

## 한국산 노랑초파리군(*Drosophila melanogaster* group) 8종의 진화유전학적 연구 : 생식적 격리 및 단백질 분석

\*김남우 · 이택준 · 송은숙

\*경산대학 생물학과, 중앙대학교 생물학과

한국산 노랑초파리군에 속하는 8종의 유전적 유연관계를 밝히고자 생식적 격리 그리고 수용성 단백질을 전기영동법으로 분석하였다. 생리적 격리 실험에서 교배전격리 실험결과를 Watanabe와 Kawanishi model에 근거하여 보면 *D. auraria* complex 3종 중 *D. triauraria*가 원시종이며 *D. auraria*는 파생종으로 나타났다. 교배후 격리 실험에서 *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 교배시, *D. melanogaster*를 수컷으로 하였을 때는 불임의 수컷만이, 또 *D. melanogaster*를 암컷으로 하였을 때는 불임의 암컷만이 출현하였다. 그리고 *D. auraria* complex 3종간의 교배에서는 수정 능력이 있는 수컷과 암컷이 출현하였는데, 이는 아직 *D. auraria* complex가 semispecies단계에 있음을 나타내는 것이라 할 수 있다. SDS-PAGE로 분석한 노랑초파리군 8종의 band pattern을 densitometer로 scanning한 결과 *D. suzukii*가 가장 특이하였으며, TDE에 의한 유전적 거리(Aquadro and Avise's)는 *D. auraria*와 *D. triauraria*사이가 0.155로 가장 낮았고, *D. melanogaster*와 *D. rufa* 사이가 0.422로 가장 높았다. 본 연구의 결과를 UPGMA법으로 분석하면, 한국산 노랑초파리군 8종은 4개의 아군으로 나뉘어지며 이들은 2개의 다른 큰무리로 구분되었는데, *D. suzukii*의 아군, *D. lutescens*의 아군, *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 아군이 속한 큰무리와, *D. rufa*, *D. auraria*, *D. bauraria* 그리고 *D. triauraria*가 속한 다른 큰무리로 나눌 수 있다.

**KEY WORDS:** Evolutionary genetics, *D. melanogaster* species group.

노랑초파리군(*Drosophila melanogaster* group)은 *Drosophila*속 중 *Sophophora*아 속에 속하며 전세계에 150여 종이 알려져 있어(Lemeunier *et al.*, 1986) 진화유전 연구의 좋은 재료이다. 한국에 분포하고 있는 노랑초파리군은 12종으로 한국산 초파리과 112종 중 9.3%에 해당된다(Lee and Kim, 1987).

서로 다른 종간에 있어서 성적격리 상태가 불완전할 때 교배실험 결과를 토대로 종간의 유연관계를 추정할 수 있으며, Kaneshiro(1976, 1980), Watanabe와 Kawanishi(1979, 1981)는 서로 상반된 견해로 교배 선호에 따른 진화과정을 보고한 바 있다. 또한 Kurokawa(1976), Lee(1981)는 *D. auraria* complex에 대하여, Lee와 Watanabe(1987), Lee 등(1990)은 노랑초파리아군에 대하여, Kim 등(1989)은 *D. montium*아군의 성적격리

실험을 실시한 바 있다.

한편, 전기영동법이 생물의 종분화 과정을 구명하는데 이용되고 있다. Hubby와 Throckmorton(1965)은 acrylamide gel 전기영동법으로 *D. virilis*군 9종에 대한 수용성 단백질을 분석하고 종간유사도를 구하였으며 그 계통을 세포학적 실험결과와 비교하였다. 또한 Lee(1983)는 polyacrylamide gel electrophoresis로서 한국산 초파리과 28종에 대한 유연관계를 보고한 바 있다. Brown과 Langley(1979)는 이차원 전기영동(TDE)으로서 *D. melanogaster*의 heterozygosity에 대한 새로운 평가를 제시한 바 있고, Aquadro와 Avise(1981)는 설치류 8종에 대하여, Ohnishi 등(1983)은 *D. montium*아군 15종에 대하여 TDE로서 유전적거리를 산출하고 동위효소에 의하여 얻어진 유전적 거리와 비교하여 TDE가 계통학적

연구에 유용한 도구라고 하였다. 국내의 경우 Lee와 Pak(1985), Kim(1988)은 *D. auraria* complex에 대한 생화학적 계통을 보고한 바 있으며, Lee 등(1990)은 노랑초파리아군 8종에 대한 단백질, 갑종, mitochondrial DNA 분석에 의한 유연관계를 보고한 바 있다. 그러나 아직 한국산 노랑초파리아군 8종을 함께 분석한 예는 없다.

본 연구는 노랑초파리아군에 대한 진화유전학적 연구의 일단으로 한국에 분포하고 있는 8종을 대상으로 생식적 격리실험과 SDS-PAGE 및 TDE로 수용성 단백질을 분석하여 이들 종간의 유연관계를 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 한국산 노랑초파리아군의 채집지역은 다음과 같다.

- 1) *D. melanogaster* Meigen, 경기도 김포
- 2) *D. simulans* Sturtevant, 경상남도 김해시
- 3) *D. lutescens* Okada, 경기도 소리산
- 4) *D. suzukii*(Mastumura), 경기도 소리산
- 5) *D. rufa* Kikkawa & Peng, 전라남도 완도
- 6) *D. auraria* Peng, 경기도 김포
- 7) *D. bauraria* Bock & Wheeler, 경기도 소리산
- 8) *D. triauraria* Bock & Wheeler, 경기도 소리산

이중 1)과 2)는 *D. melanogaster*아군이며, 3)은 *D. takahashii*아군에 속한다. 그리고 4)는 *D. suzukii*아군이며, 5), 6), 7), 8)은 *D. montium*아군에 속한다(Lemeunier *et al.*, 1986). 이들 채집은 1989년 8월에서 10월 사이에 이루어졌으며, 채집후 24 ± 1°C, 습도 70%의 사육실에서 사육하며 실험에 사용하였다.

### 방법

#### 1) 생식적 격리

생식적 격리 실험중 교배전격리(premating isolation) 실험은 no-choice 방법으로 실시하였다. 즉 우화후 2일된 초파리 virgin 암컷과 다른

종의 초파리 수컷을 각각 10마리씩 표준배지가 들어있는 3 × 10 cm의 사육병에 넣어두고, 2일이 지난 후 암컷의 저정낭 속의 정충의 존재여부에 따라 교배여부를 판정하는 방법으로 수행되었고, 120마리 이상의 암컷을 조사하였다. 교배후격리(Postmating isolation) 실험은 중간 교배에서 태어난 F<sub>1</sub>을 양친의 암컷과 수컷에 역교배시켜 F<sub>2</sub>의 출현여부와 생식능력을 200쌍 이상 조사하였다.

#### 2) SDS-PAGE에 의한 수용성 단백질 분석

SDS-PAGE는 Laemmli(1970)의 방법에 따르며 약간의 수정을 하였다. 단백질시료는 초파리 수컷 7~8마리를 사용하였다.

영동이 끝난 gel은 0.125% coomassie brilliant blue R-250으로 염색하였으며 탈색 후 LKB 2202 ultrosan laser densitometer에서 630 nm의 파장으로 scanning하였다.

영동에 사용된 표준단백질로는 Phosphorylase B(W. M. 97,400), Bovine Serum Albumin(M. W. 68,000), Ovalbumin(M. W. 43,000), Carbonic Anhydrase(M. W. 29,000), Soybean Trypsin Inhibitor(M. W. 20,100) 및 Lysozyme(M. W. 14,300)을 사용하였다.

#### 3) TDE에 의한 수용성 단백질 분석

2차원 전기영동은 O'Farrell(1975)의 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 시료는 수컷 8마리로 하였으며 ampholine(pH 3.5-10, pH 5-8)을 사용한 isoelectrofocusing gel은 총 7600 V 시간(200 V-2 시간, 400 V-16시간, 800 V-1시간) 동안 1차 영동을 실시하였으며, 2차 영동은 8% SDS-PAGE slab gel에서 slab당 30 mA로 약 6시간 동안 실시하였다. TDE에 의한 유전적 거리는 Aquadro와 Avise(1981)의 공식에 의해 산출하였으며, spots의 산정은 TDE를 5회 이상 반복 실시하여 뚜렷이 식별 가능한 것 만으로 하였다.

## 결 과

### 생식적 격리

생식적 격리 실험중 교배전 격리와 교배후 격리 실험결과는 Table 1, 2와 같다.

한국산 노랑초파리군 8종의 종내 교배율은 *D. melanogaster*(98.13%)와 *D. simulans*(99.67%)가 높게 나타났고, *D. rufa*는 66.67%로 가장 낮은 종내 교배율을 보였으며, 한국산 노랑초파리군 8종의 평균 종내 교배율은 79.89%이었다.

종간 교배율은 성에 따라 교배율이 달랐다. *D.*

*melanogaster*와 *D. simulans*교배시 *D. melanogaster*를 암컷으로 사용하였을 때는 교배율이 35.53%이었으나, *D. simulans*를 암컷으로 사용한 경우에는 교배율이 8.50%로 조사되었다. *D. rufa*를 수컷으로 하였을 때는 *D. auraria* complex 3종과의 종간 교배가 낮은 비율(1.79%)로 이루어졌으나, *D. rufa*를 암컷으로 하였을 경우에는 *D. auraria*와만 교배(1.67%)되었다. *D. auraria* complex 3종간에는

**Table 1.** Percent of successful matings between the eight species of the *D. melanogaster* group.

Female	Male								
	<i>mela.</i>	<i>simu.</i>	<i>lute.</i>	<i>suzu.</i>	<i>rufa</i>	<i>aura.</i>	<i>biau.</i>	<i>tria.</i>	
<i>D. melanogaster</i>	98.125 (160)	35.526 (152)	0 (157)	0 (150)	0 (142)	0 (170)	0 (141)	0 (130)	
<i>D. simulans</i>	8.479 (153)	92.667 (150)	0 (142)	0 (150)	0 (120)	0 (140)	0 (140)	0 (140)	
<i>D. lutescens</i>	0 (160)	1.053 (190)	73.510 (151)	0 (150)	0 (126)	1.149 (174)	0 (134)	0 (150)	
<i>D. suzukii</i>	0 (140)	0 (150)	0 (136)	76.667 (150)	0 (150)	0 (150)	0 (150)	0 (148)	
<i>D. rufa</i>	2.376 (169)	0 (150)	0 (126)	0 (150)	66.667 (132)	1.667 (180)	0 (153)	0 (184)	
<i>D. auraria</i>	0 (150)	0 (150)	2.976 (168)	0 (150)	2.326 (172)	72.532 (233)	10.458 (153)	3.529 (180)	
<i>D. biauraria</i>	0 (150)	0 (150)	0 (113)	0 (150)	1.087 (168)	39.726 (146)	79.747 (158)	37.143 (140)	
<i>D. triauraria</i>	0 (150)	0 (150)	0 (162)	0 (150)	2.041 (147)	45.946 (148)	28.571 (147)	79.167 (144)	

( ): No. of females tested.

**Table 2.** Fertility of interspecific hybrids between the eight species of the *D. melanogaster* group.

Female	Male								
	<i>mela.</i>	<i>simu.</i>	<i>lute.</i>	<i>suzu.</i>	<i>rufa</i>	<i>aura.</i>	<i>biau.</i>	<i>tria.</i>	
<i>D. melanogaster</i>		♀S ♂L	0	0	0	0	0	0	
<i>D. simulans</i>	♀L ♂S		0	0	0	0	0	0	
<i>D. lutescens</i>	0	0		0	0	0	0	0	
<i>D. suzukii</i>	0	0	0		0	0	0	0	
<i>D. rufa</i>	0	0	0	0		0	0	0	
<i>D. auraria</i>	0	0	0	0	0		♀F ♂F	♀F ♂F	
<i>D. biauraria</i>	0	0	0	0	0	♀F ♂F		♀F ♂F	
<i>D. triauraria</i>	0	0	0	0	0	♀F ♂F	♀F ♂F		

F: Fertile, L: Lethal, S: Sterile.

모든 경우에서 교배가 이루어졌으며 *D. auraria* complex 3종의 평균 교배율은 26.40%이었다.

*D. melanogaster*와 *D. simulans*의 교배에서 나온  $F_1$ 은, *D. melanogaster*를 수컷으로 사용하였을 경우에는 불임의 수컷이었으며, *D. melanogaster*를 암컷으로 사용하였을 경우에는 불임의 암컷이었다. *D. rufa*는 *D. auraria* complex 3종과 교배되었으나  $F_1$ 은 출현하지 않았으며 *D. auraria* complex 3종 끼리의 종간 교배에서는 수정능력이 있는 암

수  $F_1$ 이 나타났다.

#### 1) SDS-PAGE에 의한 수용성 단백질 분석

노랑초파리군 8종을 SDS-PAGE로 분석한 전기 영동상을 ultrosan densitometer에서 630 nm로 scanning한 결과는 Fig. 1과 같다.

높은 분자량의 표준단백질에 관계된 구간부터 a, b, c, d, e, f, g의 구간으로 나누어보면, a구간 (M. W. 97,400이상)에서는 8종 모두에서 7개의

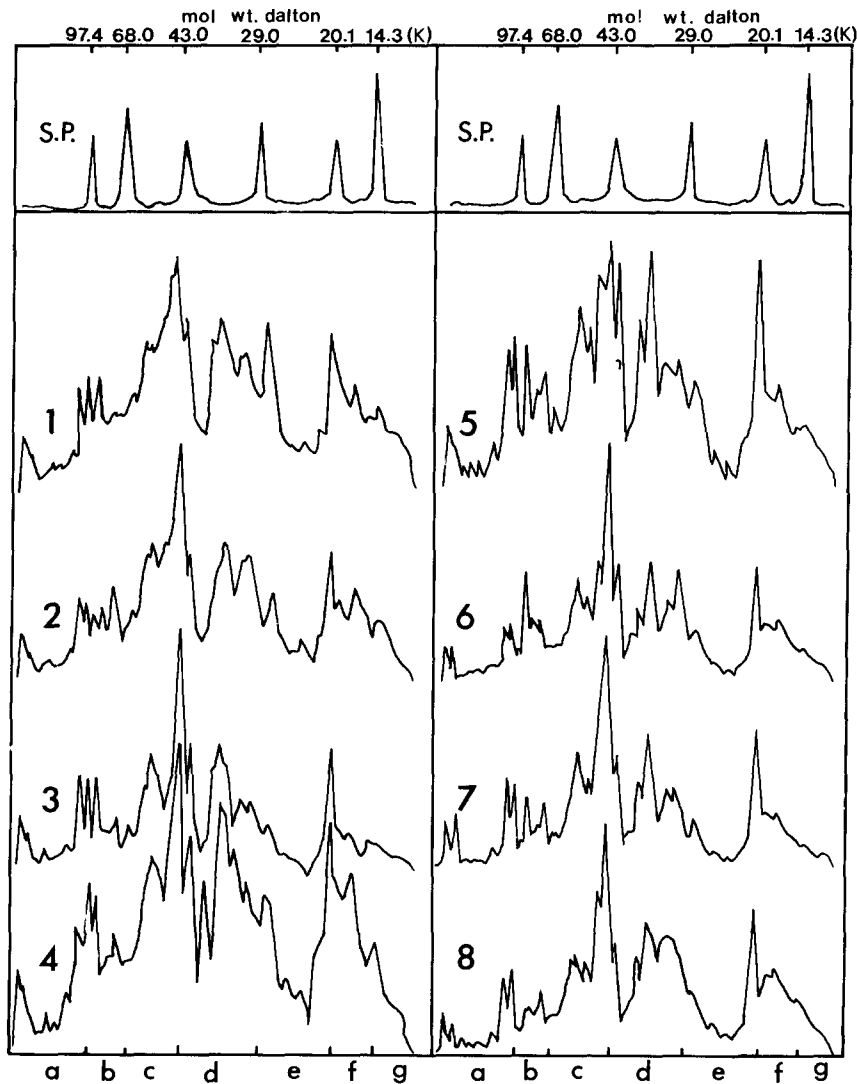


Fig. 1. Densitometric recordings of the electrophoretic patterns on the eight species of the *D. melanogaster* group. S.P. Standard protein, 1: *D. melanogaster*, 2: *D. simulans*, 3: *D. lutescens*, 4: *D. suzukii*, 5: *D. rufa*, 6: *D. auraria*, 7: *D. biararia*, 8: *D. triararia*.

band가 나타났으나 *D. lutescens*, *D. suzukii*, *D. rufa*의 peak 농도가 높았다. b구간(M. W. 97,400~68,000)에서는 *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 band가 유사하였으며, *D. lutescens*와 *D. suzukii*가 유사하였다. 그리고 *D. rufa*, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*의 band가 유사하였으나 *D. rufa*의 농도가 높았다. c구간(M. W. 68,000~43,000)에서는 각 종마다 농도가 높은 peak가 있었고, *D. suzukii*와 *D. rufa*는 강한 농도를 갖는 band가 2개씩 있었다. *D. simulans*와 *D. lutescens*의 band 양상이 유사하였으며, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*의 band 양상이 유사하였고 특히, *D. auraria*, *D. triauraria*의 band 양상이 유사하였다. d구간(M. W. 43,000~29,000)에서는 *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. lutescens*의 band 양상이 유사하였으며 특히, *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 band가 유사하였다. *D. rufa*, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*의 band 양상은 유사하게 나타났으며, *D. suzukii*는 2개의 강한 peak가 다른 7종과 달랐다. e구간(M. W. 29,000~20,000)에서는 8종 모두 유사하게 나타났으며 *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. suzukii*, *D. rufa*의 농도가 높았다. f구간(M. W. 20,100~14,300)과 g구간(M. W. 14,300 이하)에서는 분획이 뚜렷하지 않았으나 *D. melanogaster*와 *D. simulans*가 유사하였다. *D. rufa*, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria* 4종이 유사하였으나 *D. lutescens*와 *D. rufa*는 각각 다른 종들과 약간씩 차이를 보였다.

## 2) TDE에 의한 수용성 단백질 분석

TDE영동상에는 약 100여개의 단백질 spot가 나타났으며, Aquadro와 Avise(1981)의 공식에

의해 산출한 각종의 유전적 거리는 Table 3과 같다.

*D. auraria*와 *D. triauraria*간의 유전적 거리는 0.155로 가장 유사한 종이었으며, *D. auraria*와 *D. biauraria*, *D. biauraria*와 *D. triauraria*, *D. melanogaster*와 *D. simulans*사이의 유전적 거리는 각각 0.181, 0.172, 0.209로 가까운 종들이었다. 그리고 *D. suzukii*와 *D. rufa*간의 유전적 거리는 0.429로 가장 유연관계가 먼 종이었으며, *D. melanogaster*와 *D. rufa*, *D. melanogaster*와 *D. biauraria*, *D. auraria*와 *D. suzukii*간의 유전적 거리는 각각 0.422, 0.421, 0.420으로 조사된 8종들 가운데 유연관계가 먼 종들이다. 한국산 노랑초파리군 8종의 TDE에 의한 평균 유전적 거리는 0.368이었으며, *D. auraria* complex 3종의 평균 유전적 거리는 0.169로 매우 유연관계가 높았다. TDE에서 얻어진 유전적 거리를 UPGMA법(Sneath and Sokal, 1973)에 따라 작성한 계통수는 Fig. 2와 같다.

계통수에서 *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 무리, *D. lutescens*무리, *D. suzukii*무리, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa*의 무리로 구분되었다.

## 고 찰

노랑초파리군은 *Drosophila*속 *Sophophora*아속에 속하고 전세계에 150종이 분포하고(Lemeunier et al., 1986) 11개의 아군을 포함하며, 기원지는 동남아시아로 알려져 있다(Bock and Wheeler, 1972; Bock, 1980).

Kurokawa(1960, 1967)는 일본에 분포하고 있

**Table 3.** Genetic distance among the eight species of the *D. melanogaster* group obtained by TDE.

Species	<i>mela.</i>	<i>simu.</i>	<i>lute.</i>	<i>suzu.</i>	<i>rufa</i>	<i>aura.</i>	<i>biau.</i>
<i>D. simulans</i>	0.209						
<i>D. lutescens</i>	0.368	0.395					
<i>D. suzukii</i>	0.394	0.407	0.399				
<i>D. rufa</i>	0.422	0.414	0.418	0.429			
<i>D. auraria</i>	0.403	0.399	0.406	0.409	0.330		
<i>D. biauraria</i>	0.421	0.413	0.417	0.420	0.331	0.181	
<i>D. triauraria</i>	0.407	0.411	0.414	0.414	0.355	0.155	0.172

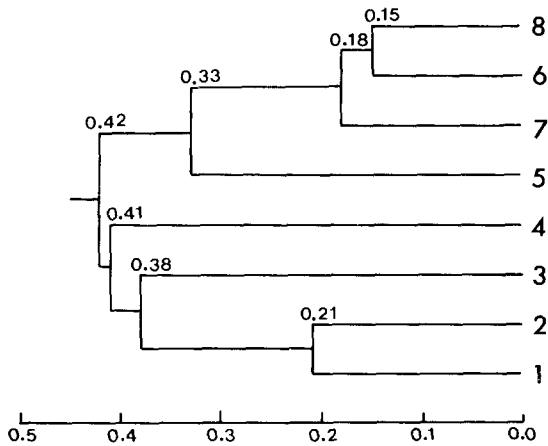


Fig. 2. A dendrogram showing the phylogenetic relationships among the eight species of the *D. melanogaster* group, based on data of genetic distance obtained by two-dimensional electrophoresis.

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

는 *D. auraria*, *D. biauraria* 및 *D. triauraria*의 3종에 대한 성적 격리실험을 multiple choice 방법으로 실시한 결과, *D. auraria*가 원시형이고 *D. biauraria*가 진화형이라고 보고하였다. 그리고 Lee(1970, 1981)는 *D. auraria* complex 4종을 대상으로 성적 격리실험을 수행하여 *D. quadraria*가 가장 원시형이고 *D. quadraria*에서 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 각각 분화되었고, *D. triauraria*에서 *D. biauraria*로 2차적 분화가 이루어졌을 것으로 추정하였다.

한편, 상호교배가 가능한 초파리 종들간에 no-choice 방법으로 성적 격리실험을 실시하여 계통을 추정하는 상반된 model이 제안되었다. 즉, Kaneshiro(1976, 1980) model과 Watanabe와 Kawanishi(1979, 1981) model로서, Kaneshiro model은 진화된 종의 암컷은 조상종의 수컷을 선호한다는 것이며, Watanabe와 Kawanishi model은 조상종의 암컷은 진화종의 수컷을 선호한다는 것으로 요약될 수 있다. Lee와 Watanabe(1987)는 노랑초파리아군 8종의 성적 격리실험을 수행하고 Watanabe와 Kawanishi model을 적용하여 진화적 계통수를 보고한 바 있으며, Kim 등(1989)은 *montium*아군 17종에 대하여 보고하였는데, *D. auraria* complex에서는 *D. quadraria*가 가장 원시종이고 *D. auraria*가 가장 최근에 분화된 종이

라고 하였다.

본 연구의 no-choice 방법으로 행한 성적 격리 실험 결과를 Watanabe와 Kawanishi model에 근거하여 보면, *D. melanogaster*가 *D. simulans*보다 더 원시형으로 나타났으며 *D. auraria* complex는 *D. triauraria* → *D. biauraria* → *D. auraria*의 순으로 분석되었다. 이러한 결과는 Kim 등(1989)이 보고한 *D. biauraria* → *D. triauraria* → *D. auraria*의 결과와 차이가 있으나, 이러한 차이는 이들 종이 아직 종분화가 완성되지 않은 단계에 있기 때문에 나타난 현상이라 생각된다. 교배 후 격리현상은 유전자 흐름을 조절하는 중요한 역할을 하는데 잡종의 생산력이나 생존력을 감소시킴으로써 유전자 흐름을 제한한다. 본 연구에서 *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 교배에서는 *D. melanogaster*를 암컷으로 하였을 경우에는 불임인 암컷이, *D. melanogaster*를 수컷으로 하였을 경우에는 불임인 수컷이 출현한 것은 Lee와 Watanabe(1987)의 보고와 일치한다. 그리고 본 연구에서 *D. auraria* complex 3종간의 교배시에는 모든 경우에서 수정능력이 있는 F<sub>1</sub>이 출현한 것은 Kim 등(1989)이 *D. auraria*(♀)와 *D. triauraria*(♂)의 교배시에는 유충만이 출현한 것과 차이를 보였다. 그러나 이것은 Kimura(1987)가 보고한 *D. auraria* complex 5종을 대상으로 한 잡종연구에서 서식환경에 따라 F<sub>1</sub> 출현이나 수정능력이 달라지고 있음을 보고한 것에 근거하여 보면 본 실험결과와 Kim 등(1989)의 실험결과와의 차이는 한국집단과 일본집단의 서식환경 차이에서 비롯된 것이라 생각된다.

Lee와 Pak(1985)은 SDS-PAGE법으로 *D. auraria* complex 5종을 분석한 결과를 보고한 바 있다. 본 연구에서 SDS-PAGE분석 결과 분자량 68,000~29,000 dalton 사이에 주요 band가 존재하였다. 8종 중 *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*의 band pattern이 유사하였고, *D. suzukii*와 *D. lutescens*는 각각 다른 종과 차이를 나타내었으며, 특히 *D. suzukii*는 분자량 68,000~43,000 사이에서 특이적인 band가 존재하였다.

Lee와 Watanabe(1987), Kim 등(1989)은 각각 *melanogaster*아군과 *montium*아군을 대상으로 TDE와 생식적 격리실험을 실시하여 계통을 밝힌 바 있다. 그리고 Lee와 Pak(1985)은 *D. auraria*

complex 5종을 대상으로 TDE를 실시하여 얻은 유전적 거리를 근거로 유연관계를 밝힌 바 있다. 본 연구에서 TDE를 실시한 결과 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 가장 유연관계가 높았으며 *D. melanogaster*와 *D. rufa*가 가장 유연관계가 낮았다. TDE에 의한 결과를 UPGMA법으로 분석한 결과 *D. melanogaster*와 *D. simulans*가 묶여지고, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*, *D. rufa*가 묶여졌다. 그리고 *D. lutescens*와 *D. suzukii*는 유연관계가 먼 것으로 나타났다. *D. auraria* complex 3종과 *D. rufa*의 유연관계는 *D. auraria*와 *D. triauraria*가 1차로 묶여졌고 여기에 *D. biauraria*가 묶여졌다. *D. rufa*는 *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*의 무리에 묶여져 Ohnishi 등(1982)과 Kim 등(1989)에 의한 보고와 일치하였다.

한국산 노랑초파리군에 속하는 8종을 대상으로 생식적 격리, 수용성 단백질 분석을 실시하여 얻은 결과를 종합하여 보면, 실험대상 8종은 4개의 무리로 나눌 수 있었다. 즉, *D. melanogaster*와 *D. simulans*의 무리, *D. lutescens*무리, *D. suzukii*무리 그리고 *D. rufa*, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria* 4종의 무리로 구분되었다. 그리고 이들 4개의 무리는 2개의 큰 무리로 나누어졌는데, *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. lutescens*, *D. suzukii*가 속한 큰 무리와 *D. rufa*, *D. auraria*, *D. biauraria*, *D. triauraria*가 속한 큰 무리였다.

### 인용문헌

- Aquadro, C. F. and J. C. Avise, 1981. Genetic divergence between rodent species assessed by two dimensional electrophoresis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 784-3788.
- Bock, I. R., 1980. Current status of the *Drosophila melanogaster* species group (Diptera). *Syst. Entomol.* **5**: 341-356.
- Bock, I. R. and M. R. Wheeler, 1972. The *Drosophila melanogaster* species group. *Univ. Texas Publ.* **7213**: 1-120.
- Brown, A. J. L. and C. H. Langley, 1979. Revaluation of level of genic heterozygosity in natural population of *Drosophila melanogaster* by two dimensional electrophoresis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 2381-2384.
- Hubby, J. L. and L. Throckmorton, 1965. Protein differences in *Drosophila*. II. Comparative species, genetics and evolutionary problems. *Genetics* **52**: 203-215.
- Kaneshiro, K. Y., 1976. Ethological isolation and phylogeny in the *Plantibia* subgroup of Hawaiian *Drosophila*. *Evolution* **30**: 740-745.
- Kaneshiro, K. Y., 1980. Sexual isolation speciation and the direction of evolution. *Evolution* **34**: 437-444.
- Kim, B. K., 1988. Phylogenetic relationship of the seven species of the *Drosophila auraria* complex by two dimensional electrophoresis. *Korean J. Genetics* **10**: 77-84.
- Kim, B. K., T. K. Watanabe and O. Kitagawa, 1989. Evolutionary genetics of the *Drosophila montium* subgroup. I. Reproductive isolations and the phylogeny. *Jpn. J. Genet.* **64**: 177-190.
- Kimura, M. T., 1987. Habitat differentiation and speciation in the *Drosophila auraria* complex (Diptera, Drosophilidae). *Kontyu* **55**: 429-436.
- Kurokawa, H., 1960. Sexual isolation among the three races, A, B and C of *Drosophila auraria*. *Jpn. J. Genet.* **35**: 161-166.
- Kurokawa, H., 1967. Population genetics on three races of *Drosophila auraria* Peng. III. Geographical and ecological distribution of the races A, B and C, with speciation. *Jpn. J. Genet.* **42**: 110-119.
- Laemml, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.
- Lee, T. J., 1970. Genetic Studies in population of *Drosophila auraria*. *Theses collection, Chung-Ang Univ.* **15**: 239-258.
- Lee, T. J., 1981. Population genetics in the species complex of *Drosophila auraria*. *Rev. Tec. and Sci., Chung-Ang Univ.* **8**: 17-24.
- Lee, T. J., 1983. Systematic relationships among the species of Drosophilidae by the proteins electrophoretic analysis. *Theses collection, Chung-Ang Univ.* **27**: 105-130.
- Lee, T. J. and N. W. Kim, 1987. Systematic study of the Drosophilidae in Korea. *J. Nat. Sci., Chung-Ang Univ.* **1**: 113-129.
- Lee, T. J. and J. H. Park, 1985. Biochemical phylogeny of the *Drosophila auraria* complex. *Korean J. Genetics* **7**: 184-192.
- Lee, W. H., M. A. Yoo and J. K. Choo, 1990. Molecular genetic studies on the speciation of the *Drosophila melanogaster* subgroup: Relationships based on proteins, hybrids and mitochondrial DNAs. *Korean J. Genetics* **12**: 317-330.
- Lee, W. H. and T. K. Watanabe, 1987. Evolutionary genetics of the *Drosophila* subgroup. I. Phylogenetic relationships based on matings, hybrids and protein.

- Jpn. J. Genet.* **62**: 225-239.
- Lemeunier, F., J. R. David, L. Tsacas and M. Ashburner, 1986. The *melanogaster* species group. The genetics and biology of *Drosophila* Vol. 3e, pp. 147-253.
- O'Farrell, P. H., 1975. High resolution two dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* **250**: 4007-4021.
- Ohnishi, S., K. W. Kim and K. Watanabe, 1983. Biochemical phylogeny of the *Drosophila montium* species subgroup. *Jpn. J. Genet.* **58**: 141-151.
- Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy, W. H. Freeman and company, San Francisco 573pp.
- Watanabe, T. K. and M. Kawanishi, 1979. Mating preference and the direction of evolution in *Drosophila*. *Science* **205**: 906-907.
- Watanabe, T. K. and M. Kawanishi, 1981. A symmetrical mating success and the phylogeny of *Drosophila*. *Jap. Zool. Mag.* **90**: 217-224.

(Accepted February 29, 1992)

---

**Evolutionary Genetic Study on the Eight Species of the *Drosophila melanogaster* Group from Korea: Reproductive Isolation and Protein Analysis**

\*Nam Woo Kim, Taek Jun Lee, and Eun Suk Song (\*Department Biology, Kyung-San University, Kyung San, 712-240, Korea; Department Biology, Chugn-Ang University, Seoul, 156-756, Korea)

Phylogenetic relationships among the eight species of the *Drosophila melanogaster* group from Korea were investigated by reproductive isolation and soluble protein analysis. The result of the pre-mating isolation experiment was applied to estimate the relative age of the species. The evolving order was as follows: *D. melanogaster*, *D. simulans* in *melanogaster* subgroup, *D. triauraria*, *D. bauraria* and *D. auraria* in *D. auraria* complex of *montium* subgroup. In the post-mating isolation experiments the crosses between female *D. melanogaster* and male *D. simulans* produced sterile hybrid female but no male. In their reciprocal crosses, hybrid flies were all male and sterile. A total of different interspecific crosses of *D. auraria* complex were made to obtain fertile hybrid flies, which it suggests that *D. auraria* complex were still at the semispecies level. The electrophoretic banding patterns of the eight species analyzed by SDS-PAGE were scanned by densitometer, and their differences were confirmed. In the comparison between species, the genetic distance among the eight species by TDE were calculated according to Aquadro and Avise (1981) equation. The lowest value of the genetic distance (0.155) was appeared between *D. auraria* and *D. triauraria*, and highest value (0.422) was found between *D. melanogaster* and *D. rufa*. The result of SDS-PAGE and TDE analysis might suggest that the eight species of the *melanogaster* group from Korea consist of the four subgroups; the 1st subgroup of *D. melanogaster* and *D. simulans*, the 2nd subgroup of *D. lutescens*, the 3rd subgroup of *D. suzukii*, and the 4th subgroup of *D. rufa*, *D. auraria*, *D. bauraria* and *D. triauraria*.