

한국산 도롱뇽 (*Hynobius leechii*) 의 mitochondrial DNA 유전적 변이

이혜영 · 정은경

인하대학교 이과대학 생물학과

한국산 도롱뇽, *Hynobius leechii*의 7개 집단에서 mitochondrial DNA(mtDNA)의 변이가 조사되었다. MtDNA의 크기에서의 차이는 관찰되지 않았으나 제한효소 인식 부위에서의 차이가 조사되었다. MtDNA의 절편 양상은 각 집단에서 동일하게 나타났다. 제한효소로 처리하여 얻어진 절편의 비교에서 종내변이는 염기 치환에 의하여 발생한 것임이 분석되어졌다. 특히 하동과 제주 집단은 몇개의 제한 효소 인식 위치에서 나머지 5개 집단과 뚜렷한 차이를 보였다. 염기치환율(ρ 값)은 공통 절편 비율(F값)을 토대로 하여 얻어졌으며 그 값은 0.004에서 0.064의 범위 내의 값으로 측정되었다. 하동과 제주 집단을 제외한 5개 집단의 비교에서는 비교적 낮은 값의 염기 치환율을 보였으나 제주와 나머지 집단들과의 비교에서는 염기치환율이 높게 측정되었다. 염기 치환율과 관련지어 염기 분화 연대를 측정할 결과 도롱뇽 7개 집단은 3개의 group으로 나뉘어 졌으며 이들은 약 188만년 전에 분화된 것으로 사료되어 진다.

KEY WORDS: Mitochondrial DNA, Nucleotide sequence divergence, Base substitution

한국산 도롱뇽(*Hynobius leechii*)은 1887년에 처음 Boulenger에 의해 신종으로 발표된 이후 형태적, 동위효소 분석 결과 제주도 집단과 본토 집단에 차이가 있다고 보고하였으며(Yang *et al.*, 1982; Kim, 1988), 염색체와 골격분석에서도 제주도 집단과 본토 집단이 다르게 보고되었다(Jeon, 1982; Uh, 1992). 이상의 연구 결과를 토대로 하여 본 연구에서는 도롱뇽의 mtDNA의 변이 양상을 분석 하였다.

최근에 활발히 연구되고 있는 mtDNA는 모계 유전물질로 비암호 서열 부위가 존재하지 않으며 재조합현상이 일어나지 않는 특징을 가지므로 최근 종내 및 종간의 유연관계를 밝히는데 이용되어 왔다. 또한 mtDNA의 변이는 개체내에서 뿐만 아니라 집단내 및 집단간에서도 나타나므로 같은 종의 집단간에서는 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)로 부터 측정된 mtDNA 변이에 대한 많은 연구가 수행

되어져 왔다(Selender and Whittam, 1983). 종내 및 종간의 mtDNA에 대한 연구는 제한효소 처리에서 측정된 공통 절편값과 염기치환율에 의하여 계통학적인 연구와 진화학적인 연관성을 분석하는데 사용되었으며 특히 척추 동물에서 염기치환율에 의한 종내 변이는 각 분류군에 따라 다양한 양상으로 나타난다. 일반적으로 동물의 mtDNA는 식물이나 하등동물보다 염기치환이 빠르게 일어나며(Chapman *et al.*, 1982), 집단간의 변이는 집단내의 변이보다 더 높게 나타나므로 이러한 mtDNA는 집단의 계통을 측정하기 위하여 사용된다(Moritz *et al.*, 1987). 한국산 양서류 중 무미류 11종의 mtDNA의 분석 결과, 약 1% 이하의 비교적 낮은 종내 변이를 보고한 바 있으며(Lee and Park, 1991) 유럽에 분포하는 영원류 중 *Triturus cristatus*에서도 집단간에 0.8%의 낮은 염기치환율을 보였다(wallis, 1989).

본 연구는 도롱뇽의 집단내 및 집단간에서 염기치환율에 의한 종내 변이와 제한 효소를 사용하여 얻어진 절편들의 양상을 분석하여 그 유전적인 조성과 계통을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

한국산 도롱뇽의 mtDNA의 분석은 한국산 도롱뇽 7개 집단에서 총 116개체를 채집하여 사용하였으며 Zimmerman 등(1988)의 방법에 의하여 mtDNA를 분리 하였다. 11개의 제한 효소(*Bam* HI, *Bcl* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Bst* EII, *Cla* I, *Eco* RI, *Hin* dIII, *Pst* I, *Pvu* II, *Xba* I)를 사용, 처리한 후 0.8% agarose 전기영동하여 절편 양상을 분석하였으며 각 절편의 이동도에 따라 공통 절편수를 구하였고 Upholt (1977)의 공식에 의하여 공통 절편의 비율(F 값)과 염기치환율(p 값)을 구하였다. 염기 분화 값에 따른 염기 분화 정도는 UPGMA 방법에 의해서 그 거리를 측정하였다(Sneath and Sokal, 1973).

결과

각 제한효소를 처리한 결과 얻어진 도롱뇽 7개 집단의 mtDNA의 크기는 공히 약 15.3 Kb ± 0.1로 관찰되었다. 그러나 제한효소를 처리하여 얻어진 절편 양상에서는 총 절편수가 23에서 25

개로 차이가 있었다(Table 1). 구례, 파주, 청원, 인제, 정선 집단의 절편 양상은 비슷하게 나타났다으나 각각 1개 또는 2개의 제한효소에서만 차이를 보였다. 즉 구례와 파주 집단의 절편 양상 비교시 *Bcl* I에서만 차이를 보였으며 인제와 정선 집단은 *Bgl* I에서 그리고 파주와 청원 집단은 *Bst* EII, *Hin* dIII에서 다른 절편 양상을 보였다. 그러나 하동과 제주 집단은 위의 5개 집단과는 달리 비교적 많은 차이를 보였다. *Eco* RI에서 하동과 제주 집단이 다른 집단들과 절편 양상에서 차이를 나타냈다(Fig. 1). 하동 집단에서 8.7과 3.8 Kb의 절편이 관찰되었고 이들과 합은 다른 집단의 12.0 Kb의 절편과 일치하였다. 이는 *Bgl* II로 처리하여 얻어진 절편 비교에서도 비슷한 양상을 보였다(Fig. 2). 위와 같은 절편 양상을 토대로 하여 Table 2에서와 같이 집단간의 공통 절편수를 구한 결과 파주와 인제 집단이 23개의 공통 절편을 보여 7개 집단 중 가장 많은 공통 절편을 나타냈으며 파주와 청원 그리고 인제와 정선 집단이 22개의 공통 절편을 보였다. 그밖의 다른 집단들은 10개에서 20개의 범위안에서 공통 절편을 나타내었다. 하동과 제주 집단을 제외한 나머지 집단간의 공통절편수는 비교적 높게 나타났으나 하동과 제주 집단은 적은 공통 절편수를 보였고 특히 제주 집단은 청원 집단과 비교했을 때 8개로 가장 적은 공통 절편수를 보였다.

Table 2의 공통 절편수를 이용하여 그 비율(F 값)과 염기 치환율(p 값)을 구하였다(Table 3). F 값은 0.340에서 0.939까지의 범위내에

Table 1. Mitochondrial DNA fragment Numbers of *Hynobius leechii*.

Locality	Restriction Enzymes											Total
	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Bst</i> EII	<i>Cla</i> I	<i>Eco</i> RI	<i>Hin</i> dIII	<i>Pst</i> I	<i>Pvu</i> II	<i>Xba</i> I	
Hadong	0	5	1	3	1	1	4	5	3	0	0	23
Kurye	1	3	2	3	2	2	3	5	3	0	0	24
Paju	1	4	2	3	2	2	3	5	3	0	0	25
Chungwon	1	4	2	3	1	2	3	4	3	0	0	23
Inje	1	4	2	3	2	2	3	4	3	0	0	24
Jungson	1	4	1	3	2	2	3	4	3	0	0	23
Cheju	0	4	0	4	2	1	5	5	3	0	0	24

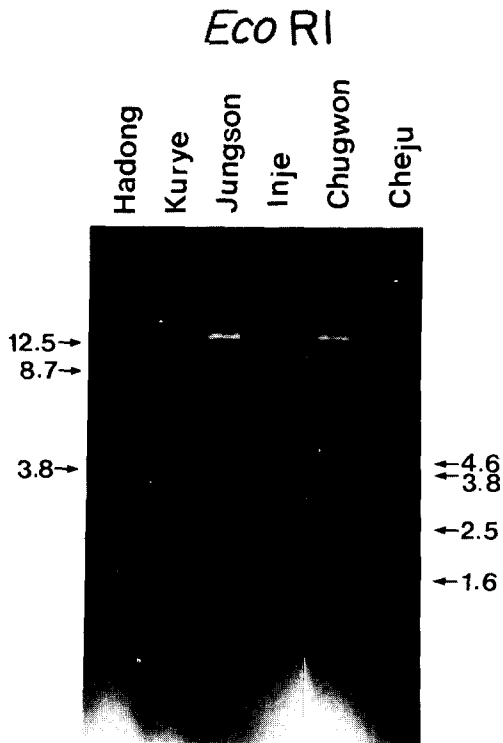


Fig. 1. Electrophoretic patterns of mtDNA restriction fragments digested with *Eco* RI. The evidence of one base substitution was identified between two small fragments (8.7 and 3.8 Kb from hadong population) and a large one (12.5 Kb from the others except for Cheju population). The pattern from Cheju population showed 3 steps of point mutation.

속하고 인제와 파주 집단간의 F값은 0.939로 가장 높은 값을 보인 반면 청원과 제주 집단은 0.340으로 가장 낮았다. 도롱뇽 7개 집단의 평균 F값은 0.669이며 하동과 제주 집단은 평균 F값보다 낮게 나타나 다른 집단들보다 유사성이 적었다. 염기치환율(p)에서 인제-파주 집단과 정선-인제 집단의 p값은 $p = 0.004$ 로 가장 낮은 염기치환율을 보였고 제주 집단과 나머지 집단간의 비교에서는 $p = 0.030$ 에서 $p = 0.064$ 까지의 염기치환율을 보여 7개 집단의 평균 염기치환율인 $p = 0.026$ 보다 높게 나타났다.

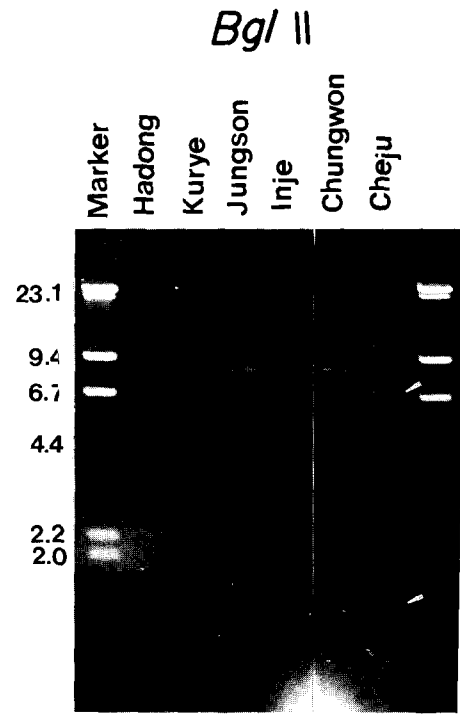


Fig. 2. Electrophoretic patterns of mtDNA restriction fragments digested with *Bgl* II. One restriction site gained in the fragment patterns (arrows).

고찰

한국산 도롱뇽 7개 집단의 mtDNA의 평균 크기는 15.3 Kb로서 대부분의 척추 동물의 mtDNA의 크기범위(15.7-23.0 Kb)내에 속하며 개체내 및 집단내의 mtDNA의 크기는 동일하여 비교적 안정된 양상을 보였다. 이들은 한국산 무미류의 mtDNA의 크기(Lee and Park, 1991)보다는 약간 작았으며 유미류 중 *Triturus* 속에 속하는 종의 mtDNA(Wallis and Arntzen, 1989)보다도 작은 크기의 mtDNA를 가지고 있음이 관찰되었다. 집단간의 mtDNA의 크기 비교에서 파주와 인제 집단은 동일한 크기로 관찰되었으나 다른 집단과는 약 0.1-0.2 Kb가량의 차이를 보였다. 이는 전기영동상의 결과에서 관찰이 어려운 0.5 Kb이하의 절편들에 의한 차이로 사료되어 각 집단의 mtDNA의 크기는 동일하다고 보았다.

Table 2. Shared restriction fragments within interpopulations of *Hynobius leechii*.

Locality Pairs	Restriction Enzymes											Total
	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Bst</i> EII	<i>Cla</i> I	<i>Eco</i> RI	<i>Hin</i> dIII	<i>Pst</i> I	<i>Pvu</i> II	<i>Xba</i> I	
HD/KR	0	2	0	3	0	0	2	4	2	0	0	13
HD/PJ	0	1	0	4	0	0	2	2	2	0	0	11
HD/CW	0	2	0	3	1	0	2	2	2	0	0	12
HD/IJ	0	3	0	3	0	0	2	2	2	0	0	12
HD/JS	0	3	1	3	0	0	2	2	2	0	0	13
HD/CJ	0	3	0	2	0	1	3	4	1	0	0	14
KR/PJ	1	1	2	3	2	2	3	3	3	0	0	20
KR/CW	1	1	2	3	0	2	3	3	3	0	0	18
KR/IJ	1	2	2	3	2	2	3	3	3	0	0	21
KR/JS	1	2	0	3	2	2	3	3	3	0	0	19
KR/CJ	0	2	0	2	2	0	2	5	1	0	0	14
PJ/CW	1	4	2	3	0	2	3	4	3	0	0	22
PJ/IJ	1	4	2	3	2	2	3	3	3	0	0	23
PJ/JS	1	4	0	3	2	2	2	4	3	0	0	21
PJ/CJ	0	1	0	2	2	0	2	3	1	0	0	11
CW/IJ	1	2	2	3	0	2	3	4	3	0	0	20
CW/JS	1	2	0	3	0	2	3	4	3	0	0	18
CW/CJ	0	0	0	2	0	0	2	3	1	0	0	8
IJ/JS	1	4	0	3	2	2	3	4	3	0	0	22
IJ/CJ	0	0	0	2	2	0	2	3	1	0	0	10
JS/CJ	0	2	0	2	2	0	2	3	1	0	0	12

Abbreviations: HD: Hadong, KR: Kurye, PJ: Paju, CW: Chungwon, IJ: Inje, JS: Jungson, CJ: Cheju.

Table 3. Estimates of genetic divergence of mtDNA among *Hynobius leechii* populations.

	1	2	3	4	5	6	7
1. Hadong	–	0.553	0.458	0.521	0.511	0.565	0.569
2. Kurye	0.034	–	0.816	0.766	0.875	0.809	0.583
3. Paju	0.046	0.011	–	0.917	0.939	0.875	0.449
4. Chungwon	0.038	0.015	0.005	–	0.851	0.783	0.340
5. Inje	0.039	0.007	0.004	0.009	–	0.936	0.417
6. Jungson	0.033	0.012	0.007	0.014	0.004	–	0.511
7. Cheju	0.030	0.031	0.047	0.064	0.051	0.039	–

Nucleotide sequence divergence (p) (lower diagonal) and proportion of shared restriction fragments (F) (above diagonal).

11개의 제한효소를 처리하여 얻어진 절편 양상의 비교에서 집단간의 차이는 염기 치환에 의한 것임을 알 수 있었다. 이러한 현상은 경골어류인 *Fundulus heteroclitus*(Gonzalez-Villasenor and Powers, 1990)와 들쥐 *Microtus townsendii*(Thomas and Beckenbach, 1986) 등 여러 분류군에서 관찰

된 바 있다. 제주 집단은 다른 집단과의 공통 절편 비교에서 많은 차이를 나타내었으며 *Bgl* II로 처리된 절편 양상에서는 제주 집단은 제한효소 인식 부위의 부가를 보였으며 *Eco* RI에서도 하동과 제주 집단에서 부가적인 인식위치를 가지고 있었다(Fig. 1, 2). 제한 효소 인식 위치의 부가는 하나의 절편을 두개로 나누게 되므로 제

한효소의 인식 부위는 공유하지만 그 절편은 다르게 나타나나(Swarfford and Olsen, 1990) 대부분의 경우 인식 위치와 절편 양상의 결과는 거의 일치되는 양상을 보인다. 돌연변이에 의하여 나타나는 염기치환은 대개 염기전위(transition)에 의해 빈번하게 나타나며(Brown *et al.*, 1982) 한국산 도롱뇽의 경우도 이러한 기작에 의한 염기치환의 축적으로 집단간의 절편 양상과 인식 위치에서의 차이를 보인 것으로 사료된다.

제한효소 처리로 얻어진 절편들의 양상을 토대로 하여 크기가 동일한 절편을 조사함으로써 각 집단내 또는 집단간의 유연관계를 조사할 수 있다. F값을 토대로 하여 염기치환율을 조사한 결과 한국산 도롱뇽의 평균 염기치환율은 $p = 0.026$ 으로 나타났다.

이는 북미산 뱀쥐인 *Geomys pinetis* (Thomas and Beckenbach, 1986)의 염기치환율($p = 0.030$)과 비슷한 값을 보였으며 어류 중 *Clupea harengus*(Kornfield and Bogdanowicz, 1987)에서 $p = 0.029$ 의 염기치환율을 나타낸 본 실험 결과와 유사하다. 그러나 이러한 염기치환율은 한국산 양서류 중 무미류의 *Rana*속(Lee and Park, 1991)의 1% 이하의 낮은 염기치환율에 비해 비교적 높은 값을 나타내고 있다. 한국산 도롱뇽의 파주 집단과 인제 집단, 인제 집단과 정선 집단간의 염기치환율은 각각 $p = 0.004$ 로 7개 집단 간에서 가장 높은 근연성을 보였고 하동 집단은 본토 집단임에도 불구하고 다른 6개 집단과 비교적 먼 근연관계를 나타냈다. 제주집단과 본토 집단과의 비교에서는 평균 염기치환율 $p = 0.044$ 로 높게 나타났으며 그 중 제주 집단과 청원 집단은 $p = 0.064$ 로 가장 멀게 나타났다. 한국산 도롱뇽의 동위효소 및 형태 분석 결과 양 등(1982)은 정선 집단과 제주 집단이 본토 집단과 먼 근연성을 가지고 있음을 시사하였으나 본 실험 결과에서는 정선 집단이 본토 집단과 가깝게 나타났고 제주 집단은 동위효소 분석과 일치되는 양상을 보였다. 그러나 동위효소 분석에 사용된 정선 집단과 본 실험에 사용된 정선 집단은 동일 집단이 아니

므로 결과에 있어서 차이를 보였으리라고 사료된다. 한국산 도롱뇽은 mtDNA에서 종내 지리적 변이가 관찰 되었으며 이러한 양상은 육지나 민물에 서식하는 척추 동물에서도 관찰되었다(Avise and Lansman, 1983; Avise, 1985). 지리적 경계 및 행동 양식이 종내 계통 지리학적 구성을 이끌어 왔으며(Avise *et al.*, 1987) 유전적인 차이가 지리적인 차이와 상호 연관되어 있다고 주장해 왔다. 본 연구 결과 본토 집단과 제주 집단간의 변이율이 높게 나타났으며 하동 집단도 타본토 집단과의 비교에서 높은 변이율을 나타내었다. 또한 각 지역마다 유전적 변이 양상이 조금씩 다르게 나타났다. 특히 하동 집단은 구례 집단과 섬진강, 지리산을 경계로 하여 분포하고 있었으며 그 밖의 집단들은 모두 한강 수계를 중심으로 분포하고 있었으므로 지리적인 면에서도 다소 격리되어 있음을 알 수 있었다. 위의 결과를 토대로 염기분화 연대를 측정하여 본 결과 파주와 인제 집단이 $p = 0.4\%$ 로 약 20만년 전에 분화되었고 정선, 청원 그리고 구례 집단 순위로 염기분화를 보였고 이들은 약 1% 이내의 염기 분화 정도를 나타내어 유전적으로 가까운 근연성을 보였다(Fig. 3). 5개 집단들은 적어도 56만년 이내에 분화되었으며 하동과 제주 집단은 150만년 전에, 이들과 다른 group과는 약 188만년 전에 분리된 것으로 나타났다. Duellman과 Trueb(1986)에 의하면 Middle Jurassic까지 영원류의 4개 아목이 분리되었다고 하였으며 Early Cretaceous에

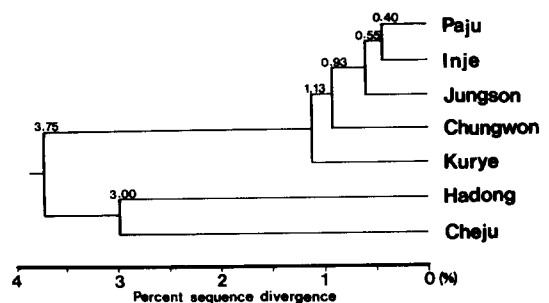


Fig. 3. Dendrogram produced from UPGMA clustering of mtDNA nucleotide sequence divergence among 7 populations of *Hynobius leechii*. Distance values were estimated from data in Table 3.

Cryptobranchoids가 Asia에 유입되었고 이것이 Hynobiids의 기원이 된다고 보고하였고 이는 초기 Miocene이나 후기 Oligocene때로 일본 지역이 Asia에서 분리되기 이전일 것이라고 추정할 바 있다. 한국산 유미류의 분화 시기는 이와 박(1991)에 의해 보고된 무미류의 분화시기인 470만년에서 710만년 전보다 훨씬 후에 분화된 것으로 보고 하였다. 한국산 도롱뇽의 mtDNA 분석결과 하동 집단과 제주 집단이 다른 집단들과 비교적 큰 차이를 나타내었으나 제한 효소의 분석에서 동일한 양상의 절편을 포함하고 있으므로 제주도 집단을 종 수준으로 보기 보다는 동종내의 집단간의 변이가 타분류군에 비하여 다소 높게 나타나는 종내 지리적인 변이로 설명하였다.

인용문헌

- Avies, J.C., 1985. Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals, *In: The Evolution of DNA Sequences* (Clarke B.C., A. Robertson and A. J. Jeffreys eds.) *Proc. R. Soc. Lond.*
- Avies, J.C., and R.A. Lansman, 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals, *In: Evolution of Genes and Proteins* (M. Nei and R. Koehn eds.) Sinauer Associates, Sunderland, MA. pp. 147-164.
- Avies, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb, and N.C. Saunders, 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 489-522.
- Boulenger, G.A., 1887. Description of a new tailed batrachian from Corea. 3; *Amphibia and Reptiles*. Pecking Nat. Hist. Bull. Pub.
- Brown, W.M., E.M. Prager, A. Wang, and A.C. Wilson, 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and Mode of Evolution. *J. Mol. Evol.*, **18**: 225-239.
- Chapman, R.W., J.C. Stephens, R.A. Lansman and J.C. Avies, 1982. Models of mitochondrial DNA transmission genetics and evolution in higher eukaryotes. *Genet. Res.* **40**: 41-57.
- Duellman, W.E. and L. Trueb, 1986. *Biology of Amphibians*. MacGrow-Hill, New York.
- Gonzalez-Villasenor, L.I. and D.A. Powers, 1990. Mitochondrial DNA restriction site polymorphisms in the teleost *Fundulus heteroclitus* support secondary intergradation. *Evolution* **44**: 854-863.
- Jeon, S.K., 1982. Studies on the karyotypes of the Korean Amphibians. M.S. thesis., Inha University, Korea.
- Kim, C.H., 1988. Genetic variation and Evolution of Korean Amphibians. Ph.D. Dissertation, Inha University.
- Kornfield, I., and S.M. Bogdanowicz, 1987. Differentiation of mitochondrial DNA in Atlantic herring, *Clupea harengus*. *Fish. Bull.* **85**: 561-568
- Lee, H.Y. and C.S. Park, 1991. Genetic studies on Korean anurans: on the mitochondrial DNA differentiation in frogs of the genus *Rana*. *Korean J. Genetics* **13**: 1-16.
- Moritz, D., T.E. Dowling and W.M. Brown, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 269-282.
- Selender, R.K. and Whittam, T.S., 1983. Protein polymorphism and the genetic structure of populations. *In: Evolution of Genes and Proteins*(M. Nei and R.K. Koehn eds). Sinauer, Sunderland, MA. pp.89-115.
- Sneath, P.H. A. and R.R. Sokal, 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, CA.
- Swofford, D.L., and G.J. Olsen, 1990. Phylogeny reconstruction. *In: Molecular systematics* (D.M. Hillis and C. Moritz eds.). Sinauer Assoc., Sunderland. MA. pp.411-501.
- Thomas, W.K. and A.T. Beckenbach, 1986. Mitochondrial DNA restriction site variation in the townsend's vole, *Microtus townsendii*. *Can. J. Zool.* **64**: 2750-2756.
- Uh, Y.S., 1992. A study on the geographic variation of skeletal characters of *Hynobius leechii* in Korea. M.S. thesis, Inha University.
- Upholt, W.B., 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digests. *Nucleic Acids Res.*, **4**: 1257-1265.
- Wallis, G.P. and J.W. Arntzen, 1989. Mitochondrial DNA variation in the crested newt superspecies: limited cytoplasmic gene flow among species. *Evolution* **43**: 88-104.
- Wallis, P.C., 1989. Mitochondrial DNA mutations and neuro muscular disease. *Trends Genet.* **5**: 9-13.
- Yang, S.Y., Y.J. Kim, and H.J. Son, 1982. Genic variation in natural populations of Korean salamander (*Hynobius leechii*). *Bull. Inst. Basic Soc., Inha. Univ.*, **3**: 135-139.
- Zimmerman, E.G., D.R. Akins, J.V. Planz and M.J. Schurr, 1988. A rapid procedure for isolating mito-

Genetic Differentiation of the Mitochondrial DNA in Korean Salamander, *Hynobius leechii*

Hei Yung Lee and Eun Kyung Jung (Department of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea)

Mitochondrial DNA (mtDNA) variation was surveyed among seven populations of Korean salamander, *Hynobius leechii*. The difference of mtDNA genome size was not observed but the site variation was detected. The patterns of mtDNA restriction fragment were homogeneous in each population. In the comparisons of restriction fragments, intraspecific variation which was caused by base substitution was found. Especially, Hadong and Cheju populations differ from the 5 rest of conspecific populations in some restriction enzyme recognition sites. Nucleotide sequence divergence (p value) related to the rate of fragment homology (F value) ranged from 0.004 to 0.064. In comparison of 5 populations except Hadong and Cheju, the lower variation presented but comparing with Cheju, the value was higher. By the divergent time (1.5 and 1.88 million years) based on p value, these populations could be classified into three groups. They were diverged about 1.88 million years ago (Miocene).