

갈겨니(*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 IX. 피라미아과 어류의 계통진화*

양서영 · 민미숙

인하대학교 이과대학 생물학과

피라미아과 3속 5종에 대한 유전적 변이 및 계통진화를 규명하기 위하여 전기영동법을 이용, 24개 유전자를 검출 분석하였다.

피라미아과 5종의 평균 유전적 변이정도는 $\bar{A}=1.8$, $\bar{P}=16.5\%$, $\bar{H}_D=0.043$, $\bar{H}_G=0.049$ 로 타 어류군에 비하여 낮은 편이었다. 그러나 *A. chinensis*는 평균 변이가 $\bar{P}=32.5\%$, $\bar{H}_D=0.100$, $\bar{H}_G=0.119$ 로 기존에 보고된 타어류의 변이값보다 높은 값이었고 *O. bidens*는 그 변이정도가 제일 낮았다($\bar{P}=4.2\%$, $\bar{H}_D=0.008$, $\bar{H}_G=0.008$). 피라미아과 각 종의 집단간 평균 근연치는 $\bar{S}=0.940$ 으로 비교적 근연관계가 가까웠으며 *O. bidens*는 $\bar{S}=0.992$ 로서 그 값이 제일 큰 반면 *Z. platypus*는 $\bar{S}=0.899$ 로서 제일 낮은 값을 나타내었다. 종간의 근연치를 비교한 결과 *A. chinensis*는 타 4종과 평균 $\bar{S}=0.235$ 로 가장 낮은 유사성을 나타내는 반면, *Z. temmincki* 2종은 $\bar{S}=0.822$ 로서 유사성이 가장 높았다. 또한 *Zacco* 속의 *Z. platypus*는 동일속의 타 2종보다 속이 다른 *O. bidens*와의 유사성이 더 높게 나타났으며($\bar{S}=0.462$), *Z. temmincki* 2종과는 속 이상의 차이치를 나타내었다($\bar{S}=0.340$). 분화연대를 추정한 결과 피라미아과 5종은 과거 약 760만년전(선신세)에서 100만년전(홍적세)사이에 분화된 것으로 추정되었다.

KEY WORDS: Subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae), Electrophoresis, Genic Variation, Phylogeny

전기영동법이 개발된 초기에는 isozyme의 다양성을 이용하여 생물군의 유전적 변이 측정에 광범위하게 적용되어져 왔으며(Lewontin and Hubby, 1966; Harris, 1967; Selander and Yang, 1969) 근년에 와서는 isozyme의 data를 이용하여 유사종간의 근연관계, 속간의 유전적 차이 및 계통진화학적 해석에 매우 중요한 방법으로 이용되고 있다.

분지분류학(Cladistics)이나 수리분류학(Numerical taxonomy)에서 계통진화의 연구도 활발히 진행되고 있으나(Farris, 1981, 1986; Felsenstein, 1986) 이 분야에서 이용하는 형질은 주로

형태형질로서, 형태형질 선정에는 인위적인 편견이 가능하고 또한 수렴진화(Convergence)나 평행진화(Parallel evolution)의 경우 정확한 계통진화학적 추적이 난해한데 반하여 전기영동법에 의한 isozyme분석은 유전자를 직접 비교 분석하므로 상기의 난점을 해결할 수 있는 장점이 있어 많은 분류군의 계통진화 연구에 적용되고 있다(Rholf and Wooten, 1988; Kim and Burgman, 1988; Dowling and Brown, 1989).

척추동물의 여러 분류군에서도 isozyme을 이용한 계통진화 연구가 활발히 행하여지고 있는데 어류의 경우 Buth (1984a, b)는 잉어과 어류의 isozyme data를 종합하여 이들의 변이와 적응에 대하여 계통진화적인 추정을 하였고, Crabtree와 Buth(1987)는 유연종 사이의 분류학

*본 연구는 1988년도 문교부 기초과학육성연구비의 지원에 의한 것임.

상 문제점 등을 생화학적 분석에 의해 해결하였다. 한편 Dowling과 Brown (1989)은 담수어류의 계통분류 추정에는 mtDNA보다 isozyme분석이 보다 정확함을 시사한 바 있다.

국내에서도 어류 분류군을 대상으로 전기영동법을 이용한 계통분류학적 연구가 수행되어지고 있으며 담수어류에 대한 유전적 변이 및 계통진화적 연구도 활발히 이루어지고 있다(Yang and Park, 1982; Yang, 1983; Yang *et al.*, 1984; Kim *et al.*, 1985; Min and Yang, 1986; Yang and Son, 1986; Yang and Min, 1987, 1988, 1989a).

Yang과 Min (1987, 1989b)은 한국산 담수어류중 피라미아과에 속하는 *Zacco temmincki*의 cytosol *Mdh*에 2 type이 존재함과 이들 2 type *Z. temmincki*가 형태적으로 매우 유사하나 서로 생식적 격리가 이루어진 sibling species임을 밝힌 바 있으며 Lee 등(1986, 1988)은 핵형과 mtDNA분석을 통해 2 type의 차이를 구명한 바

있다. Kang 등(1987)도 *Z. temmincki* 2 type의 *Mdh* 활성도에 차이를 밝혔으며 Yang과 Min(1987)은 *Z. temmincki* MM type은 MS type에서 저온적응의 결과로 신종으로 분화되었을 것으로 추정하였다.

본 연구는 *Z. temmincki*가 속해 있는 피라미아과(Danioninae) 3속 5종에 대한 isozyme분석을 통하여 피라미아과 어종의 유전적 변이 및 지리적 변이, 종간의 유연관계와 계통수 수립 및 분화연대를 추정하므로서 피라미아과의 계통진화를 분자수준에서 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료의 채집지와 개체수는 Table 1과 같다.

채집된 표본은 채집즉시 Dry ice에 급냉동시켜 실험실로 운반한 후 채측에서 근육을 적출하여 4°C에서 glass homogenizer (Braun Co.)로

Table 1. Collecting localities, date, and number of specimens of the Subfamily Danioninae.

Collection locality	No. of specimens	Collection date
<i>A. chinensis</i>		
1. Suwon : Suwon-shi, Kyonggi-do	20	May 9, 1989
2. Kosong : Chugwang-myon, Kosong-gun, Kangwon-do	20	May 3, 1989
3. Nonsan : Chaeun-myon, Nonsan-gun, Chungchongnam-do	20	Apr. 29, 1989
4. Kochang : Songnae-myon, Kochang-gun, Chollabuk-do	18	Apr. 29, 1989
5. Hungdok : Hungdok-myon, Kochang-gun, Chollabuk-do	7	Apr. 29, 1989
<i>Z. platypus</i>		
6. Kapyong : Puk-myon, Kapyong-gun, Kyonggi-do	20	Sep. 14, 1988
7. Yangpyong : Chongun-myon, Yangpyong-gun, Kyonggi-do	20	May 3, 1989
8. Kangnung : Kangnung-shi, Kangwon-do	20	Apr. 2, 1989
9. Yangyang : Yangyang-up, Yangyang-gun, Kangwon-do	20	May 2, 1989
10. Yongchon : Pusan-myon, Yongchon-gun, Kyongsangbuk-do	9	July 18, 1988
<i>Z. temmincki</i> MS type		
11. Yangpyong : Chongun-myon, Yangpyong-gun, Kyonggi-do	7	May 3, 1989
12. Inje : Kirin-myon, Inje-gun, Kangwon-do	10	Sep. 21, 1988
13. Yanggu : Pangsang-myon, Yanggu-gun, Kangwon-do	10	Apr. 5, 1988
14. Yongchon : Pusan-myon, Yongchon-gun, Kyongsangnam-do	12	July 18, 1988
15. Namhae : Namhae-up, Namhae-gun, Kyongsangnam-do	10	Apr. 30, 1989
<i>Z. temmincki</i> MM type		
16. Yongchon : Pusan-myon, Yongchon-gun, Kyongsangbuk-do	5	July 18, 1988
17. Namhae : Namhae-up, Namhae-gun, Kyongsangnam-do	10	Apr. 30, 1989
<i>O. bidens</i>		
18. Kapyong : Oeso-myon, Kapyong-gun, Kyonggi-do	16	Oct. 13, 1988
19. Tanyang : Maepo-up, Tanyang-gun, Chungchongbuk-do	13	Sep. 20, 1988
20. Taedok : Shintanjin-up, Taedok-gun, Chungchongnam-do	20	Oct. 14, 1988
21. Wanju : Hwasan-myon, Wanju-gun, Chollabuk-do	20	Oct. 5, 1988
22. Changsong : Changsong-up, Changsong-gun, Chollanam-do	20	Oct. 19, 1988

마쇄한 후 Sorvall RC-5B 원심분리기를 이용 49,000 × g로 30분간 저온원심분리하여 상층액을 얻고 전기영동 시료로 사용하였다.

전기영동은 Yang 등(1984)과 Yang과 Min (1987)의 방법으로 horizontal starch gel electrophoresis를 실시하였으며 이때 starch는 Connaught starch (Lot #425-1)를 12%농도로 사용하였다.

전기영동 후 얻어진 각 효소 및 단백질의 pattern을 이용하여 각 개체의 genotype을 확인하고 Biosys program (Swofford and Selander, 1981) 및 MV 10,000 computer를 이용 각 집단의 유전자 빈도(allele frequency), 평균 다형형 빈도(% polymorphism) 및 이형접합자 빈도(heterozygosity)값을 구하여 집단 및 종간 유전적 변이 정도를 조사하였고(Selander, 1976) 유전자 빈도를 토대로하여 Rogers (1972)의 유전적 근연치(S)와 Nei (1972)의 유전적 차이치(D)를 구하고 S값을 토대로 UPGMA 방법(Sneath and Sokal, 1973)으로 dendrogram을 작성하였고 D값을 이용하여 Nei (1975)의 공식에 따라 각 종의 분화연대를 추정하였다.

결과

피라미아과(Danioninae) 4속 6종중 *Squaliobarbus*속 *S. curriculus* 1종을 제외한 3속 5종(*Zacco platypus*, *Z. temmincki* MM type, *Z. temmincki* MS type, *Opsariichthys bidens*, *Aphyocypris chinensis*)에 대한 유전자 분석을 위하여 전기영동을 실시한 결과 15종류의 효소 및 단백질에서 총 24개의 유전자를 검출하였고 각 유전자에 대한 유전자 빈도를 구하였다(Table 2).

*A. chinensis*의 경우 전체 유전자 중 13개(*Aco*, *Idh*, *Ldh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Me-1*, *Me-2*, *6Pgd*, *Pgm*, *Gp-1*, *Gp-4*, *Gp-6*, *Pept-1*) 유전자(54%)는 변이가 없었으며 나머지 유전자 중 *αGpd*, *Mpi*, *Pept-2*는 5개 집단 모두에서 변이를 나타내었다. *Aco*, *Idh*, *Ldh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-3*, *Me-1*, *6Pgd*, *Pgi-2*, *Gp-4*, *Mpi* 등 10개 유전자는 *A. chinensis* 종 특유의 인자였다. 고정집단은 *Fum*,

Got-1, *Pgi-1*, *Pept-2*등에서 dominant allele의 빈도에 나머지 집단과 차이가 있었으며 수원집단도 *Mpi*, *Pgi*, *Pept-2*에서 빈도의 차이를 나타내었다.

*Z. platypus*의 경우 *Aco*, *Fum*, *Idh* 유전자는 종 특유의 인자였고 *6Pgd*, *Pgi-1*, *Pept-2*는 전집단에서 변이를 나타내었다. 영천집단은 *Gp-4*에서 *Gp-4^e* 인자를 공유하는 것으로 나타나 나머지 4집단이 공유한 *Gp-4^e* 인자와는 뚜렷한 차이를 보였으며 오히려 *Z. temmincki* 2 type 집단의 인자와 동일하였다. 또한 *Got-2*, *Mpi*, *Pgi-1*, *Pept-1* 등에서도 타 *Z. platypus* 집단에서는 볼 수 없는 영천집단 특유의 인자들을 공유하고 있었고 *Me-2*에서도 나머지 집단과는 빈도차이를 나타내었다.

*Z. temmincki*는 *Mdh-2*, *Fum*, *Pgm*의 인자가 MM type과 MS type간에 서로 완전히 다른 인자로 종간차이를 나타내고 있었다. *Z. temmincki* MS type의 양평, 남해집단은 변이가 전혀 없었고 MM type 남해집단은 *Got-2*에서만 약간의 변이가 있었다. *Pgi-1*과 *Pept-1*의 경우는 MM type의 남해와 영천집단간에 완전히 다른 유전자로 나타나 종내 집단간 차이를 나타내었다.

*O. bidens*의 경우, 가평과 단양집단은 변이가 전혀 없었으며 장성집단은 *Pept-2*에서만, 완주집단은 *Mdh-1*에서만 변이를 나타내었고 대덕집단은 *Mdh-1*, *Pgi-1* 및 *Pept-1*의 3개 유전자에서 약간의 변이를 나타내었다. *Aco*, *Est*, *Gp-4*, *αGpd*, *Pept-1*, *6Pgd* 및 *Pgm* 등 7개 유전자는 종 특유의 인자였다.

조사한 피라미아과 어류의 유전적 변이 정도는 Table 3과 같다.

이형접합자 빈도는 직접 관찰된 이형접합자 빈도(H_D)와 유전자 빈도에 의한 이형접합자 빈도(H_G) (Yang, 1983)를 산출하였다. 피라미아과의 각 유전자당 평균 대립인자수는 $\bar{A}=1.2$, 평균 다형형 빈도는 $\bar{P}=16.5\%$, 평균 이형접합자 빈도는 $\overline{H_D}=0.043$, $\overline{H_G}=0.049$ 로 나타나 타어류군의 평균값에 비해 낮게 나타났다(Selander, 1976).

가장 변이가 높은 집단은 *A. chinensis*의 고창 집단으로 $H_D=0.141$, $H_G=0.159$ ($P=41.7\%$)였

Table 2. Allele frequencies for polymorphic loci. Alleles are coded as letters, with the most anodal one designated as "a" and successively slower alleles as "b", "c", etc. Numbers in parentheses are frequencies for alleles when a single allele was not fixed. Numbers under each species refer to the collecting localities listed in Table 1.

	<i>A. chinensis</i>				<i>Z. platypus</i>							<i>Z. temminckii</i> NS							<i>Z. temminckii</i> MH							<i>O. bidens</i>			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22							
<i>Acc</i>	c	c	c	c	a	a	a	a	a	a	d	d	d	d	d	d	d	b	b	b	b	b							
<i>Zet</i>	b(.93) c(.07)	a(.02) b(.98)	b(.86) c(.14)	c(.22) d(.78)	c(.40) d(.60)	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	e	e	e	e	e							
<i>Pum</i>	a	a(.47) b(.53)	a(.85) b(.15)	a(.78) b(.22)	a(.71) b(.29)	d	d	d	d	d	c	c	c	c	c	e	e	a	a	a	a	a							
<i>Got-1</i>	a(.70) d(.30)	a(.37) d(.63)	a(.95) d(.05)	a(.92) b(.08)	a	d	d(.95) e(.05)	d	d	d	c	c	c	c	c	c	c	d	d	d	d	d							
<i>Got-2</i>	a	a	a	a(.94) b(.06)	a	b	b	b	b	a(.50) b(.50)	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a							
<i>Op-1</i>	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a							
<i>Op-4</i>	a	a	a	a	a	d	d	d	d	b	b	b	b	b	b	b	b	c	c	c	c	c							
<i>Op-6</i>	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b							
<i>agpd</i>	b(.93) d(.07)	b(.63) d(.37)	a(.37) b(.63)	a(.31) b(.69)	a(.29) b(.71)	d	d	d	d	d	c	c	a(.10) c(.90)	c	c	c	c	e	e	e	e	e							
<i>Idh</i>	c	c	c	c	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b							
<i>Ldh-1</i>	a	a(.95) c(.05)	a(.95) b(.05)	a(.61) b(.39)	a(.64) b(.36)	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a							
<i>Ldh-2</i>	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b							
<i>Mdh-1</i>	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b							
<i>Mdh-2</i>	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	a	a							
<i>Mdh-3</i>	e	e	e	d(.06) e(.94)	a(.07) e(.93)	c	c	c	c	c	c	c	b(.05) c(.95)	c	c	c	c	c	c	c	c	c							
<i>Me-1</i>	c	c	c	c	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	a	a							
<i>Me-2</i>	a	a	a	a	a	b	b	b	b	a(.02) b(.98)	c	c	c	b(.08) c(.92)	c	c	c	c	b	b	b	b	b						
<i>Mpi</i>	b(.10) c(.90)	a(.10) b(.35)	a(.03) c(.65)	b(.71) c(.28)	d(.02) e(.98)	e	e	e	e	a(.94) g(.06)	f	f	d(.05) f(.95)	f	f	f	f	e	e	e	e	e							
<i>Pept-1</i>	c	c	c	c	c	b(.05) c(.95)	c	c	c	c	b(.05) c(.95)	b	b	b	b	b	b	f	d	d	d	d							
<i>Pept-2</i>	f(.15) g(.85)	f(.32) g(.68)	f(.78) g(.22)	f(.70) g(.30)	f(.64) g(.36)	a(.95) b(.03)	a(.65) b(.35)	a(.55) b(.45)	a(.48) b(.52)	a(.17) b(.83)	f	f	f	e(.04) f(.96)	f	e(.10) f(.90)	d	d	d	d	d								
<i>PFgd</i>	b	b	b	b	b	c(.55) d(.45)	c(.30) d(.70)	c(.27) d(.73)	c(.50) d(.50)	c(.67) d(.33)	c	c	c	c	c	c	c	a	a	a	a	a							
<i>Pgi-1</i>	b(.63) e(.37)	b(.63) e(.37)	b(.36) e(.64)	b(.33) e(.67)	b(.07) e(.93)	d(.88) e(.12)	d(.88) e(.12)	d(.88) e(.12)	d(.88) e(.12)	d(.88) e(.12)	c	c	c	c	c	c	a	a	a	a	a								
<i>Pgi-2</i>	c	c	c	c	a(.25) e(.75)	a(.10) b(.90)	a(.25) b(.75)	a(.05) b(.95)	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b							
<i>Pgm</i>	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	d	d	d	d	c	c							

Table 3. Genic variations of the Subfamily Danioninae.

	Number of specimens (N)	Mean No. of alleles per locus (A)	% of loci polymorphic (P)	Mean heterozygosity (H)	
				Direct count (H _D)	By gene freq. (H _G)
<i>A. chinensis</i>					
1. Suwon	20	1.2	20.8	0.058	0.063
2. Kosong	20	1.3	29.2	0.115	0.128
3. Nonsan	20	1.4	33.3	0.073	0.084
4. Kochang	18	1.6	41.7	0.141	0.159
5. Hungdok	7	1.5	37.5	0.113	0.160
<i>Z. platypus</i>					
6. Kapyong	20	1.3	29.2	0.046	0.057
7. Yangpyong	20	1.4	29.2	0.071	0.083
8. Kangnung	20	1.2	16.7	0.077	0.068
9. Yangyang	20	1.3	25.0	0.075	0.083
10. Yongchon	9	1.3	25.0	0.088	0.086
<i>Z. temmincki</i> MS type					
11. Yangpyong	7	1.0	00.0	0.000	0.000
12. Inje	10	1.0	4.2	0.004	0.004
13. Yanggu	10	1.2	20.8	0.021	0.028
14. Yongchon	12	1.2	16.7	0.017	0.017
15. Namhae	10	1.0	00.0	0.000	0.000
<i>Z. temmincki</i> MM type					
16. Yongchon	5	1.1	8.3	0.008	0.023
17. Namhae	10	1.0	4.2	0.004	0.004
<i>O. bidens</i>					
18. Kapyong	16	1.0	00.0	0.000	0.000
19. Tanyang	13	1.0	00.0	0.000	0.000
20. Taedok	20	1.1	12.5	0.017	0.016
21. Wanju	20	1.0	4.2	0.010	0.009
22. Changsong	20	1.0	4.2	0.012	0.014

으며 *A. chinensis* 5개 집단의 평균 유전적 변이 정도는 $\overline{H_D}=0.100$, $\overline{H_G}=0.119$ 로 타어류군의 평균 값보다 높았고, *Z. platypus* 5개 집단의 유전적 변이 정도는 타어류군의 값과 유사하였다 (Selander, 1976). *Z. temmincki* MM type과 MS type 그리고 *O. bidens*의 유전적 변이는 매우 낮게 나타났다.

Table 2의 유전자 빈도를 이용하여 집단 및 종간 유전적 근연치(S) (Rogers, 1972)와 유전적 차이치(D) (Nei, 1972)를 구한 결과는 Table 4 및 Table 5와 같다.

피라미아과 3속 5종의 각 종내 집단간 평균 유전적 근연치는 $\overline{S}=0.90$ 이상으로 집단간 근연관계를 나타냈으며, *Z. temmincki* MS type 5개 집단, *O. bidens* 5개 집단의 종내 집단간 근연치는 $\overline{S}=0.99$ 로서 매우 높은 값이었다. *Z. platypus* 영천집단은 나머지 *Z. platypus* 4개 집단과는 유전자들의 차이를 나타내고 있어 (Table 4) 나머지 집단과의 근연치가 $\overline{S}=0.812$ 로 *Z. platypus* 전체

집단의 평균 유전치($\overline{S}=0.899$)보다 낮았다.

피라미아과의 종간 근연치를 비교한 결과 *Zacco* 속의 *Z. temmincki* MM type과 MS type이 $\overline{S}=0.822$ 로 가장 가까웠으며 *Z. platypus*와 *O. bidens* 사이는 $\overline{S}=0.462$ 로 다음으로 가깝게 나타났다. *Z. platypus*는 같은 속의 *Z. temmincki* MM type과 MS type간의 평균 근연치가 각각 $\overline{S}=0.380$, $\overline{S}=0.419$ 로 나타나 *Z. temmincki* MS type과 더 유연관계가 높게 나타났으나 이들의 값은 속내 종간의 평균 근연치보다는 낮은 값을 나타내었다. *A. chinensis*와 *Z. temmincki* MM type이 $\overline{S}=0.165$ 로 유연관계가 가장 멀게 나타났다.

Table 4의 유전적 근연치를 이용하여 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 1과 같다.

Z. temmincki MM type과 MS type이 $\overline{S}=0.822$ 로 가장 가깝게 clustering되었으며 *Z. platypus*와 *O. bidens*는 $\overline{S}=0.462$ 에서 clustering되며 이들은 *Z. temmincki*와 $\overline{S}=0.385$ 에서 다시

Table 4. Regers' (1972) coefficients of genetic similarity (S) (above diagonal) and Nei's (1972) coefficients of genetic distance (D) (below diagonal) of the Subfamily Danioninae.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
<i>A. chinensis</i>																						
1. Suwon		0.927	0.903	0.869	0.877	0.247	0.258	0.254	0.260	0.272	0.188	0.189	0.195	0.189	0.188	0.152	0.144	0.275	0.275	0.280	0.278	0.279
2. Kosong	0.028		0.896	0.879	0.879	0.282	0.292	0.289	0.294	0.307	0.206	0.207	0.213	0.207	0.206	0.170	0.162	0.274	0.274	0.279	0.276	0.276
3. Nonsan	0.046	0.054		0.922	0.915	0.244	0.254	0.250	0.255	0.270	0.214	0.215	0.221	0.215	0.214	0.177	0.170	0.261	0.261	0.266	0.263	0.264
4. Kochang	0.059	0.052	0.024		0.955	0.246	0.257	0.254	0.258	0.272	0.207	0.208	0.216	0.209	0.207	0.171	0.168	0.253	0.253	0.259	0.256	0.257
5. Hungdok	0.053	0.051	0.032	0.008		0.243	0.254	0.251	0.257	0.265	0.208	0.209	0.216	0.209	0.208	0.173	0.164	0.253	0.253	0.258	0.255	0.257
<i>Z. platyptus</i>																						
6. Kapyong	1.441	1.308	1.477	1.500	1.525		0.953	0.957	0.951	0.805	0.387	0.388	0.388	0.388	0.387	0.356	0.347	0.457	0.457	0.458	0.452	0.461
7. Yangpyong	1.419	1.291	1.455	1.476	1.497	0.009		0.966	0.962	0.813	0.389	0.390	0.387	0.390	0.389	0.358	0.347	0.464	0.464	0.465	0.459	0.469
8. Kangnung	1.428	1.294	1.462	1.484	1.504	0.013	0.005		0.948	0.818	0.385	0.386	0.385	0.386	0.385	0.354	0.345	0.461	0.461	0.462	0.456	0.465
9. Yangyang	1.409	1.281	1.449	1.471	1.482	0.014	0.007	0.016		0.812	0.387	0.388	0.384	0.388	0.387	0.356	0.347	0.476	0.476	0.476	0.470	0.482
10. Yongchon	1.329	1.204	1.342	1.383	1.418	0.177	0.150	0.156	0.163		0.547	0.548	0.542	0.541	0.547	0.510	0.480	0.450	0.450	0.451	0.445	0.455
<i>Z. temminckii</i> MS type																						
11. Yangpyong	1.720	1.658	1.582	1.647	1.642	0.925	0.922	0.944	0.933	0.575		0.998	0.985	0.991	1.00	0.863	0.790	0.375	0.375	0.376	0.370	0.378
12. Inje	1.718	1.656	1.580	1.645	1.640	0.923	0.920	0.942	0.931	0.573	0.000		0.983	0.989	0.998	0.860	0.791	0.376	0.376	0.377	0.371	0.379
13. Yanggu	1.707	1.645	1.565	1.626	1.622	0.930	0.930	0.950	0.941	0.577	0.001	0.001		0.980	0.985	0.848	0.775	0.370	0.370	0.373	0.367	0.373
14. Yongchon	1.724	1.663	1.590	1.655	1.650	0.916	0.916	0.936	0.925	0.580	0.000	0.001	0.001		0.991	0.860	0.783	0.376	0.376	0.379	0.373	0.379
15. Namhae	1.720	1.658	1.582	1.647	1.642	0.925	0.922	0.944	0.933	0.575	0.000	0.000	0.001	0.000		0.863	0.790	0.375	0.375	0.376	0.370	0.378
<i>Z. temminckii</i> MM type																						
16. Yongchon	1.990	1.924	1.831	1.926	1.913	1.005	1.008	1.031	1.018	0.657	0.137	0.138	0.141	0.137	0.137		0.914	0.339	0.339	0.340	0.334	0.342
17. Namhae	2.010	1.938	1.832	1.918	1.922	1.037	1.039	1.053	1.042	0.716	0.234	0.232	0.239	0.235	0.234	0.081		0.331	0.331	0.332	0.326	0.335
<i>O. bidens</i>																						
18. Kapyong	1.303	1.311	1.369	1.420	1.419	0.777	0.761	0.769	0.744	0.789	0.981	0.979	0.990	0.973	0.981	1.088	1.103		1.000	0.992	0.995	0.992
19. Tanyang	1.303	1.311	1.369	1.420	1.419	0.777	0.761	0.769	0.744	0.789	0.981	0.979	0.990	0.973	0.981	1.088	1.103	0.000		0.992	0.995	0.992
20. Taedok	1.291	1.299	1.348	1.405	1.408	0.774	0.758	0.766	0.741	0.785	0.979	0.977	0.987	0.970	0.979	1.087	1.101	0.001	0.001		0.991	0.983
21. Wanju	1.298	1.307	1.364	1.415	1.415	0.784	0.768	0.776	0.751	0.797	0.990	0.988	0.999	0.981	0.990	1.099	1.114	0.001	0.001	0.001		0.986
22. Changsong	1.296	1.304	1.362	1.413	1.413	0.770	0.753	0.762	0.731	0.781	0.974	0.972	0.983	0.966	0.974	1.081	1.096	0.002	0.002	0.002	0.002	

Table 5. Roger's genetic similarity coefficients (above diagonal) and Nei's genetic distances (below diagonal) of the Subfamily Danioninae.

	1	2	3	4	5
1. <i>A. chinensis</i>		0.236	0.207	0.165	0.265
2. <i>Z. platypus</i>	1.413		0.419	0.380	0.462
3. <i>Z. temmincki</i> MS	1.647	0.860		0.822	0.375
4. <i>Z. temmincki</i> MM	1.920	0.961	0.186		0.335
5. <i>O. bidens</i>	1.359	0.767	0.981	1.096	

grouping되었다. *A. chinensis*는 나머지 2속 4종과는 $\bar{S}=0.235$ 로서 근연관계가 제일 낮게 clustering되었다.

고찰

1. 유전적 변이

피라미아과는 종전까지 4속 5종이 분류, 보고되어져 있었으나(Jeon, 1980), Yang과 Min

(1987)은 *Zacco* 속의 *Z. temmincki*에는 2종(MM type, MS type)의 sibling species가 존재함을 밝힘으로서 피라미아과는 4속 6종이 분류되었다. 피라미아과 중 *Squaliobarbus curriculus*를 제외한 3속 5종에 대한 유전적 변이 정도는 *Zacco* 속의 *Z. temmincki* 2종과 *O. bidens*의 평균 유전적 변이 정도(H)가 1% 이하로 ($\bar{H}=0.006-0.008$) 이는 Yang과 Min (1987)의 보고와 일치하며 타어류군의 평균 유전적 변이 정도

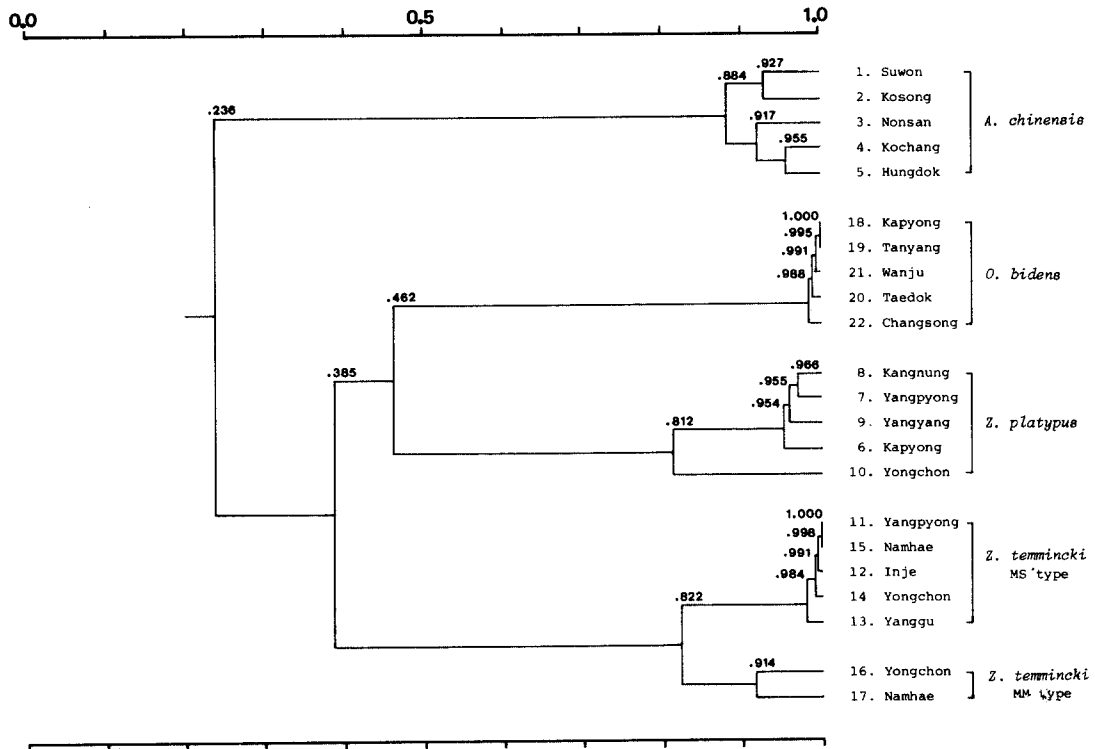


Fig. 1. Dendrogram based on Rogers' genetic similarity coefficients of the Subfamily Danioninae.

보다 현저하게 낮았다(Avise and Selander, 1972; Avise and Smith, 1974; Buth and Burr, 1978; Yang and Son, 1986; Yang *et al.*, 1989). 자연집단의 유전적 변이정도는 집단의 크기, 환경조건에 따른 서식처의 안정성, 자연선택의 작용, 분화의 시기 등 다양한 복합요인에 의해 결정된다고 보며 상기 3종의 경우 수계에 따른 생태적 서식공간의 협소와 집단의 크기에 관계가 있다고 사료된다(Soule, 1976).

거의 모든 수계에 서식, 분포하는 *Z. platypus*의 경우 동일 *Zacco*속의 타 2종보다는 유전적 변이가 높았으나 타어류군의 평균 유전적 변이값을 나타내었고(Selander, 1976), Yang 등(1984)의 결과와도 일치한다. 또한 동해안의 수계에 분포하는 *Z. platypus* 집단은 자연집단이 아니고 인위적으로 이식된 집단으로 알려져 있으며(Kim *et al.*, 1985), 이식집단의 경우 founder effect에 의하여 변이정도가 낮은 것이 일반적인 현상이나 이들 이식집단인 강릉, 양양집단은 유전적 변이가 각각 $H_D=0.077$ ($H_G=0.068$), $H_D=0.075$ ($H_G=0.083$)로 전집단의 평균값 이상을 나타내는 것으로 보아 이들 집단은 반복 이식이 되었거나 여러지역으로 부터 이식, 이주되어 현재의 유전적 변이정도를 보유하는 것으로 추측되어진다.

*A. chinensis*의 경우 이들의 분포지역은 동해안으로 유입하는 하천을 제외한 곳에 분포한다고 하였으나(Kim *et al.*, 1985) 본 연구에서는 동해안 수계인 강원도 고성에서도 *A. chinensis*가 분포함을 확인하였고 고성집단의 유전적 변이정도는($H_D=0.115$, $H_G=0.128$) 나머지 *A. chinensis* 집단들과 유사하였다. *A. chinensis*의 평균 유전적 변이정도는 $\bar{H}_D=0.100$, $\bar{H}_G=0.119$ 로 피라미아과 어류 중 가장 변이가 높게 나타났고 기존에 보고된 한국산 담수어류의 유전적 변이보다도 매우 높았으며(Yang and Park, 1982; Yang, 1983, 1985; Min and Yang, 1986; Yang and Son, 1986; Yang and Min, 1989a), 타 어류군을 포함한 타척추동물군의 평균 유전적 변이보다도 높은 값이었다(Selander, 1976; Ayala and Kiger, 1980). *Aphyocypris*속 어류가 높은 유전적 변이를 보유하는 원인에 대하여는 밝혀진 바 없

으나 여러 요인의 작용 중 피라미아과의 타속에 비해 오래전에 분화되었다고 추측되며 서식환경으로 볼 때 fine-grained species로서 집단이 비교적 안정된 상태라고 여겨진다.

2. 피라미아과 5종의 유연관계

*Zacco*속의 sibling species인 *Z. temmincki* MM type과 MS type은 2종을 구별 짓는 genetic marker(*Fum*, *Mdh-2*, *Pgm*)와 몇개의 유전자를 제외한 나머지 인자에서 서로 동일한 유전자를 공유하므로써 2종의 근연치가 $\bar{S}=0.822$ 로 유전적으로 가장 가깝게 나타났으며 이는 Yang과 Min(1987)의 결과와 일치한다. 그러나 *Z. platypus*는 동일 *Zacco*속인 *Z. temmincki* 2종보다 *Opsariichthys*속의 *O. bidens*와 유전적으로 더 가까웠으며($\bar{S}=0.462$), 이 같은 결과는 Lee 등(1989)이 조사한 피라미아과의 mtDNA분석 결과와도 일치하고 있다. 그러나 Yang 등(1984)은 *Zacco*속의 *Z. platypus*와 *Z. temmincki*가 $\bar{S}=0.629$ 로 유전적으로 가깝고 속이 다른 *O. bidens*가 *Zacco*속과 $\bar{S}=0.491$ 의 유연관계를 나타낸다는 결과와는 차이가 있었다. 이같은 차이는 Yang 등(1984)의 연구 결과에서 data분석시 *Ab-3*, *Ab-4*, *Pgm* 등에서 *Zacco*속 2종을 동일 유전자로 하였고, *Z. platypus*와 *O. bidens* 사이에서 *Pept-1*, *Pept-3*, *Pgm* 등을 다른 유전자로 기재하였으나 본 연구 결과와는 상치되며 Yang 등(1984)의 data를 재 분석한 결과 전산처리에 오류가 있었음이 확인되었다.

*Aphyocypris*속의 *A. chinensis*는 나머지 피라미아과 2속과는 유전적으로 근연관계가 제일 낮았으며($\bar{S}=0.235$) 이는 Yang 등(1984)과 Kim 등(1985)의 결과와도 일치하고 있다. 그러나 *Zacco*속의 *Z. temmincki* 2종과 *Z. platypus*와의 평균유전적 근연치는 $\bar{S}=0.400$ 으로 타어류의 중간 유전적 근연치보다 매우 낮게 나타났으며, *Z. platypus*와 *Opsariichthys*속의 *O. bidens*의 유연관계($\bar{S}=0.462$)보다도 낮은 값이었다.

피라미아과 어류의 계통적 분화연대 추정은 Table 5의 유전적 차이치(D)를 이용 Nei (1975)의 공식에 따라 계산하였다(Fig. 2).

피라미아과 어류는 기원종으로 부터

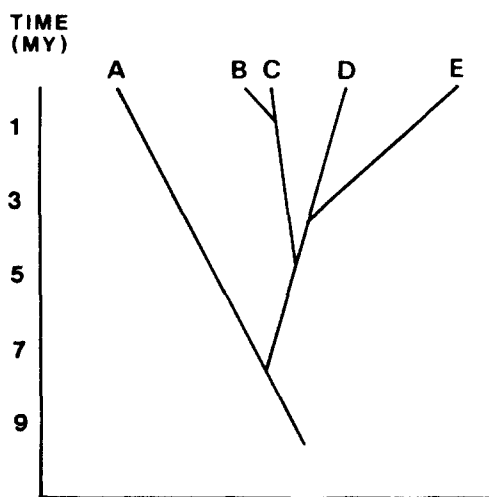


Fig. 2. Estimated divergent time based on genetic distance (Table 5) using Nei's formula (Nei, 1975). A: *A. chinensis*, B: *Z. temmincki* MM type, C: *Z. temmincki* MS type, D: *Z. platypus*, E: *O. bidens*

Aphyocypris 속과 나머지 2 속(*Zacco*, *Opsariichthys*) 이 약 760만년전에 분화되어 현재의 *A. chinensis*에 이르렀다고 추정되며 이는 Kim 등 (1985)의 형태분석에서도 *Aphyocypris* 속이 타 속과는 계통상 뚜렷한 차이가 있음을 밝힌 바 있다. Kim 등(1985)은 피라미아과 3속 4종에 대한 핵형분석에서 *Opsariichthys* 속을 제외한 나머지 2속 3종의 핵형이 $2n=48$, *Opsariichthys* 속의 *O. bidens*는 $2n=76$ 으로 보고하면서 *O. bidens*는 핵형의 구조나 조성으로 보아 centric fission에 의해 $2n=48$ 에서 $2n=76$ 의 방향으로 분화되었을 것이라 추측한 바 있으며 계통적으로는 *Zacco* 속과 *Opsariichthys* 속을 같은 group으로, *Aphyocypris* 속은 다른 한 group으로 구분한 바 있다. *Aphyocypris* 속과 분화되어 나온 *Zacco* 속은 약 480만년전에 *Z. platypus*에서 *Z. temmincki*가 1차적으로 분화되었고 100만년 후인 약 380만년 전에 *Z. platypus*에서 다시 2차적으로 *Opsariichthys* 속의 *O. bidens*가 chromosomal fission에 의해 분화된 것으로 사료된다. *O. bidens*는 염색체 재조합에 의해 새로운 niche에 적응하는 과정에서 생활습성, 식성등의 변화가 수반되어 *Zacco* 속과는 형태적으로 뚜렷한 차이를 보이며 현재에 이르렀다고 여겨진다. *Z. tem-*

mincki 2종은 *Z. platypus*에서 *Z. temmincki* MS type이 먼저 분화된 후 약 90만년전에 상류성 환경(온도, 산소용존량, 수류 등)에 적응된 *Z. temmincki* MM type이 분화되었으리라 추측된다(Yang and Min, 1987).

인용문헌

- Avise, J. C. and R. K. Selander, 1972. Evolutionary genetics of cavedwelling fishes of the genus *Astyanax*. *Evolution* **26**:1-19.
- Avise, J. C. and M. H. Smith, 1974. Biochemical genetics of sunfish. I. Geographic variation and subspecific intergradation in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Evolution* **28**:42-56.
- Ayala, F. J. and J. A. Kiger, 1980. Modern Genetics, Benjamin/Cummings Publishing Co., California, pp. 621-623.
- Buth, D. G., 1984a. Allozymes of the Cyprinid Fishes: Variation and Application, In: Evolutionary Genetics of Fishes (Turner, B. J., ed.). Plenum Press, New York, pp. 561-590.
- Buth, D. G., 1984b. The application of electrophoretic data in systematic studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **15**:501-522.
- Buth, D. G. and B. M. Burr, 1978. Isozyme variability in the cyprinid genus *Camptostoma*. *Copeia* **1978**: 198-331.
- Crabtree, C. B. and D. G. Buth, 1987. Biochemical systematics of the catostomid genus *Catostomus*: Assessment of *C. clarki*, *C. plebeias* and *C. discobolus* including the zuni sucker, *C. d. yarvowi*. *Copeia*, **1987**:843-854.
- Dowling, T. E. and W. M. Brown, 1989. Allozymes, mitochondrial DNA, and levels of phylogenetic resolution among four minnow species (*Notropis*: Cyprinidae). *Syst. Zool.* **38**:126-143.
- Farris, J. S., 1981. Distance Data in Phylogenetic Analysis, In: Advances in Cladistics (Funk, V. A. and D. R. Brooks, eds.). The New York Botanical Garden, Bronx, New York, pp. 3-23.
- Farris, J. S., 1986. Distances and statistics. *Cladistics* **2**:144-157.
- Felsenstein, J., 1986. Distance methods: a reply to Farris. *Cladistics*, **2**:130-143.
- Harris, H., 1967. Enzyme Variation in Man: Some General Aspects, In: Proceedings of the Third International Congress of Human Genetics (Crow, J. F. and J. V. Neel, eds.). Johns Hopkins Press, Baltimore, pp. 207-214.
- Jeon, S. R., 1980. Studies on the distribution of fres-

- h-water fishes from Korea. Ph. D. Thesis, JoongAng Univ. pp. 7-90.
- Kang, D. C., C. S. Chang, and S. Y. Yang, 1987. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) III. The effect on reaction temperature on the kinetic mode of isolated sMDH isozymes from *Zacco temmincki*. *Korean J. Zool.* **30**:219-230.
- Kim, J. and M. A. Burgman, 1988. Accuracy of phylogenetic estimation methods under unequal evolutionary rates. *Evolution*, **42**:596-602.
- Kim, I. S., G. Y. Lee, and S. Y. Yang, 1985. Systematic study of the subfamily Leuciscinae (Cyprinidae) from Korea. *Bull. Kor. Fish Soc.* **18**:381-400.
- Lee, H. Y., J. W. Cho, and S. Y. Yang, 1986. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) II. Chromosome analysis of two types of *Mdh*. *Korean J. Zool.* **29**:208-214.
- Lee, H. Y., C. S. Chang, and C. S. Park, 1989. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) VIII. Mitochondrial DNA analysis of the subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae). *Korean J. Genet.* (submitted).
- 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 temmincki*. VII. Variation of mitochondrial DNA between 2 types of *Zacco temmincki*. *Korean J. Zool.* **31**:236-242.
- Lewontin, R. C. and J. L. Hubby, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **54**:595-609.
- 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.
- 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.
- Rholf, F. J. and M. C. Wooten, 1988. Evolution of the restricted maximum-likelihood method for estimating phylogenetic trees using simulated allele-frequency data. *Evolution* **42**:581-595.
- 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.
- Selander, R. K. and S. Y. Yang, 1969. Protein polymorphism and genic heterozygosity in a wild population of the house mouse (*Mus musculus*). *Genetics* **63**:653-667.
- Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal, 1973. *Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman Co., San Francisco.
- Soule, M., 1976. Allozyme Variation: Its Determinants in Space and Time, In: *Molecular Evolution* (Ayala, F. J., ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 60-70.
- Swofford, D. L. and R. B. Selander, 1981. BIOSYS-1: A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics. *J. Heredity* **72**:281-283.
- Yang, S. Y., 1983. Genic variation in natural populations of the subfamily Acheilognathinae (Cyprinidae) in Korea. *Ann. Rep. Biol. Res., Jeonbug Nat'l. Univ.* **4**:11-19.
- Yang, S. Y., 1985. A study on the systematic status of Korean Crucian Carp (*Carassius auratus*). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **6**:115-161.
- Yang, S. Y., S. R. Jeon, I. Y. Choo, and J. H. Kim, 1984. Genetic variation and systematics in the subfamily Danioninae (Fishes). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **5**:111-118.
- Yang, S. Y. and M. S. Min, 1987. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) IV. Genetic variation, morphology and artificial hybridization. *Korean J. Zool.* **30**:417-431.
- Yang, S. Y. and M. S. Min, 1988. Sympatry and species status of *Moroco lagowskii* and *M. oxycephalus* (Cyprinidae). *Korean J. Zool.* **31**:56-61.
- Yang, S. Y. and M. S. Min, 1989a. Genic variation and speciation of fishes of the genus *Moroco* (Cyprinidae). *Korean J. Zool.* **32**:75-83.
- Yang, S. Y. and M. S. Min, 1989b. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) I. Geographic distribution and seasonal variation of two allelomorphs of MDH. *Korean J. Zool.* **32**:232-241.
- Yang, S. Y. and B. S. Park, 1982. Genic variation and systematics of the subfamily Acheilognathinae (Cyprinidae) in Korea. *Ann. Rep. Biol. Res., Jeonbug Nat'l. Univ.* **3**:25-32.
- Yang, S. Y., B. S. Park, and J. H. Kim, 1989. Systematic studies of the genus *Cobitis* (Pisces: Cobitidae) in Korea. I. Geographic variations and classification of *Cobitis koreensis*. *Korean J. Zool.* **32**:242-251.
- Yang, S. Y. and Y. M. Son, 1986. Genetic and morphological variation of the genus *Liobargus* in Korea. *Korean J. Syst. Zool.* **2**:1-12.

(Accepted August 25, 1989)

Evolutionary Study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) IX. Phylogeny of the Subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae)

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

Using starch gel electrophoresis of proteins, we examined variation at 24 genetic loci in five species (three genera) of the Subfamily Danioninae (Class Pisces, Family Cyprinidae) inhabiting in Korea. The average degree of genic variation of the Subfamily Danioninae ($\bar{A} = 1.8$, $\bar{P} = 16.5\%$, $\bar{H}_D = 0.043$, $\bar{H}_G = 0.049$) was far less than that of the fresh water fishes in general. But the degree of genic variation of *A. chinensis* ($\bar{P} = 32.5\%$, $\bar{H}_D = 0.100$, $\bar{H}_G = 0.119$) was higher than other fishes and the value of *O. bidens* was the lowest ($\bar{P} = 4.2\%$, $\bar{H}_D = 0.008$, $\bar{H}_G = 0.008$). The average genetic similarities among the populations in each species of *A. chinensis*, *Z. platypus*, *Z. temmincki* MS type, *Z. temmincki* MM type, and *O. bidens* were $\bar{S} = 0.902$, 0.899 , 0.990 , 0.914 , and 0.992 , respectively. The average genetic similarity of *A. chinensis* to the other species was the lowest value of $\bar{S} = 0.235$, whereas that between two species of *Z. temmincki* was the highest of $\bar{S} = 0.822$. Genetically, *Z. platypus* is more similar to *O. bidens* than two species of the same genus *Zacco*. Based on estimated divergent time of 5 species of the Subfamily Danioninae (7.6 to 0.9 million years) it is assumed that they are speciated during late Pliocene to middle Pleistocene epoch.