

파충류 혈액 단백질의 전기영동

朴 相 允 · 曹 東 鉉*

(성균관대 생물학과 *강원대 생물학과)

Electrophoresis of Reptilian Blood Proteins

Sang Yoon Park and Dong Hyun Cho*

(Dept. of Biology, Sung Kyun Kwan Univ.,

*Dept. of Biology, Kang Won National Univ.)

(1975. 12. 10 접수)

Summary

The blood proteins of ten reptilian species were studied by cellulose acetate electrophoresis. Three members examined of the genus *Agkistrodon* have unusually similar patterns in plasma protein, hemoglobin, lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase. On the basis of their electrophoretic patterns, it was concluded that *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus* was closely related to *A. saxatilis* and that *A. caliginosus* was somewhat distantly related to the others.

In general the plasma protein patterns reflect species specificity. Under the conditions employed, all snakes had a single hemoglobin band except *Dinodon rufozonatum rufozonatum* which showing two component patterns. Two members of the Chelonia showed four bands of hemoglobin.

The zymograms indicated a distinct divergence in blood proteins of the Squamata from those of the Chelonia. The results reflected superficially the established phylogenies of these groups.

서 론

특이한 진화의 결과 뱀목의 형태학적 특징은 퇴화, 단순하여져서 계통발생학적인 연구에 어려움이 따른다 (Romer, 1955; Underwood, 1957). 더욱 계통발생학적으로 의미있는 화석마저 얻기 어려워 (Dowling, 1959) 살아있는 개체를 통하여 진화과정을 추정하여야 하는 이종의 어려움이 겹친다.

비교생화학적인 방법은 계통발생학연구에 훌륭한 수단이 되는 경우가 많다 (Alston and Turner, 1963; Leone, 1964; Bryson and Vogel, 1965). 특히 단백질전기영동은 전통적

인 방법으로 얻어진 분류를 재확인 하거나 보완하는 자료로서 폭넓게 이용된다 (Kitto and Wilson, 1966; Neaves, 1969). 서로 틀리는 생명체의 단백질을 계통발생적으로 비교함에 있어서 전기영동방법은 현재로서 가장 좋은 방법중의 하나이며, 혈액단백질의 전기영동 자료는 계통발생학적인 관계를 밝히고 또한 상위범주를 취급하는데에 큰 도움을 준다 (Foreman, 1960; Dessauer, 1966; Johnson, 1968; Guttman 1973).

Sibley(1970) 및 Sibley와 Ahlquist(1972)는 조류의 흰자단백질을 전분·겔 전기영동법으로 분리하여 조류의 유연관계를 분자수준에서 검토하였으며, Kaplan (1965)과 Wilson 등(1964)은 젖산수소이탈효소 (lactate dehydrogenase, LDH)로서 계통발생학적인 관계를 규명하고 있다. 척추동물의 뇌조직에서 얻은 LDH의 전기영동상 역시 계통발생학적인 관점에서 반복설을 어느정도 반영한다고 하였다 (Bonavita, 1964; Bonavita and Guaneri, 1963).

한편 Taniguchi 등(1972)은 일본산 양태과 어류의 근단백질, LDH 및 말산수소이탈효소(malate dehydrogenase, MDH)의 전기영동상에서 계통발생학적인 관계가 반영됨을 지적하였고, α -glycerophosphate dehydrogenase의 아이소자임형을 근거로 벌의 유연관계를 다룬것도 있다 (Stephen and Cheldelin, 1973).

파충류의 경우 Dessauer와 Fox (1964 b)는 혈색소와 혈장단백질을 전기영동하여 그 유연관계를 검토하였으며, 양서류와 파충류의 혈장단백질 전기영동상을 비교하여 잠정적인 분류기준을 제시하기도 하였다 (Dessauer and Fox, 1964a). 한편 도마뱀(*Anolis brevirostris*)의 동포종이 전기영동법으로 검출되었고 (Webster and Burns, 1973), 김 등(1973)은 한국산 뱀목의 수소이탈효소 아이소자임을 다루었다.

한국에 서식하는 것으로 알려진 뱀목의 파충류는 모두 14종인데 남한에서 흔히 채집되는 것은 10종에 불과하며, 이들에 대한 전기영동연구는 거의 되어있지 않다. 특히 한국산 살모사류는 *Agkistrodon halysintermedius-blohmhoffii* complex로서 구성되어 있는 것으로 알려져 1세기 이상을 분류학적으로 혼돈상태에 있었다 (Gloyd, 1972). 최근 백 (1972)은 한국산 살모사류를 쇠살모사 (*Agkistrodon halys*), 살모사 (*A. blohmhoffii*) 및 까치살모사 (*A. intermedius*)로 분류하였으며, Gloyd (1972)는 쇠살모사를 *Agkistrodon caliginosus*로, 살모사를 *A. blohmhoffii brevicaudus*로, 까치살모사를 *A. sakatilis*로 정리하고 이중 *A. caliginosus*를 신종으로 발표하였다. 이와같은 사실을 감안하여 본 실험은 살모사류를 중심으로 하여 한국산 뱀목의 혈액단백질을 전기영동법으로 검토하여보려는 목적에서 시도한 것이다.

실험재료 및 방법

실험동물은 경기도 용문산과 서울시내의 사류상에서 구입한 건강한 성체로서 살모사 (*Agkistrodon blohmhoffii brevicaudus*), 쇠살모사 (*A. caliginosus*), 까치살모사 (*A. saxatilis*), 실뱀 (*Zamenis spinalis*), 구렁이 (*Elaphe schrenckii*), 누룩뱀 (*E. dione*), 능구렁이 (*Dinodon rufozonatum rufozonatum*), 유희목 (*Rhabdophis tigrinus*), 자라 (*Amyda mackii*) 및 남생이 (*Geoclemys reevesii*) 등의 10종을 사용하였다. 위의 실험동물중 뱀목에 속하지 않는 자라와 남생이는 동대문 시장에서 구입하였다. 또한 파충류의 비교하기 위하

여 강원도 춘천지방과 경기도 연천 및 서울근교에서 채집한 참개구리 (*Rana nigromaculata*), 무당개구리 (*Bombina orientalis*) 및 두꺼비 (*Bufo bufo gargarizans*)의 양서류 3종을 사용하였다.

혈장과 혈구과쇄물은 Smith (1960)의 방법에 따라 얻었으며, cellulose acetate 전기영동은 박·조 (1972)의 방법에 따랐으며, pH 8.6($\mu=0.075$) barbiturate buffer에서 100V 정전압으로 실시하였다. 영동시간은 혈장단백질과 혈색소는 25분, MDH는 40분, LDH는 60분간이며 실온에서 영동하였다. 혈장단백질과 혈색소는 Ponceau-S로 염색하였으며 효소는 박·조 (1972)에 따라 염색하였다.

대조구로서 BSA(bovine serum albumin)를 사용하였으며, 이를 각 시료와 동시에 전기영동하였으며 비교이동도(Rf)는 다음과 같이 구하였다.

$$Rf = \frac{\text{가장 빠르게 움직이는 밴드의 이동거리}^*}{\text{BSA가 이동한 거리}}$$

※ 단 pre-albumin은 제외

실험결과 및 고찰

실험에 사용한 파충류 10종의 혈장단백질은 Fig. 1과 같이 종에 따라 독특한 5~9개의 밴드로 분리되었고, 그 영동상 역시 종에 따른 특징을 나타내었다.

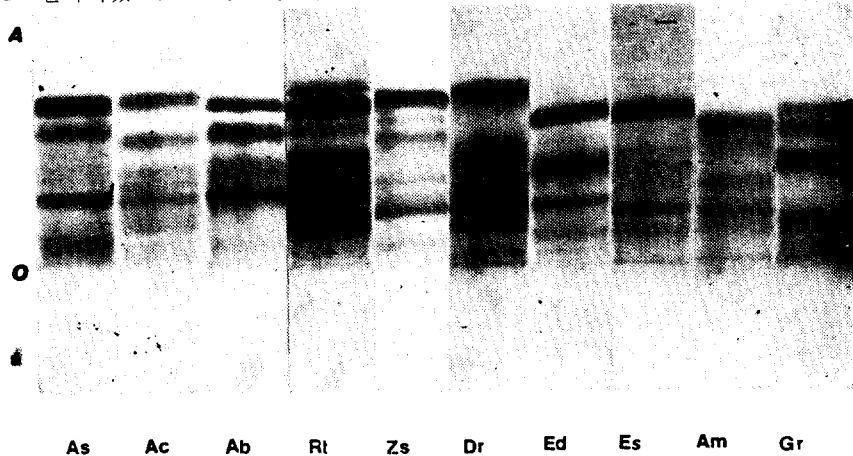


Fig. 1 Zymogram showing species specific patterns of plasmaproteins. A means anodal side, O; origin, As; *Aokistrodon saxatilis*, Ac; *A. calioinosus*, Ab; *A. blomhoffii brevicaudus*, Rt; *Rhabdophis tiorinus*, Zs; *Zamenis soinalis*, Ed; *Elapha dione*, Es; *E. schrenckii*, Dr; *Dinodon rufozonatum rufozonatum*, Am; *Amyda maackii*, Gr; *Geoclemys reevesii*.

유혈목의 혈장단백질은 가장 많은 9개의 밴드로 구성되었으며, 남생이에서는 가장 적어서 5개의 밴드가 나타났다. 대체적으로 실험동물에서 pre-albumin이 나타나지 않았는데 유혈목에서 만은 예외적으로 이것이 뚜렷하다. 한편 실험에서는 모두 7개의 밴드가 나타나고 누룩뱀에서는 8개의 밴드가 보인다. 구렁이의 혈장단백질은 모두 7개의 밴드로 구성되어 있고 능구렁이는 8개의 밴드를 나타냈다. 살모사는 7개의 밴드중 3개가 뚜렷하며

쇠살모사의 경우 8개 중에서 3개만이, 까치살모사는 8개의 밴드 중에서 4개가 분명하다. 자라에서는 6개의 밴드중 4개가 확실히 나타나고, 남생이의 경우에는 5개의 밴드 모두가 뚜렷하다. 여기서 전체적으로 나타나는 혈장단백질의 밴드수를 비교하여 보면 실험동물에 있어서는 뱀목이 거북목보다 많다.

Gunther 등(1961)은 판새어류 및 하등경골어류의 혈장단백질을 고등경골어류의 그것과 비교하여 보면 고등경골어류의 혈장단백질이 더 복잡하다고 하였는데, 양서류에서도 이와 비슷한 결과를 얻고 있다 (Nelson and Guttman, 1973). 본 실험결과 역시 하등파충류인 자라와 남생이의 혈장단백질보다는 고등파충류인 뱀목의 혈장단백질이 더 복잡한 영동상을 보여주고 있다. 비슷한 차이는 혈장단백질의 전기영동 이동도에서도 나타나고 있어서 (Table 1) BSA를 기준으로 하여 pre-albumin을 제외하고 가장 빠르게 이동하는 밴드의 이동거리를 비교하여 보면 뱀목은 대체로 0.9이상인데 비하여 자라와 남생이는 그 이하였다. 대체적으로 개구리목에서도 혈장단백질의 비교이동도는 거북목의 그것과 비슷하였으며 salamander의 경우는 0.8이하였다 (Uzzell and Goldblatt, 1967). 또한 뱀목과 거북목사이의 혈장단백질 전기영동상은 크게 차이가 있는데 거북목에 속하는 동물의 혈장단백질 전기영동상은 뱀목의 그것보다는 두꺼비와 무당개구리의 전기영동상과 유사하였다.

Table 1. Electrophoretic mobility of the fastest bands of plasma proteins. Asterisked species were estimated by Uzzell and Goldblatt (1967)

Species	Mobility (cm/25min/100v)	Relative mobility (fastest band/BSA)
Bovine serum albumin	1.70	1.00
<i>Agkistrodon saxatilis</i>	1.65	0.97
<i>A. Caliginosus</i>	1.70	1.00
<i>A. blomhoffii brevicaudus</i>	1.70	1.00
<i>Rhabdophis tigrinus</i>	1.65	0.97
<i>Zamenis spinalis</i>	1.70	1.00
<i>Dinodon rufozonatum rufozonatum</i>	1.80	1.06
<i>Elaphe dione</i>	1.60	0.94
<i>E. schrenckii</i>	1.55	0.91
<i>Amyda maackii</i>	1.40	0.82
<i>Geoclemys reevesii</i>	1.50	0.88
<i>Rana nigromaculata</i>	1.64	0.96
<i>Bombina orientalis</i>	1.50	0.88
<i>Bufo bufo gargarizans</i>	1.40	0.82
<i>Ambystoma jeffersonianum</i> *	—	0.65
<i>A. platineum</i> *	—	0.76
<i>A. tremblay*</i>	—	0.75
<i>A. laterale*</i>	—	0.76

살모사속의 3종은 혈장단백질 전기영동상이 서로 유사한데, 알부민의 이동속도는 살모사와 쇠살모사에서 같고 까치살모사는 이보다 약간 느린 경향이 있었다. 또한 살모사와 쇠살모사의 혈장단백질에서는 알부민과 post-albumin 사이의 간격이 넓은데에 비하여 까치살모사에서는 그렇지 않다. 살모사속 3종의 혈장단백질 전기영동상은 대체적으로 다른 종의 실험동물의 영동상과 크게 차이가 있었다. 살모사속 이외의 뱀목에서는 혈장단백질

전기영동상에서 서로 유사한 점을 뚜렷이 찾을 수 없었다. 다만 구렁이속의 종은 혈장단백질 전기영동상이 어느정도 유사하였지만 살모사속에서처럼 두드러 지지는 않았다. 자라와 남생이의 전기영동상 역시 양종의 혈장단백질 상호간의 유사성은 거의 없었다. 이는 한국에 서식하는 뱀목의 파충류가 몇 종 되지 않는다는 사실과 함께 계통발생학적으로 흥미있는 것이다.

다른 혈액단백질과는 달리 혈색소는 영양상태, 연령, 생식상태, 온도 및 기타 요인에 의하여 심하게 영향을 받지 않음으로 계통발생연구에 적합하다 (Tamsmitt and Valdesco, 1969). 혈색소의 전기영동연구로 Manwell (1963)은 어류의 잡종을 찾아 낼 수 있었고 두꺼비에서도 비슷한 예가 알려졌다 (Guttman, 1967). 또한 Manwell (1966) 및 Manwell과 Baker (1963)는 혈색소와 효소의 전기영동상을 근거로 해삼의 동포종들을 확인하였으며, sunfish에서 서로 비슷한 종들을 혈색소 전기영동으로 가려낼 수 있었다 (Manwell and Childers, 1963). 이밖에 형태학적으로 유사한 종들을 혈색소 전기영동상을 통하여 구별할 수 있었던 예는 많은데, Barrett 등(1966)은 어류에서, Dessauer 등(1957) 및 Bertini와 Ratte (1962), Gorman과 Dessauer (1965)는 양서류와 파충류에서, Lucchino (1973) 및 Uzzell과 Darevsky (1973 a, b)는 도마뱀에서, 그리고 Foreman (1960)은 설치류에서 그같은 사실을 밝혀주었다.

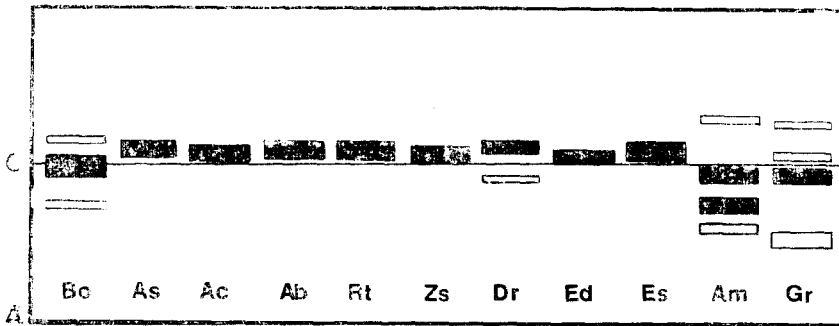


Fig. 2 Diagrammatic representation of the hemoglobin. Black areas indicate the major components in species with several components. Bc means *Bombina orientalis*.

본 실험결과 뱀목의 혈색소는 대체로 단일 밴드로 나타났으며 그 이동도는 서로 유사하였다 (Fig. 2). 이는 Dessauer과 Fox (1964 b) 및 Rodnan과 Ebaugh (1957)의 결과와 대략 일치하였다. 본 실험에서 능구렁이만은 예외적으로 2개의 밴드로 나타났다. 이에 비하여 자라와 남생이는 4개의 혈색소 밴드로 구성된 영동상을 보여주었다. Dozy 등(1964)은 거북목의 파충류 6종에서 1~3개의 혈색소 밴드를 확인할 수 있다고 하였고 Dessauer 등(1957)에 의해서 거북목의 어딘 종에서는 6개의 혈색소 밴드가 확인되었고, 도마뱀에서는 종에 따라 2~4개의 혈색소 밴드가 알려졌다 (Dessauer *et al.*, 1957; Lucchino, 1973; Uzzell and Darevsky, 1973 a). 이와같은 사실들을 정리하여 보면 대략 하등한 파충류일 수록 여러개의 혈색소 밴드로 구성된 전기영동상을 보여주는 경향이 있는데, Dessauer 등(1957)의 실험결과에서도 같은 현상을 잘 볼 수 있었다. 실험동물에 있어서 뱀목의 혈색소는 음극쪽으로 이동하는게 비하여 자라와 남생이에서는 양극

쪽으로 끌려간다.

살모사속의 구성원들은 혈색소의 전기영동 이동도에 약간의 차이를 보여주었다. 즉 살모사와 까치살모사는 거의 같은 속도로 이동하는 혈색소를 가진 반면, 쇠살모사의 혈색소는 이들보다 약간 느리게 이동한다. 비슷한 차이는 적혈구와 혈장의 LDH 아이소자임에서도 나타났다 (Fig. 3 및 4). 그러나 실험동물에 있어서 혈색소의 전기영동상은 종에 따른 특징을 두드러지게 반영하지는 않고 있다.

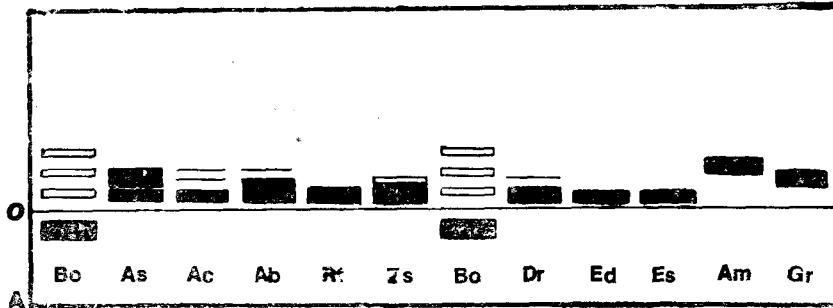


Fig. 3 Diagrammatic representation of the hemolysate LDH. Black areas indicate the major LDH component(s) in species with several isozymes.

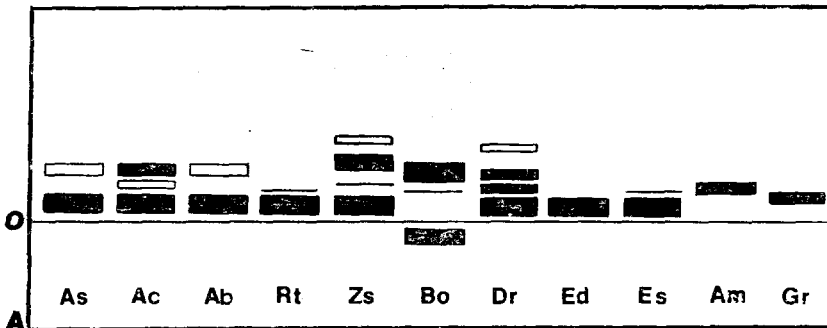


Fig. 4 Diagrammatic representation of the plasma LDH. The black areas indicate the major isozyme(s).

척추동물의 LDH 아이소자임은 전기영동으로 5개의 밴드로 분리되는데 (Markert and Møller, 1959; Vesell, 1968; Wróblewski, 1961), 각 아이소자임은 구성단위 M과 H로 이루어지는 tetramer이다. 실험결과 적혈구와 혈장의 LDH는 LDH 1이 강하게 나타나는 호기적 대사형임을 알 수 있다 (Fig. 3, 4). 한국산 뱀목의 LDH는 4개의 아이소자임으로 구성되어 있어서 (김 등, 1973) 전형적인 척추동물의 아이소자임형을 보여 주지 않는다. 같은 현상은 *Dryadophis melanolomus*에서도 알려졌다 (Markert, 1968), 도마뱀에서는 종에 따라 1~3개의 LDH 아이소자임 밴드가 알려졌다 (Uzzell and Darevsky, 1973 a, b). 대체로 혈장과 적혈구의 LDH는 4개의 아이소자임 전부를 보여주지 않는데 능구렁이와 싯뱀의 혈장만은 예외이었다. 뱀목과는 틀리게 자라와 남생이는 단일밴드만을 보여주었고, 그 이동속도는 뱀목에 비하여 빨랐다. 적혈구의 LDH (Fig. 3)는 구렁이, 유혈목, 누

뱀뱀에서 단일밴드로 나타나며, 실뱀, 능구렁이에서는 2개의 아이소자임을 보였다. 뱀목의 다른 종과는 틀리게 살모사속의 적혈구에서는 3개의 아이소자임 밴드가 나타난다. 까치살모사에서는 3개의 밴드가 뚜렷하며 살모사에서는 2개의 밴드가 분명히 나타난다. 이에 비하여 쇠살모사에서는 LDH 1만이 강한 활성도를 보여 줄 뿐 나머지 2개의 아이소자임은 약하게 나타났다.

혈장의 LDH아이소자임 (Fig. 4)은 그 영동상이 대체로 적혈구의 그것과 유사한 경향을 나타낸다. 능구렁이와 실뱀에서는 4개의 LDH아이소자임이 확인되는데 쇠살모사는 3개, 누룩뱀에서는 단일밴드만이 보인다. 나머지 종에서는 2개의 밴드로 구성된 LDH아이소자임을 가지고 있었다. 뱀목과 거북목의 아이소자임은 서로 확연히 구별되는데, 거북목에서는 혈장과 적혈구의 구별없이 모두 단일밴드만이 확인된다.

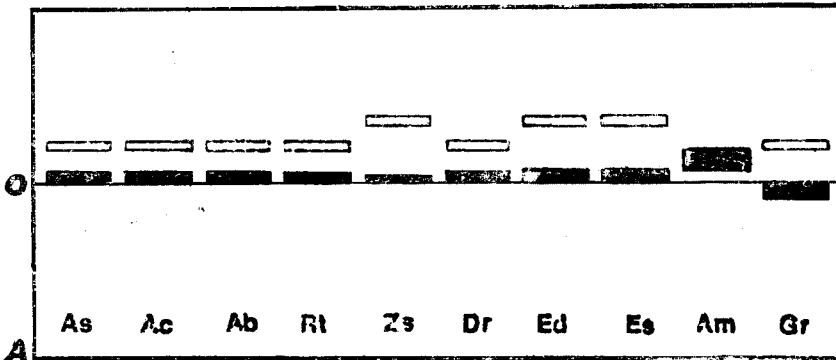


Fig. 5 Diagrammatic representation of the hemolysate MDH. The black areas indicate the major band.

적혈구의 MDH (Fig. 5)는 자라를 제외하면 모두가 2개의 밴드로 구성되어 있었다. 이 2개의 밴드 중에서, 어떤 종을 막론하고, 하나는 강하게 염색되며 느리게 이동한다. 나머지 하나의 밴드는 약하게 염색되지만 빠르게 이동하였다. 그런데 빠르게 이동하는 MDH아이소자임은 종에 따라 약간의 차이를 보여주었다. 즉 실뱀과 능구렁이, 누룩뱀에서는 다른 종에서보다 더 빠르게 이동한다. 그러나 일반적으로 보아 MDH아이소자임은 종에 따른 뚜렷한 특징을 나타내지 않음을 알 수 있었다.

이상의 실험결과들을 종합하여보면 살모사속의 경우에 한하여 유연관계를 전기영동을 통하여 짐작할 수 있는데 살모사와 까치살모사는 쇠살모사보다 계통발생학적으로 더 가까운 관계에 있음을 암시하여 준다. 이는 백 (1972)의 염색체를 조사한 결과와도 잘 일치되는데 살모사와 까치살모사는 $n=15$ 인데 반하여 쇠살모사는 $n=16$ 이라 하였다. 비슷한 예는 형태학적인 특징에서도 반영되고 있다 (Gloyd, 1972).

참 고 문 헌

- 김순옥·조동현·박상윤, 1973. 척추동물의 isozyme에 관한 비교 연구 III. 한국산 뱀목의 Lactate 및 malate dehydrogenase isozyme. 동·학·지 16: 55-65.
- 박상윤·조동현, 1972. Cellulose acetate 전기영동에 의한 수소가 탈효소 isozyme의 분리. 동·학·지 15: 101-104.
- 백남극, 1972. 한국산 살모사아과의 분류학적연구, 제16회 동물학회 연구 발표회, 부산수산대. 1972

년 10월 30일(초록).

- Alston, R.E. and E.L. Turner, 1963. Biochemical Systematics, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., pp. 404.
- Barrett, I., J. Joseph and G. Moser, 1966. Electrophoretic analysis of hemoglobins of California rock fish (genus *Sebastes*). *Copeia* **1966** : 489-494.
- Bertini, F. and G. Ratte, 1962. Electrophoretic analysis of hemoglobin of various species of Anurans. *Ibid.* **1962** : 181-185.
- Bonavita, V., 1964. Molecular evolution of lactate dehydrogenase in the developing nervous tissue. *Progr. Brain Res.* **4** : 254-272.
- Bonavita, V. and R. Guaneri, 1963. Lactate dehydrogenase isoenzymes in nervous tissue II. A comparative analysis in vertebrates. *J. Neurochem.* **10** : 743-753.
- Bryson, V. and H.J. Vogel, 1965. Evolving Genes and Proteins. (Bryson, V. and H. J. Vogel editors) Academic Press, N. Y., pp. 629.
- Dessauer, H.C., 1966. Taxonomic significance of electrophoretic patterns of animal sera. *Bull. Serol. Muc.*, New Brunswick no. 34 : 4-8.
- Dessauer, H.C. and W. Fox, 1964 a. Characteristic patterns of plasma proteins of orders of amphibia and reptilia. *Science* **124** : 225-226.
- Dessauer, H.C. and W. Fox, 1964 b. Electrophoresis in taxonomic studies illustrated by analysis of blood proteins. In: "Taxonomic Biochemistry and Serology," (C.A. Leone editor) Ronald Press, N.Y., pp. 625-647.
- Dessauer, H.C., W. Fox and J.R. Ramirez, 1957. Preliminary attempt to correlate paper-electrophoresis migration of hemoglobins with phylogeny in Amphibia and Reptilia. *Arch. Biochem. Biophys.* **71** : 11-16.
- Dowling, H.G., 1959. Classification of the Serpenter: A critical review. *Copeia* **1959** : 38-52.
- Dozy, A.M., C.A. Reynolds, J.M. Still and T.H.J. Huisman, 1964. Studies on animal hemoglobins. I. Hemoglobins in turtles. *J. Exptl. Zool.* **155** : 343-348.
- Foreman, C.W., 1963. Electromigration properties of mammalian hemoglobins. *J. Cell. Comp. Physiol.* **63** : 1-6.
- Gloyd, H.K., 1972. The Korean snakes of the genus *Agkistrodon* (Crotalidae.) *Proc. Biol. Soc. Wash.* **85** : 557-578.
- Gorman, G.C. and H.C. Dessauer, 1965. Hemoglobin and transferrin electrophoresis and relationships of island populations of *Anolis* lizards. *Science* **150** : 1451-1455.
- Gunther, G., L. Sulya and B.E. Box, 1961. Some evolutionary patterns in fishes' blood. *Biol. Bull.* **121** : 301-306.
- Guttman, S.I., 1957. Transferrin and hemoglobin polymorphism, hybridization and introgression in two African toads, *Bufo regularis* and *Bufo rangeri*. *Comp. Biochem. Physiol.* **23** : 871-877.
- Guttman, S. I., 1973. Biochemical techniques and problems in anuran evolution. In: Evolutionary Biology of the Anurans. Contemporary Research on Major Problems. (J.L. Vial, editor) Univ. Mo. Press, Columbia, Mo., pp. 183-203.
- Johnson, M.L., 1963. Application of blood protein electrophoretic studies to problems in

- mammalian taxonomy. *Syst. Zool.* **17** : 23—30.
- Kaplan, N. O., 1965. Evolution of dehydrogenases. In: *Evolving Genes and Proteins*. Academic Press, (V. Bryson and H. J. Vogel, editors) N.Y., pp. 243—277.
- Kitto, G. B. and A. C. Wilson, 1965. Evolution of malate dehydrogenase in birds. *Science* **153** : 1403—1501.
- Leone, C. A. 1964. *Taxonomic Biochemistry and Serology*. (C.A. Leone, editor) Ronald Press, N. Y., pp. 728.
- Lucchino, R.V., 1973. Biochemical comparison of two sibling species: *Cnemidophorus exsanguis* and *Cnemidophorus sonorae* (Sauria:Teiidae). *J. Herpetol.* **7** : 379—380.
- Manwell, C., 1963. The blood proteins of *cyclostomes*: A study in phylogenetic and ontogenetic biochemistry. In: *The Biology of Myxine* (A. Brodal and F. Fange, editors) Universitetsforlaget. Oslo. pp. 372—455.
- Manwell, C., 1965. Sea cucumber sibling species: Polypeptide chain types and oxygen equilibrium of hemoglobin. *Science* **152** : 1393—1395.
- Manwell, C. and C.M.A. Baker, 1963. A sibling species of sea cucumber discovered by starch gel electrophoresis. *Comp. Biochem. Physiol.* **10** : 39—53.
- Manwell, C. and W. Childers, 1963. The genetics of hemoglobin in hybrids-I. A molecular basis for hybrid vigor. *Comp. Biochem. Physiol.* **10** : 103—120.
- Markert, C.L., 1968. The molecular basis for isozymes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **151**(1) : 14—40.
- Markert, C.L. and F. Møller, 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **45** : 753—763.
- Neaves, W.B., 1969. Adenosine deaminase phenotypes among sexual and parthenogenetic lizard in the genus *Cnemidophorus* (Teiidae). *J. Exptl. Zool.* **171** : 171—184.
- Nelson, C.E. and S.I. Guttman, 1973. Serum protein electrophoresis of some amphibia (Caeciliidae, Rhinophrynidae, Microhylidae). *Comp. Biochem. Physiol.* **44B** : 423—428.
- Rodnan, G.P. and F.G. Ebaugh, 1957. Paper electrophoresis of animal hemoglobins. *Proc. Soc. Exptl. Med.* **95** : 397—401.
- Romer, A. S., 1956. *Osteology of the Reptiles*. Univ. Chicago Press, Chicago, Ill.
- Sibley, G.C., 1970. A comparative study of the egg-white proteins of passerine birds. *Peabody Mus. Nat. Hist. Bull.* **32** : 1—131.
- Sibley, G. C. and J. E. Ahlquist, 1972. A comparative study of the egg white proteins of non-passerine birds. *Peabody. Mus. Nat. Hist. Bull.* **39** : 1—276.
- Smith, I. 1960. *Chromatographic and electrophoretic techniques*. II. zone electrophoresis. 2nd Ed., John Wiley, New York, N.Y.
- Stephen, W.P. and I.H. Cheldelin, 1973. Phenetic groupings in bees of the tribe Bombini based on the enzyme alpha-glycerophosphate dehydrogenase. *Biochem. Syst.* **1** : 69—79.
- Tamsmitt, J.R. and D. Valdesco. 1969. Hemoglobin electrophoresis in the systematics of bats (Microchiroptera). *Life Sci. Occ Pap., R. Ont. Mus. No.* **14** : 1—12.
- Taniguchi, N., A. Ochiai and T. Miyazaki. 1972. Comparative studies of the Japanese Platycephalid fishes by electrophoregrams of muscle. LDH and MDH. *Japan, J. Ichthyol.* **19** : 89—96.

- Underwood, G., 1967. A contribution to the classification of snakes, Trustees, of the British Museum (Natural History). London.
- Uzzell, T. and I.S. Darevsky, 1973 a. The relationships of *Lacerta portschinskii* and *Lacerta raddi* (Snuria, Lacertiae). *J. Herpetol.* **29** : 1--6.
- Uzzell, T. and I.S. Darevsky, 1973 b. Electrophoretic examination of *Lacerta mixta*, a possible hybrid species (Sauria, Lacertidae). *J. Herpetol.* **7** : 11--15.
- Uzzell, T.M. and S.M. Goldblatt, 1967. Serum proteins of salamanders of the *Ambystoma jeffersonianum* complex and the origin of the tribloid species of their group. *Evolution* **21** : 345--354.
- Vesell, E.S. 1968. Multiple molecular forms. 2nd Conference. (E.S. Vesell, editor) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **151**(1) : 1--689.
- Webster, T.P. and J.M. Burns, 1973. Dewlap color variation and electrophoretically detected sibling species in a Haitian lizard. *Anolis brevirostris*. *Evolution* **27** : 368--377.
- Wilson, A.C., N.O. Kaplan, L. Levine, A. Pesce, M. Reichlin and W.S. Allison, 1964. Evolution of lactate dehydrogenases. *Fed. Proc.* **23** : 1258--1266.
- Wróblewski, F., 1961. Multiple molecular forms of enzymes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **94**(3) : 655--1030.