

D. melanogaster species group의 발생단계에 따른 단백질의 변화와 유전적 유연관계 Ⅲ. 효소분석

이택준 · 홍경자

중앙대학교 생물학과

한국산 *Drosophila melanogaster* species group 8종의 생화학적 유연관계를 조사하기 위하여 3령기 유충, 말기 번데기, 성체의 세 발생단계에서 각각 효소 분석을 실시하였다. Rogers의 공식에 의해 각 발생단계 별로 8종간의 유전적 유사도를 계산하고 그 값을 근거로 UPGMA법에 의한 dendrogram을 작성하였다. 발생단계에 따라 관찰된 효소 allele의 빈도는 큰 차이를 나타냈는데 이는 효소의 활성도나 유전자 발현의 발생단계별 차이로 생각되었다. 이러한 발생단계별 효소분석 결과의 차이에도 불구하고 세 발생단계에서 모두 같은 pattern의 dendrogram이 얻어졌다. 따라서 효소 분석은 성체뿐만 아니라 유충이나 번데기와 같은 초기발생단계를 재료로 취할 때에도 중간 유연관계의 분석에 유용한 분석법이 될 것으로 생각할 수 있었다. 세 발생단계에서 효소분석을 통해 얻어진 결과로 볼 때 *D. melanogaster* species group 8종은 크게 두개의 계통으로 나뉘었는데 *D. melanogaster*와 *D. simulans*, *D. lutescens*가 한 계통에 속했고 *D. suzukii*와 *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa*가 다른 한 계통에 속하고 있는 것으로 나타났다.

KEY WORDS: *D. melanogaster* species group, Allozyme analysis, Developmental stage.

D. melanogaster species group은 초파리 속 중 *Sophophora*아속에 속하는 7개의 species group중의 하나로 전세계적으로는 150종(Lemeunier et al., 1986)이 알려졌고 국내에 있어서는 12종(Lee, 1993)의 초파리가 이 species group에 속하고 있는 것으로 보고되어 있다. 과거에는 형태적, 생태적 차이에 의해 주로 연구되어 오던 종분화 문제가 생화학적 실험 방법의 발달로 인해 분자수준에서 다루려고 하는 시도가 활발히 이루어지고 있다. Lewontin과 Hubby(1966)가 동위효소를 분석한 결과 비근연종보다 근연종간에 더 큰 유사성을 보인다는 결과를 발표한 이후 동위효소분석은 근연종간의 유연관계를 구명하고자 하는 연구에 널리 이용되

고 있다. Gonzalez 등(1983)은 *D. obscura* species group에 속하는 종들에 대한 동위효소 분석을 실시한 바 있으며 Ayala 등(1974)은 *D. willistoni* species group에 대해 동위효소 분석을 실시한 바 있다. *D. melanogaster* species group의 동위효소 분석을 통한 유연관계를 연구한 경우로는 Ohnishi 등(1982)과 Eisses 등(1979), Yang 등(1972)이 각각 *D. montium* subgroup, *D. melanogaster* subgroup, *D. bipectinata* subgroup 등에 대해 연구한 바 있다. 한국의 경우 Lee(1988)에 의하여 *D. auraria* complex에 대한 동위효소 분석이 실시된 바 있으며 Lee와 Song(1992)은 *Drosophila* 아속에 속하는 초파리 16종을 대상으로 동위효소 분석을 실시하여 중간 유연관계를 밝힌 바 있고 Kim과 Lee(1991)는 *D.*

*본 연구는 한국 과학재단 연구비(No. 921-0400-038-1, 1992)지원에 의해 수행된 논문중의 일부임.

melanogaster species group에 속하는 초파리 8종의 중간 유연관계를 구명한 바 있다.

한편, 발생단계에 따른 효소의 전기영동상의 차이나 활성도의 변화에 대한 연구도 실시되고 있는데 Johnson(1966)은 *D. melanogaster*와 *D. ananassae*의 alkaline phosphatase에 대한 전기영동을 실시하여 발생단계에 따른 zymogram의 차이를 비교한 바 있으며, Pasteur와 Kastritsis(1971)는 *D. pseudoobscura*의 발생시기와 기관별로 Aph와 esterase의 영동상을 비교하였고 Triantaphyllidis(1973)는 *D. melanogaster*와 *D. simulans*에 있어서의 발생단계에 따른 Aph의 변화를 고찰하여 번데기 시기에 특정 band가 나타남을 보고하였다. McDonald와 Avise(1976)는 *Sophophora*아속에 속하는 초파리 9종에 대하여 α -Gpdh와 Adh의 발생단계별 효소 활성도의 변화 pattern을 조사하여 종간의 차이를 관찰하였다. 국내에 있어서 초파리를 대상으로 발생에 따른 효소의 변화를 분석한 발생유전학적 연구로는 Lee와 Ahn(1990)의 *D. auraria* complex 3종에 대한 esterase의 전기영동상의 비교가 이루어져 있을 뿐, 이 분야의 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 *D. melanogaster* species group에 속하는 8종의 초파리를 대상으로 각 발생단계에 대한 효소 분석을 실시하여 이들 종간의 유연관계를 분석하여 발생단계별로 얻어진 결과를 비교하고 발생학적인 측면을 고려하여 종합적인 해석으로 종간의 유연관계를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 *D. melanogaster* species group 8종 및 그 채집지역은 다음과 같다.

D. melanogaster 경기도 김포; *D. simulans* 경남 김해; *D. lutescens* 경기도 소리산; *D. suzukii* 강원도 치악산; *D. auraria* 경기도 김포; *D. bauraria* 경기도 소리산; *D. triauraria* 경기도 소리산; *D. rufa* 전남 완도.

채집된 초파리는 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 60%의 항온실에서 당밀배지로 사육하였다. 채집한 초파리를 20계통 이상 유지하면서 각 계통에서 3령기 유충, 말기 번데기 및 4일된 성체별로 재료를 취하였다. 동위효소 분석은 starch gel 전기영동과 thin layer agar gel 전기영동에 의하여 *Acp*, *Ao*, *Aph*, *Fum*, α -*Gpdh*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Sdh*, *Xdh*, *Odh*, *Est- α* , 및 *Est- β* 의 12개 효소 좌위를 분석하였다. 이때 starch gel 전기영동법은 Shaw와 Prasad(1970), Selander 등(1971) 및 Ayala와 Powell(1972)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. Starch gel은 12.5%의 gel을 사용하였으며 sample은 초파리 한개체 씩을 grinding well에 넣고 일정량의 증류수를 첨가한 후 몸 전체를 homogenate하여 filter paper strip (Wattman No.2)에 흡수시켜 사용하였고 전기영동은 4°C 의 mini cold lab내에서 실시하였다. Thin layer agar gel 전기영동은 Ogita(1962)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. Gel은 agar 0.8%, PVP 0.2%의 gel을 사용하였으며 sample 처리는 starch gel 전기영동과 동일하게 하였다. 동위효소 분석에 의한 종간의 유전적 유연관계는 Rogers(1972)의 genetic similarity 값으로 계산하였다.

결과

D. melanogaster species group 8종의 유전적 유연관계를 알아보기 위하여 3령기 유충, 말기 번데기, 4일된 성체등의 발생단계별로 동위효소분석을 실시하여 각 효소별 allele의 빈도를 측정하였다. 각 발생단계별로 분석된 효소와 각 allele 빈도는 Table 1, 2, 3과 같다. 각 allele은 *D. melanogaster*에서 가장 높은 빈도로 나타난 allele의 이동거리를 1로한 상대이동거리로 나타내었다. *Acp*의 경우 *D. melanogaster*는 유충에서만 2개의 allele로 monomorphic하였고 번데기나 성체단계에서는 monomorphic하였으며 *D. simulans*는 세 발

Table 1. Allelic frequencies in the eight species larvae of the *D. melanogaster* species group

Gene		<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
<i>AcpH</i>	0.90				0.450		0.048		
	0.95	0.375							
	1.00	0.625	1.000	0.656	0.550	0.306	0.405	0.333	0.458
	1.15			0.344		0.694	0.548	0.667	0.542
	P.H.	0.468	0.000	0.452	0.495	0.424	0.534	0.444	0.496
<i>Ao</i>	0.75				0.382				
	0.95				0.618	0.600	0.500	0.404	0.500
	1.00	1.000	0.675	0.233					
	1.05		0.325	0.767		0.400	0.500	0.596	0.500
	P.H.	0.000	0.438	0.358	0.472	0.480	0.500	0.482	0.500
<i>Aph</i>	0.70		0.089						
	0.75				0.188	0.077	0.111		
	0.85		0.471						
	0.90				0.374	0.077	0.250	0.500	
	0.95			0.367	0.344	0.577	0.833	0.667	
	1.00	0.731	0.440	0.167	0.094	0.269	0.056	0.083	0.500
	1.10	0.269		0.466					
	P.H.	0.393	0.577	0.620	0.698	0.583	0.291	0.486	0.500
	<i>Fum</i>	0.75					1.000	1.000	1.000
1.00		1.000	1.000	0.600					
1.25				0.400	1.000				
P.H.		0.000	0.000	0.480	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
α - <i>Gpdh</i>		0.70	0.357				1.000	1.000	1.000
	1.00	0.643	1.000	1.000					
	1.20				1.000				
	P.H.	0.459	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	<i>Mdh-1</i>	1.00	0.750	0.750	1.000				
1.10		0.250	0.250						
1.15					1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
P.H.		0.375	0.375	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-2</i>		1.00	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Sdh</i>	0.35				0.500				
	0.55				0.300				
	0.85					0.500	0.500	0.500	
	1.00	1.000	1.000	1.000	0.200				
	1.05					0.500	0.500	0.500	
	1.10								1.000
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.620	0.500	0.500	0.500	0.000
<i>Xdh</i>	0.90				1.000				1.000
	1.00	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	1.000	
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Odh</i>	0.40				0.167				
	0.45				0.500				

Table 1. Continued

Gene	<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>	
	0.55			0.333					
	0.95				0.500	0.500	0.500		
	1.00	1.000	0.150					0.500	
	1.05		0.850	1.000		0.500	0.500	0.500	
	P.H.	0.000	0.255	0.000	0.611	0.500	0.500	0.500	
Est- α	0.80					0.125			
	1.00	1.000	1.000	0.500		0.750		0.500	
	1.10				0.062	0.125	0.375	0.500	
	1.15				0.438		0.125		
	1.25				0.500		0.500		
	1.30			0.500	1.000				
	P.H.	0.000	0.000	0.500	0.000	0.554	0.406	0.594	0.500
Est- β	1.00	1.000	1.000	0.250					
	2.60				0.438		0.250		
	2.85		0.750	0.583	0.562	0.312	0.750	0.083	
	0.10					0.688			
	3.35				0.417			0.917	
	P.H.	0.000	0.000	0.375	0.486	0.492	0.429	0.375	0.152

P.H.: Proportion of heterozygosity

Table 2. Allelic frequencies in the eight species pupae of the *D. melanogaster* species group

Gene	<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>	
<i>Acph</i>	0.85							0.150	
	0.90			0.200			0.222		
	0.95		0.313		0.111	0.259	0.389	0.150	
	1.00	1.000	0.687	0.750	0.889	0.741	0.389	0.700	
	1.15			0.050					
	P.H.	0.000	0.000	0.430	0.395	0.197	0.384	0.648	0.255
<i>Ao</i>	0.65			0.083					
	0.75			0.251					
	0.95				0.500	0.500	0.500		
	1.00	1.000	0.231	0.237	0.583			1.000	
	1.05		0.769	0.763	0.083	0.500	0.500		
	P.H.	0.000	0.355	0.362	0.584	0.500	0.500	0.000	
<i>Aph</i>	0.70		0.039						
	0.75	0.063	0.385		0.056		0.091	0.227	
	0.90			0.667	0.118	0.452	0.182	0.773	
	0.95		0.389	0.333	0.382	0.548	0.546		
	1.00	0.812	0.576	0.500	0.441		0.181		
	1.10	0.125	0.111						
	P.H.	0.321	0.518	0.586	0.444	0.643	0.495	0.628	0.351
<i>Fum</i>	0.75				1.000	1.000	1.000	1.000	
	1.00	1.000	1.000	0.882	1.000				

Table 2. Continued

Gene		<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
	1.25			0.118					
	P.H.	0.000	0.000	0.208	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>α-Gpdh</i>	0.70	0.100				1.000	1.000	1.000	1.000
	1.00	0.900	1.000	1.000	1.000				
	P.H.	0.180	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-1</i>	1.00	0.889	0.750	1.000					
	1.10	0.111	0.250						
	1.15				1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	P.H.	0.197	0.375	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-2</i>	1.00	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Sdh</i>	0.35				0.667				
	0.55				0.333	0.500	0.500	0.500	
	1.00	1.000	1.000	1.000		0.500	0.500	0.500	
	1.10								1.000
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.444	0.500	0.500	0.500	0.000
<i>Xdh</i>	0.90				1.000		0.200		1.000
	1.00	1.000	1.000	1.000		1.000	0.800	1.000	
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.320	0.000	0.000
<i>Odh</i>	0.40				0.167				
	0.45				0.500				
	0.55				0.167				
	0.65				0.166				
	0.95			0.813		0.500	0.500	0.500	0.500
	1.00	0.556	0.857	0.187					
	1.05	0.444	0.143			0.500	0.500	0.500	0.500
	P.H.	0.494	0.245	0.304	0.667	0.500	0.500	0.500	0.500
<i>Est-α</i>	1.00	0.938	1.000			0.125	0.813		0.333
	1.10					0.125	0.187	0.500	0.667
	1.15					0.188			
	1.25					0.562		0.500	
	1.30	0.062		1.000	1.000				
	P.H.	0.116	0.000	0.000	0.000	0.618	0.304	0.500	0.444
<i>Est-β</i>	1.00	0.813	1.000	0.063					
	1.20	0.187							
	2.50						0.625		
	2.60					0.250	0.375		
	2.85			0.687	0.250	0.500	0.250	0.438	0.167
	3.10					0.250	0.125	0.187	
	3.35			0.250	0.750				0.833
	P.H.	0.304	0.000	0.462	0.375	0.625	0.531	0.633	0.278

P.H.: Proportion of heterozygosity

Table 3. Allelic frequencies in the eight species adults of the *D. melanogaster* species group

Gene	<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
<i>Acph</i>	0.75		0.077					
	0.85					0.042		
	0.90					0.385	0.458	0.333
	0.95			0.269				0.192
	1.00	1.000	1.000	0.654	0.788	0.577	0.458	0.542
	1.10				0.111	0.039	0.042	0.125
	1.15				0.111			
	P.H.	0.000	0.000	0.494	0.354	0.517	0.577	0.580
<i>Ao</i>	0.65			0.111				
	0.75			0.389				
	0.95			0.389	0.500	0.583	0.500	
	1.00	1.000	0.885	0.818	0.111			0.750
	1.05		0.115	0.182		0.500	0.417	0.500
	P.H.	0.000	0.204	0.298	0.673	0.500	0.486	0.500
<i>Aph</i>	0.70		0.150					
	0.75	0.083				0.192	0.227	0.167
	0.80		0.600					
	0.85				0.556	0.667	0.616	0.136
	0.90			0.115	0.389	0.292	0.192	0.591
	0.95	0.250	0.250	0.577	0.055	0.041		0.046
	1.00	0.667		0.308				0.250
	P.H.	0.485	0.555	0.559	0.537	0.468	0.547	0.579
<i>Fum</i>	0.75				1.000	1.000	1.000	1.000
	1.00	1.000	1.000	0.250				
	1.25			0.750	1.000			
	P.H.	0.000	0.000	0.373	0.000	0.000	0.000	0.000
α - <i>Gpdh</i>	0.55							0.188
	0.70	0.429			1.000	1.000	1.000	0.750
	1.00	0.571	1.000	1.000				0.062
	1.20				1.000			
	P.H.	0.490	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-1</i>	1.00	0.778	0.125					
	1.10	0.222	0.875	1.000				
	1.15				1.000	1.000	1.000	1.000
	P.H.	0.345	0.219	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-2</i>	1.00	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Sdh</i>	0.35			0.625				
	0.55			0.125				
	0.85			0.250	0.500	0.500	0.500	0.500
	1.00	0.875	1.000	1.000				
	1.05				0.500	0.500	0.500	0.500
	1.10	0.125						
	P.H.	0.219	0.000	0.000	0.531	0.500	0.500	0.500
<i>Xdh</i>	0.90			1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Table 3. Continued

Gene		<i>mel</i>	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
	1.00	1.000	1.000	1.000					
	P.H.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Odh</i>	0.40				0.125				
	0.45				0.750				
	0.55				0.125				
	0.95				0.500	0.500	0.500		
	1.00	0.833	1.000	1.000					0.500
	1.05	0.167				0.500	0.500	0.500	0.500
	P.H.	0.278	0.000	0.000	0.406	0.500	0.500	0.500	0.500
<i>Est-α</i>	0.85						0.071		
	1.00	0.833	0.222			0.125	0.571		
	1.10					0.125	0.287	0.091	0.250
	1.15					0.188	0.071	0.273	0.750
	1.25					0.500		0.636	
	1.30	0.167	0.778	1.000	1.000	0.062			
	P.H.	0.278	0.345	0.000	0.000	0.679	0.582	0.513	0.375
<i>Est-β</i>	1.00	0.833	1.000						
	1.20	0.167							
	2.00			0.633					
	2.50			0.367			0.583		
	2.60					0.166		0.500	
	2.85					0.417	0.250	0.300	
	3.10					0.417		0.100	
	3.35				1.000		0.167	0.100	1.000
	P.H.	0.278	0.000	0.465	0.000	0.625	0.570	0.640	0.000

P.H.: Proportion of heterozygosity

생단계에서 모두 monomorphic하였으며 나머지 6종에서는 유충, 번데기, 성체단계에서 모두 polymorphic하였다. *Fum*은 *D. lutescens*의 세 발생단계에서 2개의 allele이 검출되었고 *D. melanogaster*와 *D. simulans*, *D. suzukii*가 같은 allele로 monomorphic하였으며 *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa*의 4종이 서로 같은 allele로 monomorphic하였다. *Mdh*-2는 8종의 세 발생단계에서 모두에서 같은 allele로 monomorphic하였으며 *Xdh*는 *D. biauraria*의 번데기 단계에서만 2개의 allele이 검출되어 polymorphism을 보였으나 나머지 7종의 세 발생단계와 *D. biauraria*의 유충과 성체 단계에서는 monomorphic하였다. *Esterase- α* 는 *D. auraria*의 성체단계에서 가장 많은 allele이 검출되었으며

*D. lutescens*와 *D. suzukii*의 성체는 같은 allele로 monomorphic하였고 *D. melanogaster* 유충, *D. simulans*의 유충과 번데기에서 monomorphic하였으며 *D. suzukii*와 *D. montium* group에 속하는 4종은 세 발생 단계에서 모두 높은 polymorphism을 나타내었다. 효소의 분석결과를 토대로 genetic similarity (Rogers')를 구한 결과는 Table 4, 5, 6과 같다. 유충단계에서는 *D. auraria*와 *D. triauraria*사이 유사도 0.937로 가장 가까운 유연관계를 나타내었으며 *D. auraria*와 *D. biauraria*(S=0.899), *D. biauraria*와 *D. triauraria*(S=0.861), *D. melanogaster*와 *D. simulans*(S=0.766) 사이에서도 가까운 유연관계를 나타내었고 *D. simulans*와 *D. rufa*가 유전적 유사도 0.283으로 가장 먼 유연관계를

Table 4. Genetic relationships among the eight species larvae of the *D. melanogaster* species group by Rogers' similarity

Species	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
<i>mel</i>	0.766	0.572	0.339	0.350	0.361	0.324	0.283
<i>sim</i>		0.727	0.405	0.353	0.348	0.327	0.292
<i>lut</i>			0.425	0.445	0.431	0.462	0.307
<i>suz</i>				0.427	0.404	0.421	0.478
<i>aur</i>					0.869	0.937	0.628
<i>bia</i>						0.861	0.614
<i>tri</i>							

Table 5. Genetic relationships among the eight species pupae of the *D. melanogaster* species group by Rogers' similarity

Species	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
<i>mel</i>	0.844	0.744	0.478	0.395	0.426	0.379	0.410
<i>sim</i>		0.796	0.418	0.351	0.434	0.263	0.253
<i>lut</i>			0.512	0.483	0.447	0.624	0.277
<i>suz</i>				0.414	0.537	0.477	0.584
<i>aur</i>					0.840	0.910	0.600
<i>bia</i>						0.834	0.703
<i>tri</i>							

Table 6. Genetic relationships among the eight species adults of the *D. melanogaster* species group by Rogers' similarity

Species	<i>sim</i>	<i>lut</i>	<i>suz</i>	<i>aur</i>	<i>bia</i>	<i>tri</i>	<i>ruf</i>
<i>mel</i>	0.743	0.623	0.390	0.285	0.305	0.278	0.315
<i>sim</i>		0.726	0.514	0.240	0.259	0.234	0.301
<i>lut</i>			0.403	0.256	0.280	0.257	0.325
<i>suz</i>				0.495	0.360	0.475	0.421
<i>aur</i>					0.899	0.937	0.684
<i>bia</i>						0.865	0.683
<i>tri</i>							

보였다. 번데기 시기에서도 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 유전적 유사도 0.910으로 가장 가까운 유연관계를 보였으며 *D. auraria*와 *D. biauraria*, *D. biauraria*와 *D. triauraria*사이의 유사도도 각각 0.840, 0.834로 높게 나타났다. *D. melanogaster*와 *D. simulans*도 유사도 0.844로 높은 유연관계를 보였고 *D. simulans*와 *D. rufa*가 유사도 0.253으로 가장 먼 유연관계를 보였다. 성체단계에 대한 효소

분석에서 얻어진 유전적 유사도도 유충이나 번데기 단계에서 얻어진 결과와 같은 경향을 보여 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 가장 가까운 유연관계($S=0.937$)를 보였고 *D. auraria*와 *D. biauraria*($S=0.899$), *D. biauraria*와 *D. triauraria*($S=0.865$), *D. melanogaster*와 *D. simulans*($S=0.743$)도 가까운 유연관계를 보였다. Rogers의 유전적 유사도를 근거로 UPGMA법으로 작성한 dendrogram은 Fig.

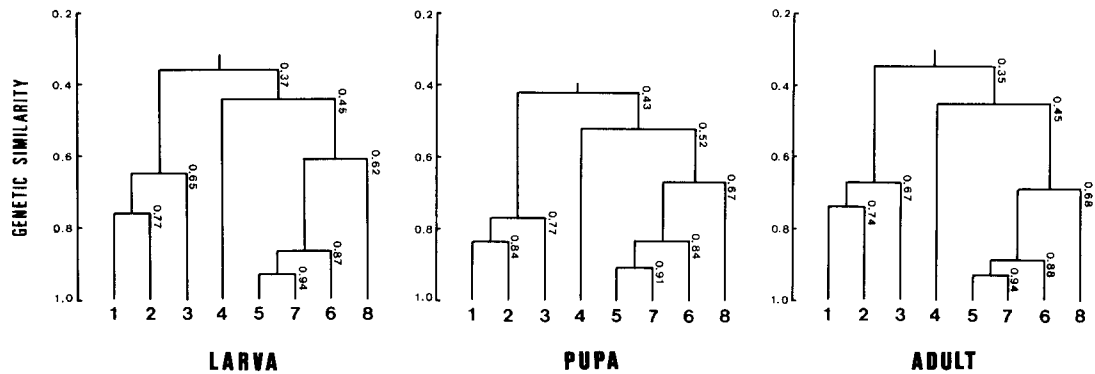


Fig. 1. Dendrograms for three developmental stages showing the genetic relationships of the eight species of the *D. melanogaster* species group, based on data of genetic similarity obtained by isozyme analysis.

1. *D. melanogaster* 2. *D. simulans* 3. *D. lutescens* 4. *D. suzukii* 5. *D. auraria* 6. *D. biauraria* 7. *D. triauraria* 8. *D. rufa*

1과 같다.

세 발생단계에서 각 종간에 얻어진 유전적 유사도는 다소간의 차이를 보였으나 세 발생단계에서 모두 같은 pattern의 dendrogram이 작성되었다. *D. melanogaster*와 *D. simulans*가 묶인 후 *D. lutescens*가 묶인 하나의 group이 형성되었고 다른 쪽에는 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 가장 먼저 묶이고 그 후에 *D. biauraria*와 *D. rufa*가 순차적으로 묶인 하나의 group이 형성되었고 *D. suzukii*는 근소한 유사도의 차이로 *D. auraria* complex쪽에 묶였다.

고찰

D. melanogaster species group은 계통분류학상 노랑초파리아속에 속하는 종군으로 11개의 subgroup으로 나누고 있는데 본 실험에 사용된 초파리 8종중 *D. melanogaster*와 *D. simulans*는 *D. melanogaster* subgroup에 속하고 *D. lutescens*는 *D. takahashii* subgroup에, *D. suzukii*는 *D. suzukii* subgroup에, *D. auraria*와 *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa*는 모두 *D. montium* subgroup에 속한다. Ayala 등 (1970)은 *D. willistoni* subgroup의 동위효소

를 분석하여 종간 비교를 통하여 얻어진 genetic similarity로 종분화과정을 설명한 바 있고 Tsakas와 Tsakas(1984)는 *D. melanogaster* species group 18종의 동위효소를 조사하여 계통수를 작성하고 그 결과가 수컷 생식기 형태에 따른 분류와 일치한다고 한 바 있으며 Eisses 등(1979)은 *D. melanogaster* group 8종에 대한 동위효소 분석을 실시하여 얻어진 계통수가 polytene chromosome band sequences와 일치된 결과를 보인다고 보고한 바 있다. Ohnishi 등(1982)은 *D. montium* subgroup 21종에 대해 동위효소 분석과 단백질 분석을 통해 종간 유연관계를 비교한 결과 효소 분석에서 얻어진 변이는 2DE를 이용한 단백질 분석에서 얻어진 변이보다 적게 나타남을 보고한 바 있다. 국내에서도 Kim과 Lee(1991)에 의해 동위효소 분석을 통한 *D. melanogaster* species group의 계통이 보고된 바 있으며, Lee와 Ahn(1990)은 *D. auraria* complex 3종(*D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*)의 발생단계에 따른 Esterase의 영동상과 그 density의 차이를 비교하고 형태학적으로 가까운 종일수록 발생에 따른 변화양상도 유사하다고 논의한 바 있다. *D. melanogaster* species group 8종에 3령기 유충, 말기 번데기, 성체의 세 발생단계에 대하여 종간의 유전적 유사도를 구하고 UPGMA법에 의해 dendrogram

을 작성한 결과 세 발생단계에서 모두 같은 pattern의 dendrogram이 얻어졌다. *D. melanogaster*와 *D. simulans*가 묶이고 그곳에 *D. lutescens*가 묶인 하나의 group이 형성되었고 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 묶인 후 *D. bauraria*와 *D. rufa*가 순차적으로 묶이고 이어서 *D. suzukii*가 묶여 다른 하나의 group을 형성하여 *D. melanogaster* species group 8종은 크게 두개의 group으로 나눌 수 있었다. 이러한 결과는 단백질 분석이나 효소 분석에서 얻어진 이전의 결과들(Kim and Lee, 1991; Lee *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1994)에서 얻어진 유연관계와 유사한 경향을 보였다. 다만 dendrogram상에서 *D. suzukii*가 묶이는 pattern에서 다소의 차이를 보였는데 이는 *D. suzukii*가 형태학적으로나 유전학적으로 *D. melanogaster* subgroup이나 *D. montium* subgroup과 다른 독립된 계통에 속하는 종이기 때문인 것으로 본다.

본 실험에서 유충과 번데기, 성체의 세 발생단계에 대하여 각각 전기영동법으로 효소를 분석한 결과에 의하면 같은 종내에서도 발생단계에 따라서 검출된 allele의 차이가 관찰되었다. 이는 발생단계에 따라서 특정 효소에 대한 영동상에서의 band pattern의 차이가 나타남을 보고한 이전의 보고(Johnson, 1966; Triantaphyllidis, 1973)와 같은 현상을 보였으며 이는 효소 유전자의 발현이 발생단계에 따라 차이를 보이기 때문에 나타난 결과로 생각되어진다. 그러한 발생단계별 효소 allele의 차이나 allele의 빈도 차이가 있었음에도 불구하고 세 발생단계에서 모두 같은 pattern의 dendrogram이 작성되었다. 따라서, 종간의 유연관계를 구명하기 위한 효소 분석 방법은 성체뿐만 아니라 유충이나 번데기 등의 초기발생단계에 있는 개체들을 재료로 취할 경우에도 유용한 분석법이 될 것으로 생각하며 이러한 결과로 볼 때 유전학적으로 가까운 종들은 발생에 따른 효소 유전자의 발현이나 효소 활성도의 변화 pattern도 유사하게 나타나는 것으로 보여진다.

인용문헌

- Ayala, F.J., C.A. Mourao, S.P. Salas, R. Richmond and T. Dobzhansky, 1970. Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. I. Genetic differentiation among sibling species. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **67**: 225-232.
- Ayala, F.J. and J.R. Powell, 1972. Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. VI. Levels of polymorphism and the physiological function of enzyme. *Biochem. Genet.* **7**: 331-345.
- Ayala, F.J., M.L. Tracey, D. Hedgecock and R.C. Richmond, 1974. Genetic differentiation during the speciation process in *Drosophila*. *Evolution* **28**: 576-592.
- Eisses, T.T., H. Vandijk and W.V. Delden, 1979. Genetic differentiation within the *melanogaster* species group of the genus *Drosophila* (*Sophophora*). *Evolution* **33**: 1063-1068.
- Gonzalez, A.M., V.M. Cabrera, J.M. Larruga and A. Gullon, 1983. Molecular variation in insular endemic *Drosophila* species of the Micronesian Archipelagos. *Evolution* **37**: 1128-1140.
- Johnson, F.M., 1966. Developmental differences of alkaline phosphatase zymograms from *Drosophila melanogaster* and *Drosophila ananasae*. *Nature* **212**: 843-844.
- Kim, N.W. and T.J. Lee, 1991. Genetic relationships among the eight species of *Drosophila melanogaster* species group by allozyme analysis. *Korean J. Genetics* **13**: 297-309 (in Korean with an English abstract).
- Lee, T.J., 1988. Enzyme polymorphism in four species of the *Drosophila auraria* complex. *Korean J. Genetics* **13**: 253-260 (in Korean with an English abstract).
- Lee, T.J., 1993. Evolution in *Drosophila*. *The Chung-Ang University press.* pp 34-71.
- Lee, T.J. and E.S. Song, 1991. Genetic relationships among the sixteen species of the subgenus *Drosophila* by allozymes and protein analysis. *Chung-Ang Univ. J. Nat. Sci.* **34**: 109-137.
- Lee, T.J. and J.B. Ahn, 1990. Comparisons of esterase and soluble protein zymogram with developing in *Drosophila auraria* complex. *Korean J. Genetics* **20**:

- 131-137 (in Korean with an English abstract).
- Lee, T.J., K.J. Hong and E.S. Song, 1993. Genetic relationships and protein variations during development within the *Drosophila melanogaster* species group. I. Analysis of soluble protein by SDS-PAGE. *Korean J. Genet.* **15**: 269-276.
- Lee, T.J., K.J. Hong and N. W. Kim, 1994. Genetic relationships and protein variations during development within the *Drosophila melanogaster* species group. II. Analysis of soluble protein by 2DE. *Korean J. Zoology.* **37**: 249-254.
- Lemeunier, F., J.R. David, L. Tasacas and M. Ashburner, 1986. The *melanogaster* species group. The genetics and biology of *Drosophila*. (M. Ashburner, H.L. Carson and J.N. Thompson, Jr., eds.), Vol. 3 pp. 147-256.
- 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.
- McDonald, F.J. and C.J. Avise 1975. Evidence for the adaptive significance of enzyme activity levels: interspecific variation of α -GPDH and ADH in *Drosophila*. *Bio. Gene.* **14**: 347-355.
- Ogita, Z. 1962. Genetics biochemical analysis on the enzyme activities in the house fly by agar gel electrophoresis. *Jpn. J. Genet.*, **37**: 518-521.
- Ohnishi, S., A.J.L. Brown, R.A. Voelker and C.H. Langley, 1982. Estimation of genetic variability in natural populations of *Drosophila simulans* by two-dimensional and starch gel electrophoresis. *Genetics* **100**: 127-136.
- Pasteur, N. and C.D. Kastritsis, 1971. Developmental studies in *Drosophila*. I. Acid phosphatases, esterases and other proteins in organs and whole-fly homogenates during development of *D. pseudoobscura*. *Devel. Biol.* **26**: 525-536.
- Rogers, J.S., 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. Univ. Texas Publ. **7213**: 145-153.
- Selander, R.K., M.H. Smith, S.Y. Yang, W.E. Johnson and J.B. Gentry, 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old field mouse(*Peromyscus polionetus*). Univ. Texas Publ. **7103**: 145-153.
- Shaw, C.R. and R. Prasad, 1970. Starch gel electrophoresis of enzyme. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* **4**: 297-320.
- Tsakas, S.C. and L. Tsakas, 1984. A phyletic tree eighteen species of the *melanogaster* group of *Drosophila* using allozyme data as compared with classification based on other criteria. *Genetica* **64**: 139-144.
- Triantaphyllidis, D., 1973. Allozyme variation in populations of *D. simulans* from Northern Greece. *Heredity* **64**: 69-72.
- Yang, S.Y., L.L. Wheeler and I.R. Bock, 1972. Isozyme variations and phylogenetic relationships in the *Drosophila bipectinata* species complex. Univ. Texas Publ. **7213**: 213-227.

(Accepted September 12, 1994)

**Genetic Relationships and Protein Variations during Development within the
Drosophila melanogaster Species Group. III. Allozyme Analysis**

Taek Jun Lee and Kyoung Ja Hong (Department biology of Chung Ang University, Seoul, 156-756, Korea)

Allozyme analysis was performed to investigate biochemical phylogeny among the eight species of Korean *D. melanogaster* species group on three developmental stages of 3rd instar larva, late pupa and 4-days old adult, respectively. Genetic similarity was calculated by Rogers' equation for each developmental stages. Based on the data of genetic similarity, the biochemical dendrograms in eight species were constructed for three developmental stages. Allele frequencies of allozymes and their manifestation patterns were very different according to the developmental stages. Nevertheless, the dendrograms for the three developmental stages showed same pattern. Therefore, isozyme analysis proved to be useful in systematics at any early developmental level as well as adult. The results showed that the eight species could be divided into two phyletic group; one comprises *D. melanogaster*, *D. simulans* and *D. lutescens* while the other includes *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa* and *D. suzukii*. Biochemical phylogeny obtained from this study coincided with previous morphological phylogeny.