

Isozyme 분석에 의한 한국산 농어, *Lateolabrax japonicus* 2형간의 유전학적 특징

박중연 · 김경길 · 김 윤
국립수산진흥원 생물공학과

Genetic Characterization of Two Types of Sea Bass, *Lateolabrax japonicus* in Korea by Isozyme Analysis

Jung-Youn Park, Kyung-Kil Kim and Yoon Kim
Biotechnology Division, National Fisheries Research and Development
Agency, Pusan 619-900, Korea

Genetic characterization and identification of two types of sea bass *Lateolabrax japonicus* were performed by examining electrophoretic patterns of isozymes. Twenty five loci coding for thirteen enzymes were detected in two types. Among the twenty five loci, one completely divergent loci ($Pt-1$) was observed between two types. Nei's genetic distance between two types was 0.12036. The estimated divergence time of these two types may have about 6.2×10^5 years ago. On the other hands, the expected average heterozygosity was 0.084 in not spotted type on the body surface and 0.067 in spotted type on the body surface. These results mean that the existance of two types of sea bass was established in present study which may have had genetic divergence.

Key words : Sea bass, Genetic identification, Isozyme analysis

서 론

농어(*Lateolabrax japonicus*)는 분류학적으로 농어목 농어과 농어속에 속하는 어종으로 우리나라의 전 연안에 분포하고 있으며, 최근 새로운 양식 대상어종으로 각광을 받음으로서 종묘생산 및 양식을 위한 연구가 활발히 시도되고 있는 실정이다. 그러나 국내에서는 종묘의 대량확보가 쉽지 않아 중국으로부터 수정란 및 치어의 이식이 시도되고 있으며 이에따라 국내산 농어와 중국산 농어의 형태학적 및 유전학적 측면에서의 동일성 여부에 많은 의문점이 제시되고 있다.

한국어도보에 의하면 우리나라 농어는 형태적인

특징으로 어릴 때는 체표면에 검은 점이 많으나 성장하면서 점이 서서히 없어지거나 없어진다고 기술하고 있다(Chung, 1977). 이에 반해 일부 어민들은 체표면에 있는 검은 점의 유무로 농어를 2가지 형(점이 없는 계통과 점이 있는 계통) 혹은 3가지 형(점이 없는 계통, 점이 있는 계통 및 점이 7개있는 계통)으로 나누고 있으며, 양식 대상종으로 성장이 빠른 점이 있는 계통을 점이 없는 계통보다 더 선호하고 있는 실정이다. 따라서 우리나라에 서식하는 농어에 대한 정확한 종 동정 및 특성에 관한 연구가 시급한 실정이며, 이러한 문제점을 해결하기 위해 생화학적인 방법을 이용한 종의 동정 및 유전학적 특징에 관한 연구가

절실히 요구되는 바이다.

동일종 내의 변종이라 불려지는 동포종(sibling species)에 관한 연구는 담수에 서식하고 있는 새우류에서 많이 보고되어 있으나(Chow and Fujio, 1985, Ikeda et al., 1991, Fidhiany et al., 1988), 어류에 대해서는 도다리, *Pleuronichthys cornutus* 2형에 관한 연구(Park et al., 1994)와 일본 및 중국산 농어의 형태 및 유전학적 차이에 관한 연구(Yokogawa and Seki, 1995) 등이 전부이다.

이에 본 연구는 국내에 서식하고 있는 농어 중 채집이 가능했던 2형을 isozyme 전기영동법을 이용하여 유전학적 분류 및 집단구조의 파악이 가능한가를 조사하고 차후 도입이 예상되는 외국 수입종과의 구별을 위한 유전적 marker를 확립하고자 실시되었다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 농어는 전남 여천시 가두리 양식장에서 사육중이던 활어를 현장에서 채집하여 빙장한 뒤 실험실로 운반하였다. 도착 즉시 체 표면에 있는 검은 점의 유무(Fig. 1)로 점이 없는 계통(M-type)과 점이 있는 계통(J-type)로 구

분한 후 전기영동용 조직(간, 근육, 눈)을 적출하여 -80°C 에 냉동 보관하였다.

전분 gel 전기영동에 의해 검출된 효소 및 조직은 Table 1에 나타내었으며 isozyme 효소의 염색은 Kijima et al. (1988), Park et al. (1990) 및 Shaklee and Keenan (1986)의 방법을 병행하여 사용하였다. 한편, 유전자좌 및 대립유전자의 추정은 Shaklee et al. (1990)의 방법에 따랐으며, 2형간의 유전적 분화정도를 나타내는 유전적 거리는 Nei (1972)의 방법에 의해 구하였다.

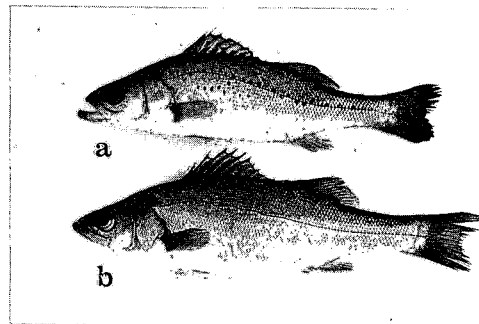


Fig. 1. External morphological shape of sea bass, *Laterolabrax Japonicus*. a : J-type (spotted type on body surface). b : M-type (not spotted type on body surface).

Table 1. List of examined enzymes, tissues and electrophoretic buffer used in this study

Enzyme (abbreviation)	Used tissue	Buffer*
Aspartate aminotransferase (AAT)	muscle, liver	T-C
Alcohol dehydrogenase (ADH)	liver	T-C
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	liver	T-C
α -Glycerophosphate dehydrogenase (α GPD)	muscle	T-C
Glucophosphate isomerase (GPI)	muscle, liver	T-C
Isocitrate dehydrogenase (IDH)	liver	T-C
Leucine aminopeptidase (LAP)	muscle	T-C
Lactate dehydrogenase (LDH)	muscle, eye	T-C
Malate dehydrogenase (MDH)	muscle	T-C
Mannose-6-phosphate isomerase (MPI)	muscle, liver	T-C
6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD)	liver	T-C
Phosphoglucomutase (PGM)	muscle	T-C
Sorbitol dehydrogenase (SDH)	liver	T-C
General protein (PT)	muscle	T-C

*0.135M tris-0.043M citrate buffer (pH 7.0).

결 과

1. Isozyme 효소의 유전자좌

실험에 사용된 농어 2형에서 공통적으로 13개의 isozyme 효소가 검출되었다. Fig. 1은 전형적인 isozyme 효소의 전기영동 pattern을 나타낸 것이다. 13개의 효소중 Fig. 2-A와 같이 1개의 zone으로 추정된 효소는 3개(IDH, 6PGD, SDH)였으며, 이들은 1개의 유전자좌로 추정

되었다. 한편, 2개의 zone (Fig. 2-B)으로 나타나 2개의 유전자좌로 추정된 효소는 7개(ADH, α GPD, GPI, LAP, MDH, PGM, MPI)였으며, 3개의 zone (Fig. 2-C)으로 나타나 3개의 유전자좌로 추정된 효소는 3개(AAT, LDH, PT)였다. 반면, 전체의 효소중 Fig. 2-D에서 보여주는 바와 같이 GPI 효소는 3개의 zone으로 발현하였으나 2개의 유전자좌로 추정하였으며, 2개의 유전자좌 사이에 발현한 zone은 독립적인

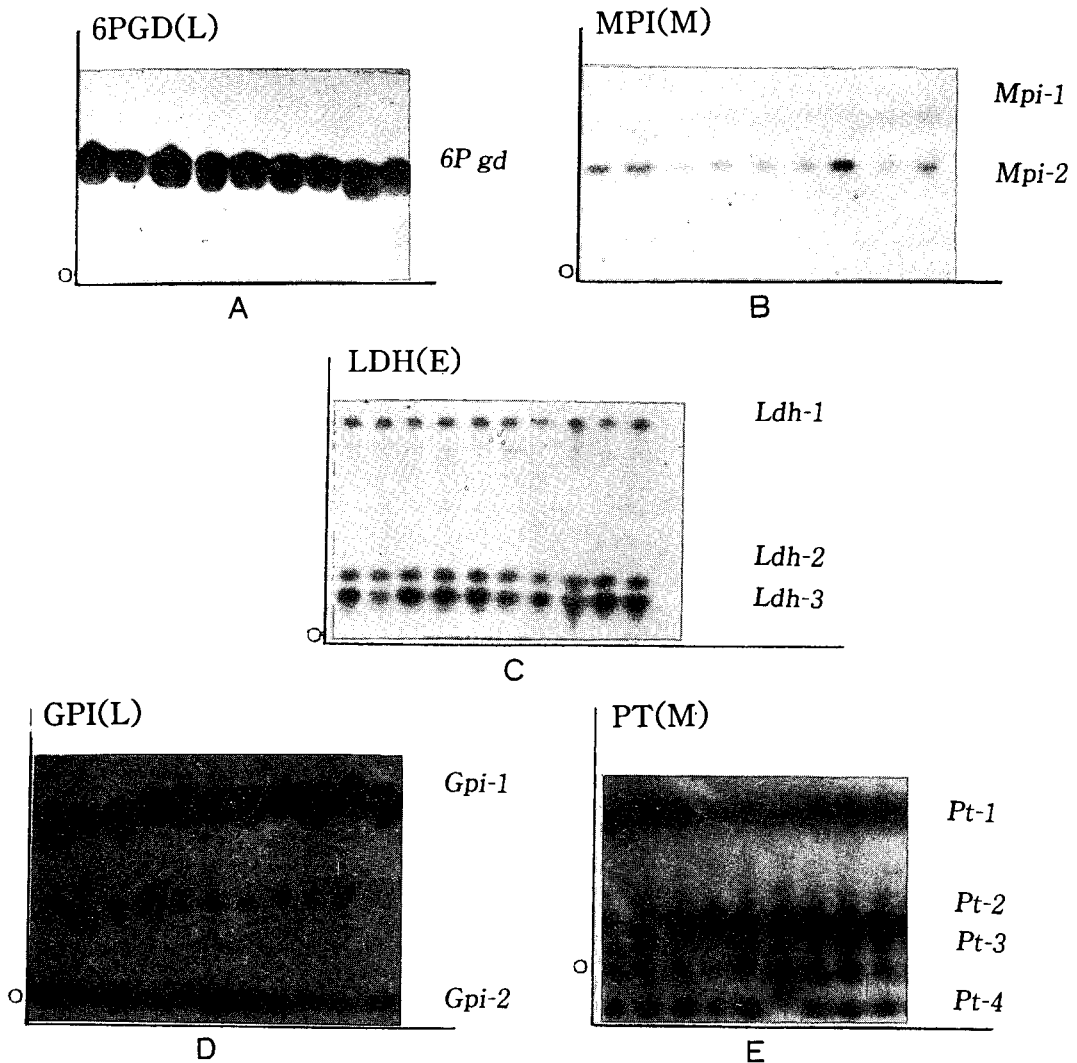


Fig. 2. Typical electrophoretic patterns of isozymes in sea bass, *Laterolabrax Japonicus*.

유전자좌로 볼 수 없는 hybrid band가 발현하는 zone임이 확인되었다. 또한 PT(Fig. 2-E)는 4개의 zone으로 발현하였으나 이동도가 가장 느린 zone이 2형에서 독립적으로 발현하는 특이 유전자좌이었으므로 2형간의 비교를 위해 제외시키고 3개의 유전자좌로 추정하였다.

Fig. 3는 효소구조에 따른 변이 형태를 나타낸 것이다. Fig. 3-A와 같이 1개 혹은 2개의 band로 활성을 나타내는 단량체 효소 구조(monomeric enzyme structure)는 LAP, MPI,

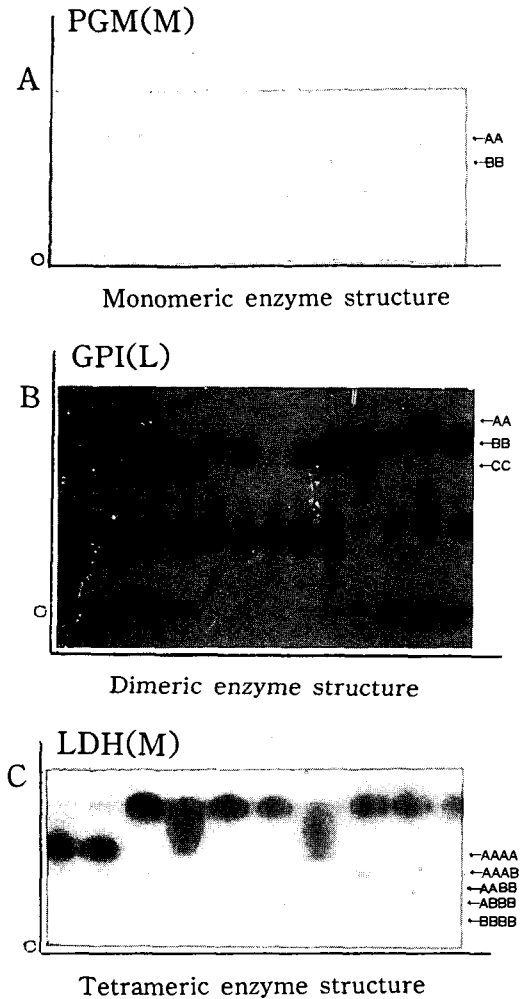


Fig. 3. Electrophoretic variant patterns of isozymes in sea bass.

PGM 효소이었으며, Fig. 3-C와 같이 1개 혹은 5개의 band로 활성을 나타내는 4량체 효소 구조(tetrameric enzyme structure)는 LDH, SDH 효소이었으며 그의 9개의 효소는 Fig. 3-B와 같이 1개 혹은 3개의 band로서 활성을 나타내는 이량체 효소 구조(dimeric enzyme structure)임이 확인되었다.

Fig. 4은 농어 2형에서 발현하는 대립유전자를 추정하기 위하여 동일 gel에서 isozyme band를 비교한 것이다. LDH에서 *Ldh-1*과 *Ldh-2* 유전자좌에서는 2형이 동일한 위치에 band를 나타내어 동일한 대립유전자로 추정되었으나, *Ldh-3* 유전자좌는 2형이 각각 다른 위치에 band를 나타내어 각각 다른 대립유전자에 의해 지배되고 있음을 알 수 있었다. 또한 일반적인 protein인 PT에서도 *Pt-1*과 *Pt-2*에서는 동일한 대립유전자좌에 의해, *Pt-3*에서는 다른 대립유전자좌에 의해 지배되고 있음을 알 수 있었다.

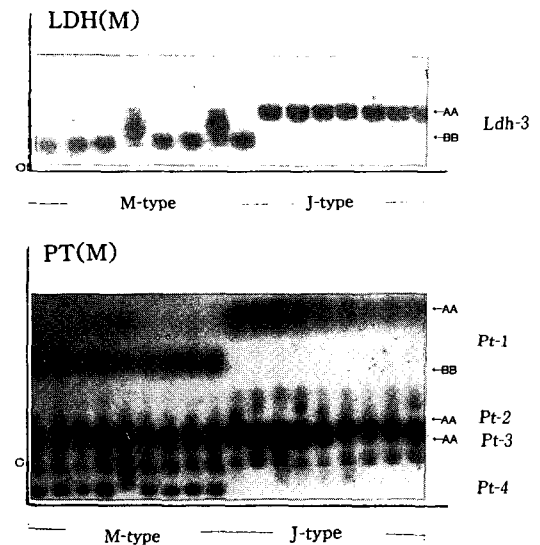


Fig. 4. Comparison of isozyme patterns between M-type and J-type in sea bass, *Laterolabrax japonicus*.

2. 농어 2형간의 유전적 차이

농어 2형에서 나타난 대립유전자의 빈도들

Table 2. Allele frequencies in two types of sea bass

Enzyme	Locus	Allele	M-type	J-type	
AAT	<i>Aat-1</i>	A	0.852	1.000	
		B	0.148	0	
		A	1.000	1.000	
ADH	<i>Adh-1</i>	A	0	0.027	
		B	1.000	0.973	
		C	0.185	0	
αGPD	<i>αGpd-1</i>	A	0.944	1.000	
		B	0.056	0	
		A	1.000	1.000	
GPI	<i>Gpi-1</i>	A	0	0.014	
		B	0.130	0.729	
		C	0.851	0.257	
	<i>Gpi-2</i>	A	1.000	0.932	
		B	0	0.068	
IDH	<i>Idh</i>	A	1.000	1.000	
LDH	<i>Ldh-1</i>	A	0.019	0	
		B	0.981	1.000	
	<i>Ldh-2</i>	A	1.000	1.000	
		<i>Ldh-3</i>	A	0.056	0.986
			B	0.944	0.014
LAP	<i>Lap-1</i>	A	1.000	1.000	
		A	1.000	1.000	
MDH	<i>Mdh-1</i>	A	1.000	1.000	
		A	1.000	1.000	
MPI	<i>Mpi-1</i>	A	0	0.108	
		B	0.296	0.824	
		C	0.685	0.068	
		D	0.019	0	
		A	1.000	1.000	
PGM	<i>Pgm-1</i>	A	0	0.054	
		B	1.000	0.905	
		C	0	0.041	
		<i>Pgm-2</i>	A	0.370	0.419
			B	0.611	0.513
6PGD	<i>6Pgd</i>	C	0.019	0	
		D	0	0.068	
		A	1.000	1.000	
		A	0	1.000	
PT	<i>Pt-1</i>	A	0	1.000	
		B	1.000	0	
		A	1.000	1.000	
		A	1.000	1.000	
		A	1.000	1.000	
SDH	<i>Sdh</i>	-	D	N	
		A	0.077	0.026	
		B	0.923	0.974	
Ave.	<i>He</i>		0.084	0.067	

Allele frequency of *Pt-4* locus could not be estimated.

D : Detected band.

N : Nondetected band.

Table 2에 나타내었다. 조사된 28개의 유전자좌 중 2개이상의 대립유전자를 가진 유전자좌가 점이 없는 계통에서는 8개, 점이 있는 계통에서는 9개가 관찰되어 2형이 거의 유사한 수를 나타내었다. 한편 28개의 유전자좌 중 2형에 있어서 주 대립유전자의 위치가 다른 분기 유전자좌는(divergent loci)는 *Gpi-1*, *Ldh-3*, *Mpi-1*, *Pt-1*의 4개 유전자좌였으며 이중 *Pt-1* 유전자좌는 공통의 대립유전자를 가지지 않는 완전 분기 유전자좌(complete divergent loci)로 나타났다.

Table 3은 농어 2형에서 나타난 유전적 변이를 표시한 것이다. 2형에서 변이 유전자(P; 주대립 유전자의 빈도가 0.95 이상)의 비율은 각각 0.038, 0.115으로 나타나 점이 있는 계통이 높았으며, 다형변이 유전자좌(P*; 주대립유전자의 유전자 빈도가 0.95 이하)는 각각 0.269와 0.192으로 나타나 점이 없는 계통이 높았다. 또한 이들 2형의 변이유전자좌를 합친 총유전적 변이(P+P*)는 점이 없는 계통과 점이 있는 계통 모두 0.308로 나타나 전체적인 변이 보유량은 2형이 동일한 것으로 나타났다. 한편 유전자빈도로부터 구한 평균 이형접합체율(average heterozygosity)의 기대치는 점이 없는 계통이 0.084, 점이 있는 계통은 0.067로 점이 없는 계통이 점이 있는 계통보다 변이성이 높았다.

한편 농어 2형에 있어서의 유전적 분화 정도를 밝히기 위하여 계산된 대립유전자 빈도를 이용

Table 3. Genetic variability in two types of sea bass

	M-type	J-type
P	0.038	0.115
P*	0.269	0.192
P+P*	0.308	0.308
He	0.084	0.067
A/L	1.5	1.5

P ; Proportion of variant loci.

P* ; Proportion of polymorphic loci.

P+P* ; Proportion of variant loci including polymorphic loci.

He ; Average heterozygosity.

A/L ; Average number of alleles per locus.

하여 2형간의 유전자 빈도 차이의 검정(t-test) 및 Nei의 유전적거리를 구하였다. t-test의 결과 2형간에 10개의 유전자좌에서 유의차(95% 유의수준)가 나타났으며 이러한 사실은 2형간에 있어서 유전적 차이가 존재하고 있음을 의미한다. 한편 Nei의 유전적 거리를 계산한 결과, 2형간의 유전적 거리는 0.12036으로 나타났으며, 이 값을 이용하여 2형간의 유전적 분기연도를 계산한 결과, 농어는 대략 6.2×10^5 년전에 지금의 2형으로 분화되기 시작한 것으로 추정되었다.

고 찰

일반적으로 어류에 있어서 동일종의 지역집단은 물론, 밀접한 관련성이 있는 종간에서도 isozyme에 의해 발현되는 유전자좌의 수는 동일하다고 보고되어져 있으나(Kijima et al., 1986; Kijima et al., 1988; Park et al., 1990; Park and Kijima, 1991; Park, 1992)간혹 동일한 어종을 사용하더라도 연구자들이 사용한 완충용액 system의 차이 혹은 실험에 사용한 어종의 활성도의 차이에 의해 효소의 발현 유무가 다른 유전자좌도 있음이 보고되어져 있다(Ward and Galleguillos, 1983; Grant et al., 1984). 그러나 본 연구에서 나타난 *Pr-4* 유전자좌는 동일한 buffer system과 동일한 gel 상에서 전기영동을 하였음에도 불구하고 점이 없는 계통에서만 발현한 특이한 현상이었다. 이러한 상황을 예상해 볼때 농어의 *Pr-4* 유전자좌는 그들이 서식하고 있는 환경, 생태, 생리적조건 등에 의해 진화의 과정에서 유전자좌가 새롭게 발현 혹은 퇴화하기 때문이라고 추정할 수 있다. 다시 말해서 처음에 한종만이 존재하고 있던 어종이 진화하는 과정에서 1차적으로 *Pr-4* 유전자좌의 필요성 유무가 발생한 뒤 추가적으로 *Pr-1* 유전자좌의 소규모 분화가 발생하기 시작하는 것으로 추정된다. 즉 농어의 origin이 점이 없는 계통이라고 가정했을때, 농어가 가지고 있는 유전자좌는 4개 (*Pr-1*, *Pr-2*, *Pr-3* 및 *Pr-4*)이었으며 진화의

과정에서 *Pr-4* 유전자좌의 소멸이 이루어지면서 점이 있는 계통으로 분화하였을 것으로 사료된다.

한편 본 연구의 결과 점이 없는 계통 중에서 *Pr-4* 유전자좌가 없으나 *Pr-1* 유전자좌가 AA, BB 대립유전자를 동시에 가지는 형과 점이 있는 계통 중에서 *Pr-4* 유전자좌는 있으나 *Pr-1* 유전자좌에서 AA 대립유전자만을 가지는 특이한 형이 나타나 우리나라에서는 조사된 2형외에 제 3의 형이 존재함을 추측할 수 있다. 즉 서론에서 언급한 바와 같이 한국 해역에 서식하고 있는 농어는 본 연구자들이 수집한 2형외에 또 다른 형이 존재할 것으로 예상되어지며, 이들이 가진 유전적 특징이 점이 없는 계통과 점이 있는 계통 중에서 어느 쪽인지에 따라 보다 정확한 분화 방향을 추정할 수 있을 것으로 예상된다.

중이나 집단의 유전적 변이성 및 분화를 연구하기 위한 방법의 하나로서 isozyme 효소 전기영동법이 가장 많이 이용되고 있으며, isozyme 전기영동법에 의해 측정되는 유전적 변이성 및 유전적 분화의 정도는 평균 이형접합체와 Nei의 유전적 거리(D; genetic distance)가 이용되고 있다. Nei (1975)는 많은 동물종의 유전적 거리를 조사하여 종간에는 1.0, 아종간에는 0.1, 종내의 지방 품종간에는 0.01이라는 평균값을 보고하였으며, 해산어류에 관해서는 Fujio (1984)가 10목 103종의 어류로부터 조사한 결과 동속 이종간에서는 평균 0.388임을 보고하였다. 한편, 가자미속에 관한 보고를 살펴보면 Park 등(1990) 및 Park and Kijima (1991)는 동속 이종간인 참가자미와 문치가자미에서 평균 0.47940, 이속 이종간인 돌가자미와 강도다리간에서는 0.49049로 보고하면서 이속 이종간의 유전적 거리가 동속 이종간과 유사한 값을 나타낸 이유에 대하여 그들의 생식과정에 있어서 생태적 환경이 크게 관련된다고 하였으며 유전적 거리가 0.5부근의 경우는 종의 단위임을 보고하였다. 또한 Park 등 (1994)은 도다리 2형간의 유전적 거리가 0.46394로 유전학적 관점으로 보아 종 혹은 아종으로 분류하여도 무리가 없다고 보고한 바 있다. 본

연구에서 나타난 농어 2형간의 유전적 거리는 0.12036으로 나타나 동종내 지역집단의 수준을 벗어나 종의 수준에 접어들었음을 알 수 있었다. 그러나 농어 2형의 유전적 거리를 대표적인 동포종(sibling species)으로 밝혀진 도다리 2형의 경우와 비교해 볼 때 농어의 유전적 거리가 도다리에 비해 상당히 낮은 값이므로 변종 혹은 아종으로 분류함이 타당할 것으로 생각된다.

집단유전학에서 종의 유전적 분화 정도는 유전적 거리(D)로서 유용하게 나타내고 있지만 유전적 거리의 개념은 종간 및 종내에 있어서 그들의 생태적 환경, 번식조건 및 인위적 조절에 의한 양식화 등에 의해 크게 좌우되는 경우가 있다(Park et al., 1990; Park and Kijima, 1991). 이에 종의 분화를 그들이 가지고 있는 분기유전자좌의 존재여부로서 보다 명확하게 구분할 수 있다고 보고되어 있으며(Fujio, 1984; Fidhiany et al., 1988; Park et al., 1990; Park and Kijima, 1991; Ikeda et al., 1991; Park, 1992), 특히 Park (1992)은 isozyme 유전자좌에 의한 유전적 거리와 분기유전자좌의 비율을 2대립 유전자 모델을 이용하여 구한 결과, 종의 유전적 분화의 경우 종내는 유전자 빈도의 차에 의해서, 종간은 분기유전자좌의 존재에 의해 특징지어 진다고 보고하였다. 유전적 분기에 관해 분기유전자좌로 설명한 보고를 살펴보면, 어류의 경우 가자미과 어류에서 동속 이종간 및 이속 이종간에서 각각 3개의 유전자좌가 관찰되었으며(Park et al., 1990; Park and Kijima, 1990), 도다리 2형간에도 21개의 유전자좌 중 3개의 완전분기유전자가 관찰되었다(Park et al., 1994). 감각류의 경우는 동속 변종인 *Palaemon paucidens*의 2형간(A형 및 B형)에서 16개의 유전자좌 중 1개의 유전자좌가(Fidhiany et al., 1988), *Parutya compressa*의 2아종간에서는 19개의 유전자좌 중 7개가 완전분기 유전자좌로 나타났다(Ikeda et al., 1991). 이러한 보고를 본 연구의 결과와 비교해 볼 때 농어 2형은 1개의 완전분기유전자좌가 관찰되어 유전학적 관점에서

2형을 아종의 수준으로 분류하는 것이 타당할 것으로 판단되었다.

이론적으로 유전적 분화의 정도는 격리에 의해, 유전적 변이성은 집단을 구성하고 있는 유효한 크기에 의해서 결정된다는 가설이 세워져 있다(Kimura and Crow, 1964; Kijima and Fujio, 1990). 이러한 관점에서 살펴볼 때 농어의 평균 이형접합체율이 점이 없는 계통에서 높게 나타난 것은 번식에 관여하는 집단의 유효한 크기가 점이 있는 계통 보다는 점이 없는 계통이 큰 것으로 추정되며, 다형 변이율은 2형에서 공통적으로 높게 나타나 2형이 각각 복수의 분 집단으로 존재하고 있음을 의미한다. 한편, 본 연구의 결과 점이 없는 계통에서 homo-excess가 발생하였으며, 이러한 사실로 미루어 점이 없는 계통은 점이 있는 계통과 다르게 유전적으로 서로 다른 분 집단이 상호 교배되고 있음을 시사하며, 점이 없는 계통과 분기의 근원임을 확인할 수 있었다. 따라서 2형의 분기를 유발시키는 1차적인 원인인 집단간의 유전적 격리의 정도 및 동일 집단간의 유전자 교류의 정도를 파악하기 위해 차후 동종내의 지역집단간의 유전적 조사가 필히 요구되는 바이다.

요 약

우리나라 해역에 서식하고 있는 농어 2형(점이 없는 계통과 점이 있는 계통)의 유전학적 분류 및 특징을 조사하기 위하여 isozyme 분석을 실시한 결과, 2형에 있어서 4개의 유전자좌의 분기가 관찰 되었으며 이중 *Pr-1* 유전자좌는 완전 분기되어 있는 것으로 확인되었다.

총 유전적 변이 보유량은 2형 모두 동일하였으나 점이 없는 계통은 다형 변이 유전자좌의 비가 높았으며, 점이 있는 계통은 변이 유전자좌의 비가 높은 것으로 나타났다. 2형에 있어서 평균 이형 접합체율의 기대치에 차이가 나타나 점이 없는 계통과 점이 있는 계통은 유전적으로 집단구조가 다름이 확인 되었다. 2형간의 유전적 분화 정도를

나타내는 유전적 거리(D)의 값은 0.12036이었으며, 분화연도는 6.2×10^5 년전 인 것으로 추정되었다.

사 사

본 연구를 수행함에 있어 시료를 제공해 주신 전라남도 여천시 덕천가두리양식장 박운규사장님께 깊은 감사를 드리며, 섭외 및 시료 구입에 물심양면으로 도와주신 국립수산진흥원 남해연구소 백재민연구사님께 사의를 표하는 바입니다.

참 고 문 헌

- Chow, S. and Y. Fujio, 1985. Biochemical evidence of two types in the fresh water shrimp *Palaemon paucidens* inhabiting the same water system. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51 : 1451-1460.
- Chung, M. K., 1977. The fishes of Korea. II Ji Sa Publication Co., Seoul, Korea. pp. 218.
- Fidhiany, L., A. Kijima and Y. Fujio, 1988. Genetic divergence between two types in *Palaemon paucidens*. *Tohoku J. Agr. Res.* 39 : 39-45.
- Fujio, Y., 1984. Study on genetic characteristics of fish and shellfishes in isozyme analysis. *Nosuisho Tokubetsu Shiken*, pp. 65.
- Ikeda, M., A. Kijima, and Y. Fujio, 1991. Genetic divergence between two subspecies in *Parutya compressa* (Decapoda ; Atyidae). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 : 819-824.
- Kijima, A., N. Taniguchi and A. Ochiai, 1986. Genetic divergence and morphological difference between the spotted and common mackerel. *Japan. J. Ichthyol.*, 33 : 151-161
- Kijima, A., N. Taniguchi and A. Ochiai, 1988. Genetic divergence and relationship among fifteen species of genera *Trachurus*, *Decapterus*, *Selar* and *Selaroides*. *Japan. J. Ichthyol.*, 33 : 167-175.
- Kijima A and Y. Fujio, 1990. Genetic analysis of population structure in marine teleosts around japan. *In* *Isozyme : structure, function, and use in biology and medicine.* eds. Z. Ogita and C. L. Markert, Alanlis Inc., New York, pp. 177-206.
- Kimura, M. and J. F. Crow, 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49 : 725-738.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.*, 106 : 283-292.
- Nei, M., 1975. *Molecular population genetic and evolution.* North-Holland, Amsterdam and New York. 288 p.
- Park, J. Y., A. Kijima and Y. Fujio, 1990. Genetic differentiation and variability between and within brown sole and marbled sole in the genus *Lumanda*. *Tohoku J. Agr. Res.* 41 : 9-23.
- Park, J. Y. and A. Kijima, 1991. Genetic variability and differentiation within and between stone flounder (*Kareius bicoloratus*) and the starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Tohoku J. Agr. Res.*, 41 : 69-81.
- Park, J. Y., 1992. The inter-species difference of isozyme gene and mitochondrial DNA in pleuronectid species. Ph. D. Dissertation. Tohoku University, Japan, pp. 133.
- Park, J. Y., A. Kijima and Y. J. Kang, 1994. Genetic divergence of two types of finespotted flounder, *Pleuronichthys cornutus*, distributed in the Japan sea area. *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 27 : 306-313.
- Shaklee, J. B. and C. P. Keenan, 1986. A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fish fillet identification. CSIRO marine laboratories, CSIRO, Melbourne, Australia, pp. 59.
- Shaklee, J. B., F. W. Alendorf, D. C. Morizot and G. S. Whitt, 1990. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 119 : 2-15.
- Ward, R. D. and R. A. Galleguillos, 1983. Biochemical systematics and genetic variation in flatfish of the family Pleuronectidae. *In* *Protein polymorphism : Adaptive and taxonomic significance.* G. S. Oxford and D. Rollinson, eds. Academic Press, New York, pp. 165-178.
- Yokogawa K. and S. Seki, 1995. Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese sea bass of the genus *Lateolabrax*. *Japan. J. Ichthyol.*, 41 : 437-445.