

갈겨니 (*Zacco temmincki*)의 進化에 관한 研究 II.
갈겨니 2型の 核型分析

이 혜 영·조 정 우·양 서 영
(인하대학교 이과대학 생물학과)

Evolutionary Study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*) II.
Chromosome Analysis of Two Types of *Mdh*

Hei Yung Lee, Jeong Woo Cho, and Suh Yung Yang
(Department of Biology, Inha University)
(1986. 6. 2. 접수)

ABSTRACT

Comparative study of karyotypes in two allotypes (*Mdh-1^{MM}* and *Mdh-1^{MS}*) of the dark chub (*Zacco temmincki*) was examined. Both types had diploid number of 48 but the 7th chromosome was strikingly different between them. The chromosomes of *Mdh-1^{MM}* type was consisted of 6 pairs of metacentrics, 6 pairs of submetacentrics, and 12 pairs of acrocentrics whereas the chromosomes of *Mdh-1^{MS}* type had 7 pairs of metacentrics, 5 pairs of submetacentrics and 12 pairs of acrocentrics.

No hybrid type between these two types was found in sympatric area at Tongchon River Namhae. Probable reproductive isolation between them was discussed.

序 論

잉어과의 피라미亞科에 속하는 갈겨니 (*Zacco temmincki*)는 領東 北部 지역의 일부를 제외한 남한의 전지역의 각河川 및 일부 島嶼지방에 까지 분리 분포하고 있는 1차 淡水魚이다 (Jeon, 1980). Lee 등 (1984)과 Cho (1985)에 의해 한국산 갈겨니의 核型이 보고 되어 있으며, Ojima 등 (1972)은 일본산 갈겨니의 核型을 分析, 발표하였으나, 이들의 核型 分析 결과는 다소 차이를 보이고 있다. 즉, Lee 등 (1984)은 核型 分析 결과 염색체 수는 $2n=48$ 로 10 metacentric chromosome (M)과 28 submetacentric chromosome (SM), 그리고, 10 telocentric chromosome (ST)으로 구성되었으며, Arm number (AN)는 86으로 報告하였으나, Cho (1985)의 연구 결과에 의하면 $2n=48$ 로 染色體 수는 Lee 등 (1984)의 결과와 동일하나 核型

본 연구는 1985년도 문교부 기초과학연구 육성연구비의 지원을 받아 수행되었음.

分析 결과 16M, 20SM, 12A고 AN은 84로 보고하였다. 일본산 갈겨니의 경우 Ojima 등 (1972)의 報告에 의하면, $2n=48$ 로 염색체의 수는 한국산 갈겨니와 동일 하였으나, 核型 分析 결과, 18M, 22SM+ST, SA이었고, AN=88로 많은 차이를 나타내고 있다. Yang 등 (1984)은 電氣泳動法을 이용하여 한국산 피라미 亞科 4種의 遺傳的 變異 및 類緣 關係를 연구 보고 한 바 있고, 또한, 양 등(1987)은 지리적 분포에 따른 갈겨니의 酵素 및 蛋白質을 分析 한 결과, 細胞質 MDH(Malate dehydrogenase)에는 MM型 同型 接合子和 MS型 異型 接合子の 2型이 있음을 밝힌 바 있고, 이들 2型은 peptidase와 連關 關係에 있으며, 東海岸 일대와 南海岸 일부 水系에는 MM型 集團만 分布되어 있고, 그 외의 內陸地方에는 MS型만 分布하고 있음을 밝힌 바 있다. 그러나 南海의 동천천에는 이들 두型이 共棲하고 있으면서 이들 사이에 中間型이 없는 점으로 미루어 보아 이들 2型 사이에 生殖的 隔離가 形成되어 있어 別種일 가능성이 있는 것으로 보고 한바 있다. 본 연구는 電氣泳動法에 의해 밝혀진 *Mdh-1^{MM}*과 *Mdh-1^{MS}*의 2型에 대한 核型을 比較 分析하여 이들간에 核型的 차이 유무를 비교 검토 함으로써 이들 2型的 種分化 여부를 구명하고자 시도하였다.

본 연구를 위해 적극 협력해준 인하대학교 생물학과 박 창신군과 민 미숙양께 깊은 감사를 드린다.

材料 및 方法

1. 材 料

實驗에 사용한 갈겨니(*Zacco temmincki*)는 1985年 7月 24日 慶南 南海郡 동천천에서 MM型 6개체, MS型 13개체 등 총 19개체를 採集하여 실험재료로 사용하였다.

2. 方 法

實驗 材料에 0.5% colchicine 용액을 체중 1g당 0.1 ml씩 腹腔 注射 한 후, 그물에 담아 물 흐름이 완만한 수역에 3시간 동안 방치하였다. 電氣 泳動 分析을 위한 筋肉을 적출한 후, 染色體 分析을 위해 Lee 등(1984)의 方法에 의해 脊髓를 적출하였다. 脊椎骨을 0.5 cm 길이로 자른 후, 0.075 M KCl 용액을 주사기에 담아 脊髓管道내의 脊髓를 遠心 分離管에 적출하였다. 20분간 실온에서 低張液 處理를 한 후 1,000 g로 5분간 遠心 分離한 細胞들을 4°C에 보관한 acetic-alcohol(glacial acetic acid 1 : methanol 3)로 1차 固定시키고, 再遠心 分離하여 1~2 ml 정도의 acetic alcohol에 稀釋하였다. 이 稀釋液을 4°C 증류수에 보관하였던 slide 위에 2~3 방울 떨어뜨려 染色體 標本을 作成한 후 공기 건조하였다. 완전히 공기 건조 된 slide는 20°C에서 5% Giemsa 용액으로 10분간 染色하였다. 染色體는 Olympus BH 현미경으로 330배의 배율로 촬영하여 핵형 분석 및 염색체의 relative length를 Nishioka (1972)의 방법으로 분석하였다.

結 果

一般 染色法에 의한 核型 分析 結果 *Mdh-1^{MM}*型 *Mdh-1^{MS}*型은 모두 염색체 수가 $2n=48$ 이었다. centromere index(C.I.: short arm \times 100/long arm length)를 구하여 50.5~37.5는 metacentric chromosome, 37.5~25.0은 submetacentric chromosome, 25.0~0은 acrocentric chromosome으로 染色體의 형태, 구성을 분류하였다. MM型的 核型은 metacentric chromo-

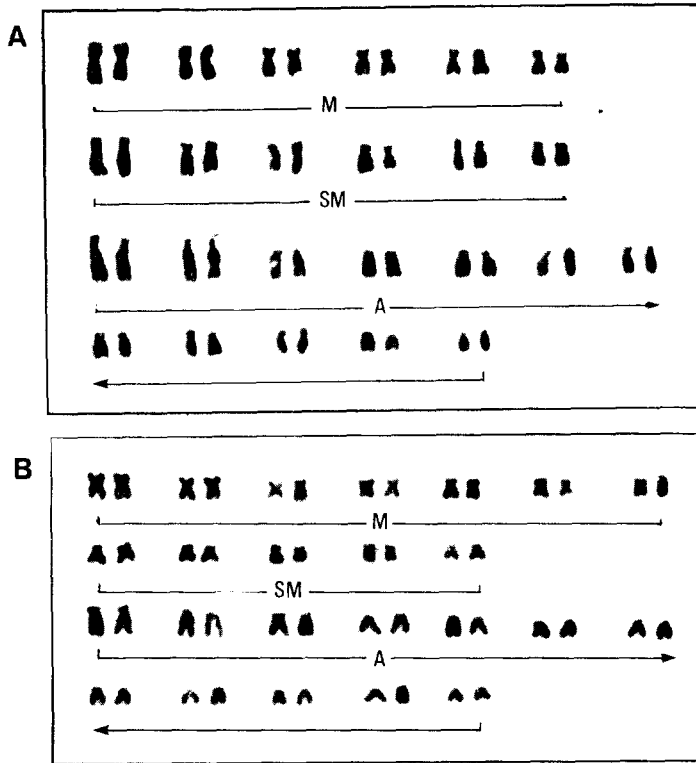


Fig. 1. The karyotype of *Zacco temmincki*. A : MM type (Namhae) B : MS type (Namhae)

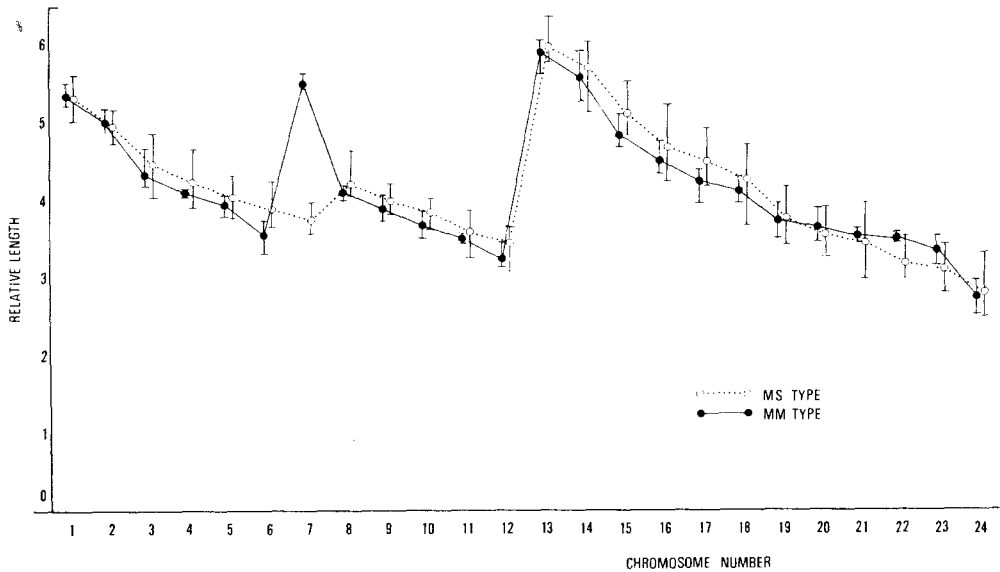


Fig. 2. Comparative representation of relative length of *Zacco temmincki*.

Table 1. Relative length for the chromosomes *Zacco temmincki*. (Unit : %)

	MM type			Chromosome type	MS type			Chromosome type
	Mean±SD	Maximum	Minimum		Mean±SD	Maximum	Minimum	
1	5.36±.12	5.56	5.24	M	5.31±.23	5.63	5.03	M
2	5.01±.12	5.19	4.87	M	4.97±.17	5.20	4.68	M
3	4.33±.19	4.68	4.19	M	4.49±.31	4.88	4.04	M
4	4.11±0.3	4.17	4.08	M	4.26±.25	4.66	3.92	M
5	3.95±.11	4.06	3.80	M	4.05±.20	4.34	3.77	M
6	3.57±.19	3.75	3.33	M	3.90±.17	4.25	3.66	M
7	5.52±.07	5.64	5.45	SM	3.76±.14	3.99	3.59	M
8	4.12±0.7	4.21	4.01	SM	4.22±.18	4.65	4.07	SM
9	3.91±.11	4.09	3.74	SM	4.01±.10	4.21	3.83	SM
10	3.68±.11	3.86	3.52	SM	3.85±.14	4.03	3.64	SM
11	3.52±.04	3.56	3.46	SM	3.60±.20	3.89	3.26	SM
12	3.26±.13	3.46	3.15	SM	3.45±.17	3.67	3.10	SM
13	5.88±.16	6.05	5.62	A	5.99±.24	6.36	5.77	A
14	5.57±.29	5.91	5.26	A	5.71±.28	6.03	5.13	A
15	4.83±.16	5.12	4.69	A	5.13±.25	5.52	4.84	A
16	4.52±.17	4.72	4.32	A	4.70±.33	5.24	4.25	A
17	4.25±.16	4.39	3.96	A	4.51±.23	4.93	4.20	A
18	4.12±.13	4.32	3.96	A	4.28±.25	4.71	3.68	A
19	3.73±.19	3.96	3.51	A	3.79±.25	4.18	3.43	A
20	3.65±.15	3.90	3.47	A	3.58±.21	3.91	3.26	A
21	3.53±.07	3.64	3.45	A	3.43±.27	3.91	2.99	A
22	3.49±.05	3.59	3.45	A	3.17±.17	3.54	2.99	A
23	3.35±.10	3.49	3.17	A	3.09±.23	3.43	2.80	A
24	2.74±.19	2.97	2.52	A	2.78±.35	3.32	2.29	A

M : Metacentric chromosome, SM : Submetacentric chromosome, A : Acrocentric chromosome

ome 6쌍 submetacentric chromosome 6쌍 acrocentric chromosome 12쌍, arm number는 72로 분석되었다(Fig. 1, Table 1). 한편, MS형의 核型은 metacentric chromosome 7쌍, submetacentric chromosome 5쌍, acrocentric chromosome 12쌍, arm number는 72로 分析 되었다(Fig. 1, Table 1).

또한, 각 染色體와 전체 길이에 대한 비로 relative length (Total length×100/genome length)를 구한 결과, MM형의 metacentric chromosome은 5.36~3.57, submetacentric chromosome은 5.52~3.26, acrocentric chromosome은 5.57~2.74로 나타났으며, MS형의 metacentric chromosome은 5.31~3.76, submetacentric chromosome은 4.22~3.45, acrocentric chromosome은 5.99~2.78로 나타났다. MM형의 metacentric chromosome 6쌍의 total relative length는 26.33, submetacentric chromosome 6쌍의 total relative length는 24.01, acrocentric

chromosome 12쌍의 total relative length는 49.66이었으며, MS型の 경우 7쌍의 metacentric chromosome의 total relative length는 30.74, 5쌍의 submetacentric chromosome의 total relative length는 19.13, 12쌍의 acrocentric chromosome의 total relative length는 50.16로 acrocentric chromosome의 total relative length는 두型에서 차이가 없었으나, metacentric chromosome과 submetacentric chromosome의 경우 수에 차이에 의한 두型 사이의 relative length의 차이를 볼 수 있었다(Fig. 2).

考 察

染色體 分析 결과에 따르면 극소수의 예외는 있으나, 일반적으로 近緣 種간의 genome size는 일정한 것으로 알려져 있다(Pathal *et al.*, 1973). 또한 核型의 差異는 染色體 突然變異에 의한 결과이고, arm number의 변화없이 染色體의 형태만이 변화하는 Robertsonian rearrangement의 예가 보고 되어 있다. 이러한 染色體의 변화가 種分化和 밀접한 관계가 있다는 사실은 Rodent(Elder, 1980)와 Lemur(Rumpler *et al.*, 1983)등의 연구 결과에서 밝혀져 있다.

갈겨니의 *Mdh-1^{MM}*型和 *Mdh-1^{MS}*型에 대한 核型 分析 결과, acrocentric chromosome은 각각 12쌍이고, arm number 또한 72로 동일하나, metacentric chromosome의 수에 있어 MM型은 6쌍, MS型은 5쌍으로 차이가 있고, submetacentric chromosome 또한 MM型은 6쌍, MS型은 7쌍으로 차이가 있음을 알 수 있다. metacentric chromosome과 submetacentric chromosome의 차이를 分析하기 위해 relative length를 비교해 본 결과, 거의 모든 染色體의 relative length에는 큰 차이가 없으나, 제 7번 染色體는 MM型이 5.52 ± 0.07 인데 반하여 MS型은 3.76 ± 0.14 로 큰 차이를 나타내고 있다. 또한, 두 型의 acrocentric chromosome의 total relative length는 MM型은 49.66, MS型은 50.16으로 차이가 없는데 반하여, metacentric chromosome의 total relative length는 MM型은 26.33, MS型은 30.74이고, submetacentric chromosome은 MM型이 24.01, MS型은 19.13으로 차이가 있음을 알 수 있다. 이와 같은 차이는 제 7번 染色體의 차이에 의한 결과로 확인되었으며, 이러한 現象은 microchromosomal segment나 heterochromatic segment의 첨가 또는 결실에 의한 결과로 추측된다. 거북의 1種인 *Rhinoclemmys*(Bickham and Baker, 1976)에서 microchromosomal segment의 첨가에 의한 種分化的 예가 보고 되었으며, malagasy lemur의 1種인 *Propithecus verreauxi*는 Robertsonian translocation의 반복에 의해 種分化的 된 것으로 보고되어 있다(Rumpler *et al.*, 1983).

染色體 再組合 증 전좌나 역위 現象은 表現形質의 이상을 나타내는 경우와 특이한 형질 표현이 전혀 일어나지 않는 경우가 있다. 또한, 染色體 再組合이 일어난 개체는 정상적인 염색체와의 접합 과정에서 異型接合子인 개체들이 불임을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한, 近緣種간의 雜種은 자연 상태에서 일반적으로 接合子 形成이 억제되나, 인위적으로 실험실내에서 혹은 드물게 자연 상태에서 雜種이 형성된다(Futuyma, 1979). 染色體 再組合 現象을 일으킨 染色體 雜種은 配偶子 형성시, 혹은 發生 후반 단계에서 정상적인 染色體 分離가 억제됨에 따라 分離 不姓(segregational sterility)를 보인다(Dobzhansky, 1977). 이와 같은 例로 보아 갈겨니 두型에서 중간 型이 발견되지 않는 이유는 첫째로, *Rana sylvatica*와 *R. pipiens*의 雜種(Moore, 1961)에서 보고된 바 있는 E_1 雜種의 囊胚期 初期에서 즉

는 경우, 때로 정상적으로 발생하나 완전 불妊인 경우, 혹은 交配 行爲의 차이로 生殖이 不可能해지는 경우와 둘째로, 애초과 식물인 *Primula verticillata*와 *P. floribunda*의 예 (Stebbins, 1950)에서 볼 수 있는 染色體 構造의 차이로 인한 완전 불妊의 경우, 셋째로 초파리의 *Drosophila pseudoobscura*와 *D. persimilis*의 雜種의 예 (Dobzhansky, 1970)에서 보고된 바 있는 경우와 같이 染色體 變은 정상적으로 형성되나 수컷이 완전 불妊이 되는 경우 등으로 說明될 수 있을 것으로 추측된다.

따라서, 본 研究 結果를 토대로, 실험실내에서 갈겨니 두형의 配胚 실험을 통해 이들간의 配胚 可能性을 확인하고, 만일 雜種이 可能할 경우, 이들간의 F₁개체의 發生 단계 관찰 및 體細胞의 染色體를 조사하고, 인위적으로 성장하여 成體가 되었을 경우, 이들의 減數分裂을 조사함으로써 이들 두형간의 완전한 生殖的 隔離가 형성되었는지를 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

要 約

電氣泳動法에 의해 *Mdh-1^{MM}*, *Mdh-1^{MS}* 두 allotype으로 분류된 경상남도 남해군 동천천産 갈겨니 (*Zacco temmincki*)의 核型을 비교하였다.

이들 두형의 염색체수는 2n=48로 동일하지만, 7번째 염색체는 *Mdh-1^{MM}*형은 Submetacentric chromosome, *Mdh-1^{MS}*형은 metacentric chromosome으로 큰 차이를 보였다. 따라서, *Mdh-1^{MM}*형은 6쌍의 metacentric chromosome과 6쌍의 submetacentric chromosome 및 12쌍의 acrocentric chromosome으로 구성되어 있으나, *Mdh-1^{MS}*형은 7쌍의 metacentric chromosome과 5쌍의 submetacentric chromosome 및 12쌍의 acrocentric chromosome으로 구성되어 있음을 알 수 있다.

이러한 sympatric한 지역에서 이들 두형의 hybrid형이 존재하지 않는 점으로 보아 이들사이에는 生殖的 隔離가 일어난 것으로 추측된다.

인 용 문 헌

- Bickham, J.W. and R.J. Baker, 1967. Chromosome homology and evolution of Emydid turtles. *Chromosoma*, 54:201-219.
- Cho, J.W., 1985. Karyotypic analysis of Korean Genus *Zacco* by banding technique. M.S. Thesis, Inha University.
- Dobzhansky, Th., 1970. Genetics of the evolutionary process. Columbia Univ. Press, New York.
- Dobzhansky, Th., F.J. Ayala, G.L. Stebbins, and J.W. Valentine, 1977. Evolution. pp.210-218. W. H. Freeman and Company.
- Futuyma, D.J., 1979. Evolutionary Biology. pp.192-197. Sinauer Associates, Inc.
- Jeon, S.R., 1980. Studies on the distribution of fresh-water fishes from Korea. Ph.D. Dissertation, University of Chung Ang.
- Lee, H.Y., C.H. Yu, S.K. Jeon, and H.S. Lee, 1983. The karyotype analysis on 29 species of fresh water fish in Korea(I). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.*, 4:79-93.
- Lee, H.Y., H.S. Lee, J.W. Cho, and Y.O. Lee, 1984. The karyotype analysis on 21 species of fresh

- water fish in Korea(Ⅱ). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* 5:125-141.
- Moore, J.A. 1961. A cellular basis for genetic isolation. *In.*: Vertebrate Evolution W.F. Blair (ed.), pp. 62-68. Univ. Texas Press.
- Nishioka, M., 1972. The karyotypes of the two sibling species of Japanese pond frogs, with special reference to those of the diploid and triploid hybrid. *Sci. Rep. Lap. Amphibian Biol., Hiroshima Univ.*, 1:319-337.
- Ojima, Y., M. Hayashi, and K. Ueno, 1972. Cytogenetic studies in lower vertebrates karyotypes and DNA studies in 15 species of Japanese Cyprinidae. *Jap. J. Genetics*, 47:431-440.
- Pathak, S., T.C. Hsu, and F.E. Arrighi, 1973. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae) *N*. The role of heterochromatin in karyotype evolution. *Cytogenet. Cell Genet.*, 12:315-326.
- Rumpler, Y., J. Couturier, S. Warter, and B. Dutrillaux, 1983. Chromosomal evolution in Malagasy lemurs *III*. Phylogenetic relationship between *Propithecus*, *Avahi* (Indridae), *Microcebus* (Cheirogaleidae), and *Lemur* (Lemuridae). *Cytogenet. Cell Genet.*, 36:542-546.
- Stebbins, G.L., 1950. Variation and evolution in plants. Columbia Univ. Press, New York.
- 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.
- 양서영, 민미숙, 김영진, 1987. 갈겨니 (*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 I. 한국동물학회지 (submitted).