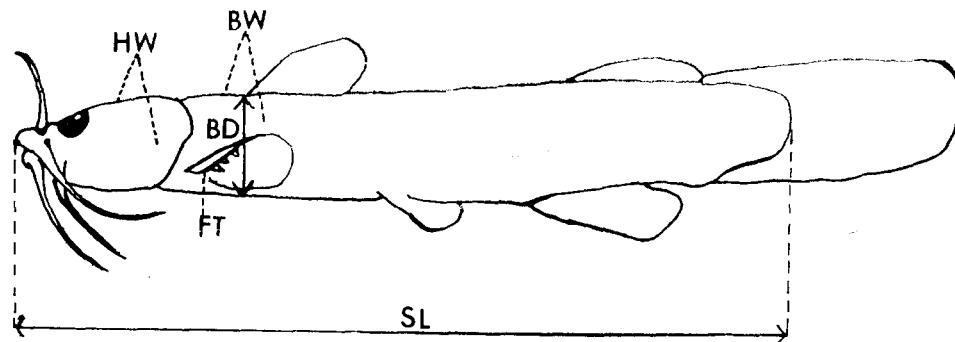
1. 形態的 形質의 比較

種別 및 水系別로 形態的 形質을 比較하기 위하여 體長에 대한 頭幅, 體幅 및 體高의 比와 胸鰭의 鰭條數 및 鰓齒數를 조사한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. *L. mediadiposalis*에서는 水系에 따른 차이를 찾아볼 수 없었다. 錦江產 *L. andersoni*는 上下顎의 길이에 있어서는 漢江產 *L. andersoni*와 그 길이가 같게 나타나 *L. mediadiposalis*와 區分되고 있으

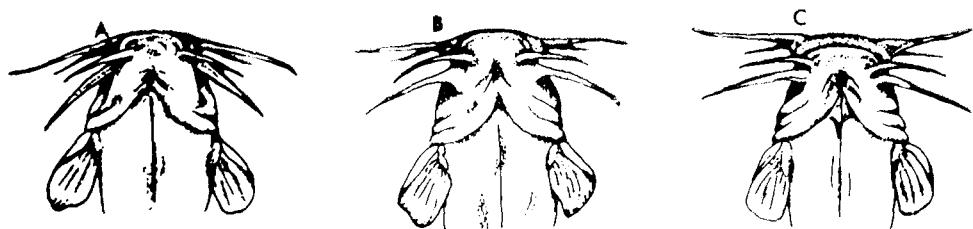
Table 1. Comparisons of morphological characteristics between *L. andersoni* and *L. mediadiposalis*.

Species Characteristics	<i>L. andersoni</i>		<i>L. mediadiposalis</i>	
	Han R. n=22	Geum R. n=22	Nagdong R. n=22	Geum R. n=18
Standard Length (mm)	80~97	82~101	82~122	81~96
Length of upper and lower jaw	equal	equal	lower shorter	lower shorter
In% of SL: HW	20.16±0.70	22.26±1.08	19.45±0.78	19.65±0.44
BW	14.06±0.46	19.19±1.15	14.85±1.00	15.16±0.54
BD	14.65±0.49	17.84±1.17	16.91±0.58	16.71±0.28
Number of pectoral fin rays	I, 8	I, 7	I, 7	I, 7
Number of feeble teeth	1.71±0.59 (1~3)	4.25±0.43 (4~5)	5.08±1.1 (4~7)	5.38±0.70 (4~6)

나 (Fig. 2), 胸鰭의 鰭條數와 鋸齒數에 있어서는 漢江產 *L. andersoni*보다 그 수가 2개 이상 많으며 오히려 *L. mediadiposalis*와 같은 痕의 本位에 있으며, 漢江產 *L. andersoni*의 鋸齒 모양은 가장 痕迹의 이 있다 (Fig. 3). 體長에 對한 頭幅比는 集團間에 큰 差異가 없었으나 錦江產 *L. andersoni*의 體幅比 (19.19 ± 1.15)는 이노 比較集團 (14.06 ± 0.46 , 15.16 ± 0.54) 보

**Fig. 2.** Diagram of measurements for the genus *Liobagrus*.

BD, body depth; BW, body width; HW, head width;
FT, feeble teeth; SL, standard length.

**Fig. 3.** Ventral views of the mouth part of *Liobagrus*.

- A. *L. andersoni* (Han River)
- B. *L. andersoni* (Geum River)
- C. *L. mediadiposalis* (Nagdong River)



Fig. 4. Feeble teeth of the pectoral fins of *Liobagrus*
A, *L. andersoni* (Han River); B, *L. andersoni* (Geum River)
C, *L. mediadiposalis* (Geum River & Nagdong River)

다도 顯著히 크게 나타났으며, 體高比는 *L. mediadiposalis*와 비슷하였다.

2. 電氣泳動像의 比較

SDS PAGE에 의한 水溶性 蛋白質의 電氣泳動像에서는 각 조직의 대부분 주요 蛋白質 樣相이 일치하여 같은 屬의 特徵을 잘 보여주고 있는 반면 比較集團間에 特徵의인 蛋白質도 탐지되었다 (Fig. 5). *L. mediadiposalis*는 비교한 4가지의 조직중 肝에서만 水系에 따른 차이가 1개 band 있는 것으로 나타났으나 이는 band pattern의 變異이기보다가는 단백질 양의 차이로 사료되며, 다른 조직에서는 水系에 따른 차이가 없었다. 이에 비하여 *L. andersoni*는 漢江과 錦江水系에 따른 차이가 顯著하였다. 錦江水系의 *L. andersoni*의 蛋白質樣相은 *L. mediadiposalis*와 漢江水系의 *L. andersoni*間의 차이나는 蛋白質에 대해서 부분적인 일치를 보이는 band가 있는가하면 特異한 band로 나타나는 蛋白質도 있었다. 이상의 차이는 蛋白質組成이 比較的 간단한 筋肉組織에서 더욱 뚜렷하였다 (Fig. 5B).

筋蛋白質에 대한 二次元電氣泳動像의 比較에서 Coomassie brilliant blue로 염색한 젤에서 種間및 水系間의 주요 蛋白質樣相은 비슷하였으나 분자량이 比較的 작은 微量蛋白質에서는 SDS PAGE에서와 같은 種間의 차이 및 *L. andersoni*의 水系에 따른 차이를 볼 수 있었다 (Fig. 6). 微量蛋白質을 더욱 명확히 比較하기 위하여 silver stain한 젤에서는 上의 차이가 뚜렷이 나타났을 뿐 아니라 최소한 7개의 種間의 차이나는 蛋白質 및 *L. andersoni*의 水系에 따른 6개 以上의 차이나는 蛋白質을 탐지하였다 (Fig. 7).

考 索

*Liobagrus*屬 魚類에서는 上下顎의 길이와 胸鰭의 鰭條數等이 種檢索의 基準이 되었으나 (Mori, 1936), 内田 (1939)는 두 種의 形態, 發生過程等에 關한 상세한 叙述에서 上下顎의 길이가 같고 胸鰭棘의 鋸齒數가 0~3개이면 *L. andersoni*로, 下顎이 上顎보다 짧은 것 중에서 鋸齒數가 3~6개이면 *L. mediadiposalis*로, 鋸齒가 전혀 없으면 *L. reini* (동자개사리, 日本產 1種)로 同定한다고 하여 鋸齒數가 種檢索의 좋은 基準이 됨을 보고하였다. 金等 (1981)은 錦江產의 일부 *Liobagrus*屬 標本은 두 種의 中間形質을 보여주었다고 하였으나 구체적인 測定值의 提示는 없었다. 本 調查의 결과에서 錦江產 *L. andersoni*는 上下顎의 길이가 같고 胸鰭棘의 鋸齒數는 4~5개로 나타났으며, 體長에 대한 體幅比에 있어서는 뚜렷이 크게 그 차이를 나타내어 他 比較集團과는 顯著히 구분되는 特徵이 있음을 알 수 있었다.

筋蛋白質을 試料로 한 電氣泳動像으로 韓國產 동자개科 魚類의 屬間을 比較한 예는 있으나

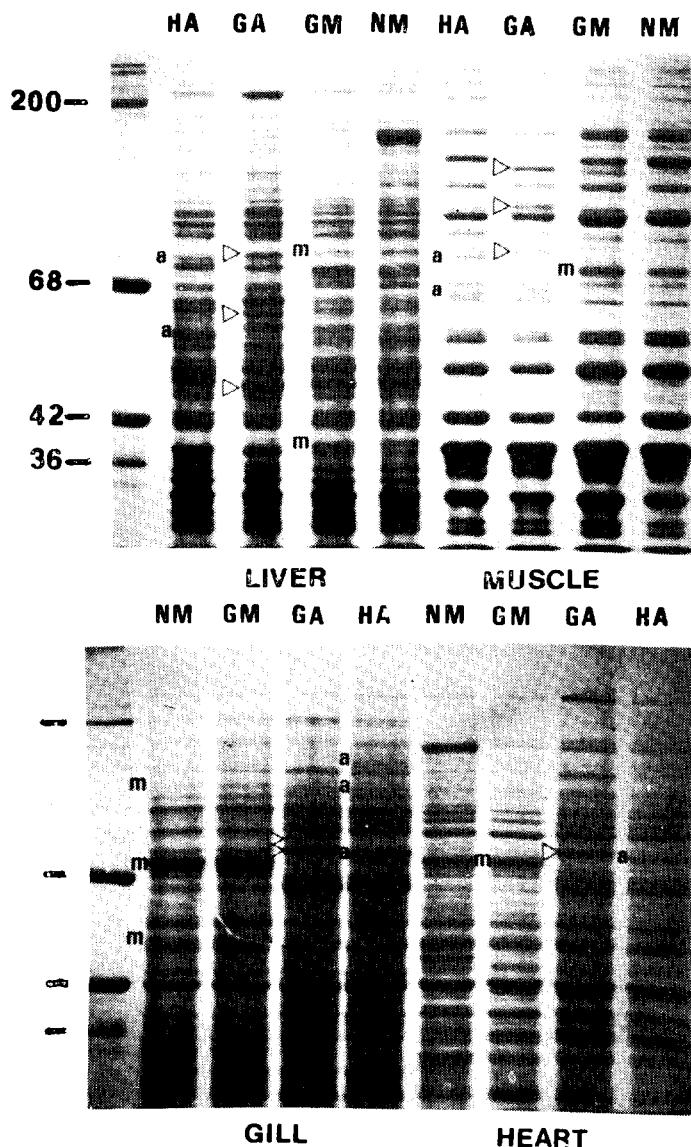


Fig. 5. SDS PAGE patterns of water soluble proteins from various tissues of *Liobagrus*, after staining with Coomassie brilliant blue.

HA, *L. andersoni* from Han River; GA, *L. andersoni* from Gum river; GM, *L. mediadiposalis* from Gum river; NM, *L. mediadiposalis* from Nagdong River. These abbreviations are the same in Figs. 6 and 7.

Note the species and river specific bands that are marked with initials of species name. GA specific bands are indicated by open triangles. Also note the similarity of the major protein bands among the samples.

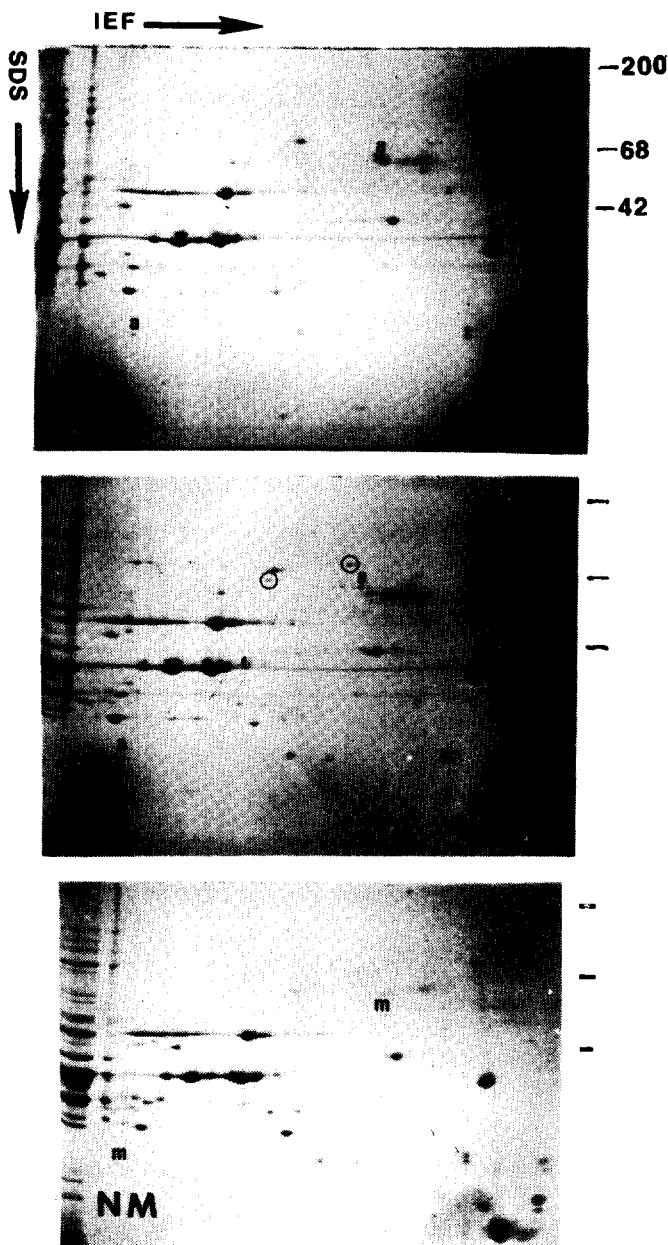


Fig. 6. Two dimensional electrophoretic patterns of water soluble proteins from muscles of *Liobagrus*, after staining with Coomassie brilliant blue. The second dimension was run on 8~14% gradient gel.

Species specific polypeptides are marked with 'a' and 'm' for *L. andersoni* and *L. mediadiposalis* respectively. Circled spots are the specific polypeptides of GA,

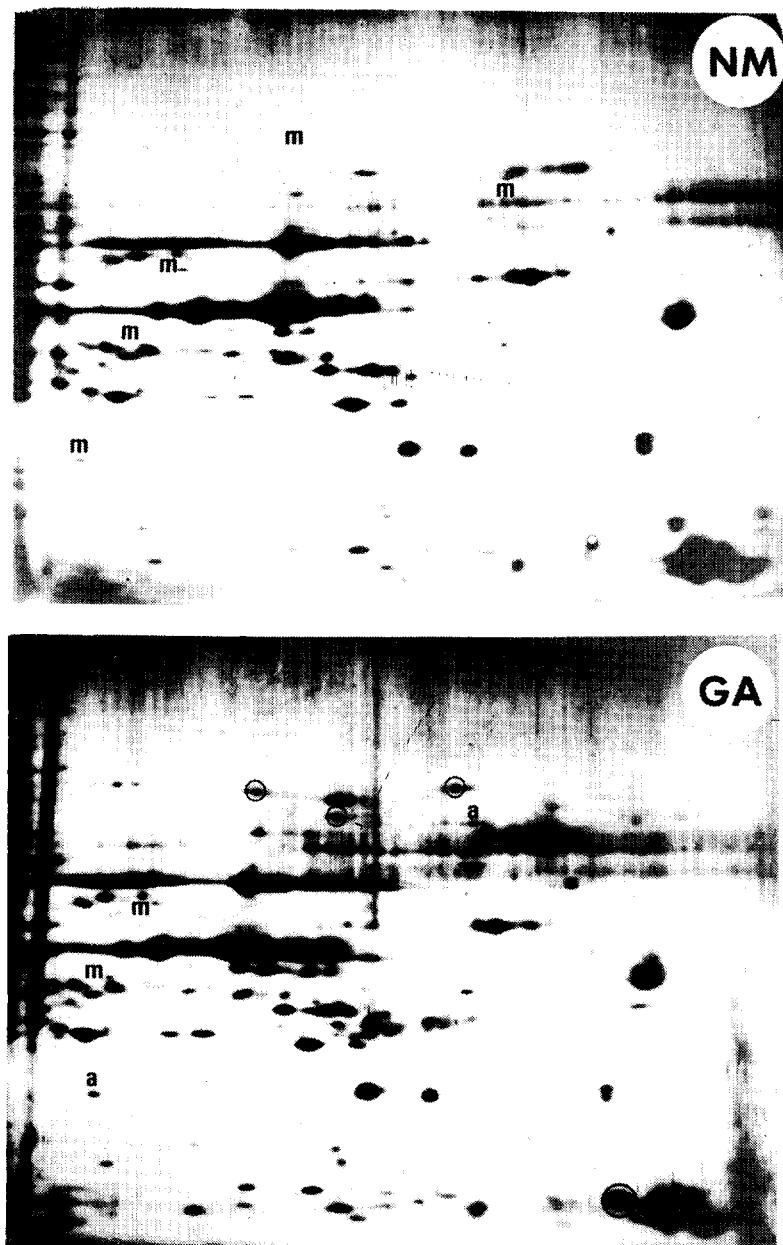


Fig. 7. Two dimensional electrophoretic patterns of muscle proteins of *Liobagrus*. After staining by silver stain method, most of the minor polypeptides are readily comparable. Two 'a' spots shown in GA are HA specific polypeptides (cf. Fig. 6). Among the many specific minor polypeptides of NM, only two spots are present in GA. GA specific poly peptides are shown within the circles.

(金等, 1981) *Liobagrus*屬의 種間을 比較한 예는 아직 없었다. 肝, 筋肉, 아가미 및 心臟組織에 대해서 SDS PAGE에 의한 電氣泳動像을 얻었으며 그 결과 가장 特徵的으로 나타난 筋蛋白質에 대해서는 二次元電氣泳動을 하였다. 二次元電氣泳動에서 silver stain한 경우 그 敏度가 Coomassie brilliant blue 염색보다 월등히 높아 微量蛋白質의 分解能을 顯著히 增加시킬 수 있었다. SDS PAGE와 二次元電氣泳動에서 대부분의 주요 蛋白質樣相이 비슷하게 나타나고 있는 것은 같은 屬이라는 事實을 立證한 것이며, 特히 錦江產 *L. andersoni*에서 漢江產 *L. andersoni*와 *L. mediadiposalis*間에 차이나는 蛋白質에 부분적으로 일치하는 것과 特異한 蛋白質이 함께 探知된 것은 形態的 形質의 分析 결과와도 一致하는 것으로 이러한 현상은 筋蛋白質에서 더욱 뚜렷하였다. 이와같이 比較集團間에 特徵의 蛋白質이 存在한다는 것은, 類似하게 나타나는 特徵의 形態的 樣相과 比較論議하는 데 유용한 결과로 생각되었다.

따라서 錦江產 *L. andersoni*를 漢江產 *L. andersoni*와 同一種으로 同定하는데는 問題性이 있다고 思料되었으며, 錦江產 *L. andersoni*가 漢江產의 地理的變異型, 또는 上記 두 種의 自然雜種내지는 별개의 種인자의 與否를 명확히 究明하기 為하여 앞으로 細胞遺傳學的, 發生學的 및 生化學的 方法을 利用한 比較檢討가 必要하다고 본다.

要 約

韓國產 *Liobagrus*屬의 2종 魚類에 대하여 形態的 特徵과 水溶性 蛋白質의 電氣泳動像을 水系別로 比較하였다.

形態的인 特徵에 있어서 漱江產 *L. andersoni*는 錦江 및 洛東江에서 採集된 *L. mediadiposalis*와 顯著한 차이가 있었으나 錦江產 *L. andersoni*는 區分되는 形態的 特徵이 上記 2種間에 부분적인 一致를 보일뿐만 아니라 體長에 對한 體幅比는 독특한 값을 나타내었다.

이같은 類似性 및 差異는 각종 조직을 分離 SDS PAGE한 蛋白質 樣相에서도 나타났으며, 특히 筋肉蛋白質 樣相比較에서 분명하였다. 筋蛋白質의 二次元電氣泳動像에서는 더욱 뚜렷하게 差異나는 수종의 저분자 蛋白質이 探知되었다.

本研究에서 얻은 電氣泳動에 의한 蛋白質 分割像是 形態的 比較와 一致를 보일 뿐만 아니라 微量蛋白質 組成까지 細部的인 比較를 가능케 하므로 *Liobagrus*屬의 水系에 따른 差異 및 分類가 電氣泳動에 의해서 신빙성있게 이루어질 수 있음을 보였다. 以上的 결과에 비추어 볼 때 錦江에서 採集되는 *L. andersoni*類似 標本은 漱江의 *L. andersoni*와는 별도로 分類되어야 한다고보며, 이를 漱江產의 地理的變異型, 또는 上記 究明된 두 종간의 自然雜種내지는 別種인지의 與否를 명확히하기 위한 몇가지 具體的인 檢討가 必要하다고 본다.

REFERENCES

- Ahn, T.I., 1983. The fate of strain-specific protein in xD strain of *Amoeba proteus*. *Kor. J. Zool.* 26: 181-192.
 崔基哲, 田祥麟, 金益秀, 1980. 韓國產淡水魚分布圖. 韓國淡水生物研究所 pp. 24-25.
 田祥麟, 1980. 韓國產淡水魚의 分布에 關하여. 中央大學校 大學院 博士學位論文 pp. 56.
 鄭文基, 1977. 韓國魚圖譜. 一志社 pp. 228-230.

- 金益秀, 李金泳, 朱日永, 1981. 韓國產 등자개과 魚養의 分養學的研究. *Ann. Rep. Biol.* 2:1-17.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lowry, O.L., N.J. Rousebrough, A.L. Farr & R.J. Randell, 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Merril, C.R., D. Goldman, S.A. Sedman & M.H. Ebert, 1981. Ultrasensitive stain for proteins in polyacrylamide gels shows regional variation in cerebrospinal proteins. *Science* 211: 1437-1438.
- 宮地傳三郎, et. al., 1976. 原色日本淡水魚養圖鑑. 保育社 pp. 261-264.
- Mori, T., 1936. Description on new genera and three new species of *Siluroidea* from Korea. *Zool. Mag. (Japan)* 48:671-676.
- O'Farrell, P.H., 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250:4007-4021.
- 孫永牧, 1981. 韓國產 *Liobagrus*屬 魚類의 形態學的 比較研究. 中央大學校 大學院 碩士學位請求論文 pp. 1-32.
- 内田惠太郎, 1939. 朝鮮魚類誌 第1卷, 朝鮮總督府水產試驗場報告書 6:43-55.