

## 황어아과어류 2속 5종의 mtDNA 분석

민미숙 · 김영진\* · 양서영

인하대학교 이과대학 생물학과 \*충남대학교 자연대학 생물학과

한국산 담수어류의 잉어목, 황어아과(Leuciscinae) 어류 2속 5종의 계통적 유연관계를 구명하기 위하여 mtDNA 분석을 실시하였다. 6 base를 인지하는 10개의 제한효소를 처리하여 얻어진 mtDNA의 크기는 16.5-17.5 Kb였으며 *Bcl* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Hin* dIII, *Pvu* II, *Xba* I 등은 종간 차이가 뚜렷하였다. 각종의 집단간 mtDNA 분화 정도는 매우 낮았으나( $p=1\%$  미만) *M. oxycephalus*의 무주집단과 제주집단은 예외적으로 큰 차이를 보였다( $p=5.3\%$ ). *Moroco*속의 종간 분화 정도를 비교한 결과 *M. oxycephalus*와 *M. lagowskii* 사이가 평균  $\bar{p}=7.2\%$ 로 근연관계가 제일 가까웠고 *M. keumkang*과 *M. semotilus*는 타종들과 근연관계가 제일 멀었다. *Moroco*속과 *Phoxinus*속간의 평균 유전적 분화 정도는  $\bar{p}=13.7\%$ 로 현저한 차이를 보였다. Brown 등(1979)의 공식을 이용하여 이들 황어아과 2속 5종의 분화시기를 추정된 결과 이들은 후기 신신세(Pliocene)와 홍적세(Pleistocene) 사이에 분화된 것으로 추정되었으며 이 결과는 동위효소 연구에서 얻어진 결과(Yang and Min, 1989)와 잘 일치한다.

**KEY WORDS:** *Moroco*, *Phoxinus*, mtDNA, Species Comparison

척추동물군에 대한 유전적 변이 및 계통적 유연관계를 조사하기 위하여 최근 분자수준에서의 연구가 많이 진행되고 있으며, 특히 핵유전자의 산물인 isozyme 분석과 모계세포질 유전물질인 mtDNA 분석에 의한 연구가 활발히 진행되고 있다(Avise *et al.*, 1979; Yang and Patton, 1981; Avise and Lansman, 1983; Kessler and Avise, 1985; Gyllensten and Wilson, 1987; Baker *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 1989; Yang and Min, 1989, 1990; Lee and Park, 1991; Park and Lee, 1991; Hong *et al.*, 1993; Lee and Jung, 1993). MtDNA는 모계 유전물질로 핵DNA보다 빠른 진화속도를 가지고 있으며, 제한효소처리에 의한 절편의 분석으로 얻어지는 염기치환율( $p$ 값)은 생물군의 계통진화적 연구에 많이 이용되고 있다(Ferris *et al.*, 1981, 1983; Yonekawa *et al.*, 1981; Bermingham and Avise, 1986; Moritz *et al.*, 1987; Palmer, 1987; Lee *et al.*, 1989; Paik *et al.*, 1992).

한국산 담수어류에 대한 mtDNA 분석은 Lee 등(1988)에 의한 *Zacco*속 어류에 대한 분석을 시초로 하여, 피라미아과(Danioninae)(Lee *et al.*, 1989)와 기름종개과(Cobitidae)(Park and Lee, 1991, Lee *et al.*, 1994) 및 뱀장어과(Anguillidae)(Min and Yang, 1993) 어류를 대상으로 하여 이들에 대한 유전적 특성 및 계통적 유연관계를 조사한 바 있다.

황어아과(Leuciscinae) 어류는 한국, 일본, 중국대륙에 분포하는 소형담수어로서 한국에는 3속 8종이 보고되어 있다(Jeon, 1980; Jeon and Sakai, 1984; Yang and Min, 1989). Min과 Yang(1986), Yang과 Min(1988)은 *Moroco*속 어류 2종에 대한 유전적 변이와 분류학적 위치를 isozyme과 형태적 분석을 통하여 밝혔으며, Kim 등(1985)은 피라미아과를 포함한 황어아과어류의 계통분류학적 연구를 통하여 이들의 근연관계를 밝힌 바 있고, Yang과 Min(1989)은 한국산 및 일본산 *Moroco*속 전종에 대한 유전적 변이 및 계통적 유연관계를 조사한

바 있다.

본 연구는 황어아과어류(Leuciscinae)인 Morocco속의 *M. lagowskii*, *M. oxycephalus*, *M. keumkang*, *M. semotilus* 및 *Phoxinus*속의 *P. phoxinus* 등 총 2속 5종에 대한 종내, 종간 및 속간의 계통적 유연관계를 mtDNA분석 방법을 통하여 조사하였고 기존에 발표된 isozyme분석 결과와 비교하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에 사용한 재료의 채집지는 Table 1과 같다. 채집된 실험재료는 생체로 실험실까지 운반하여 연구재료로 사용하였다.

MtDNA는 조직중 mitochondria의 함량이 높은 간, 심장, 신장 등을 적출하여 Bernachetz와 Dodson(1990)의 방법을 이용하여 추출하였다. 추출된 mtDNA는 6base를 인지하는 10개의 제한효소를 처리하여 적정온도에서 16-20시간 반응시킨 후 전기영동하였다. 전기영동은 Mack 등(1986)의 방법에 의하여 0.8% agarose gel 전기영동을 한후 이동된 DNA절편을 확인하기 위해 gel을 EtBr로 염색한후 UV-Illuminator상에서 사진촬영하였다. 각 DNA절편의 이동도에

따라 절편수 및 mtDNA크기를 조사하였고 집단 간 변이는 Upholt(1977)의 공식에 따라 공통절편의 비율(F값)과 염기서열분화정도(p값)를 구하여 집단 및 종간차이를 비교하였다.

### 결과

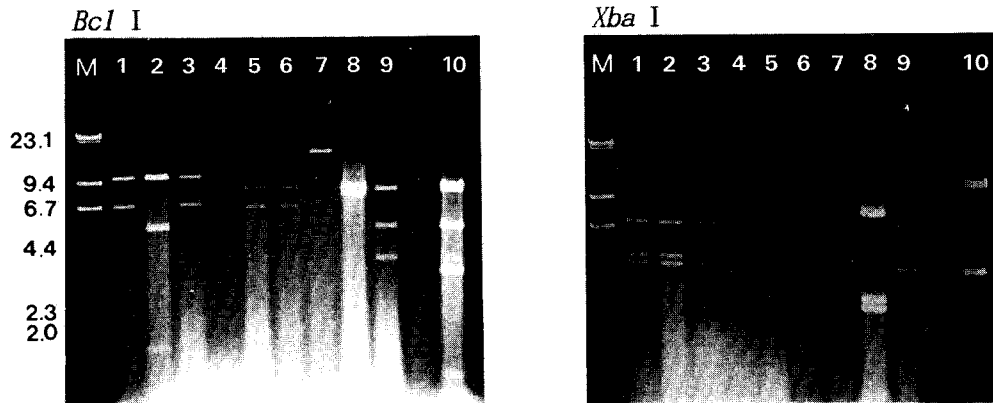
황어아과어류 2속 5종에 대한 mtDNA분석결과 각종의 mtDNA size는 16.5 - 17.5 Kb사이였으며(Moroco *keumkang*: 16.5±0.35, *M. lagowskii*: 16.8±0.48, *M. oxycephalus*: 16.8±0.63, *M. semotilus*: 17.0±0.64, *Phoxinus phoxinus*: 17.5±0.89) *P. phoxinus*의 mtDNA size가 가장 크게 나타났다. 10개의 제한효소를 처리한 후 전기영동에서 얻어진 절편양상은 종간에 차이가 있었으며 특히 *Bcl* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Hin* dIII, *Pvu* II, *Xba* I 등의 6개 제한효소는 종특이성을 보였다(Fig. 1). 각 효소처리후 얻어진 총절편의 수는 Table 2와 같다. *M. semotilus*의 총절편수는 22개로 가장 적은 반면, *M. oxycephalus*의 제주집단은 33개로 가장 많은 절편수를 보였다(Table 2). 각 종 및 집단간 공통절편수를 구한 결과는 Table 3과 같다. *M. lagowskii* 3개집

**Table 1.** Collection localities, dates and number of specimens of the genera *Moroco* and *Phoxinus* in Korea.

Collection Locality	No. of Specimen	Collection Date
<i>M. keumkang</i>		
1. Chinbu: Chinbu-myon, Pyongchang-gun, Kangwon-do	20	Apr. 14, 1992
2. Muju: Solchon-myon, Muju-gun, Chollabuk-do	20	June 16, 1992
3. Chongson: Dong-myon, Chongson-gun, Kangwon-do	25	July 15, 1992
<i>M. lagowskii</i>		
4. Songsan: Songsan-myon, Myongju-gun, Kangwon-do	15	Apr. 14, 1992
5. Kosong: Kongsong-up, Kosong-gun, Kangwon-do	25	July 14, 1992
6. Kuchon: Hyonnae-myon, Kosong-gun, Kangwon-do	30	July 15, 1992
<i>M. oxycephalus</i>		
7. Muju: Solchon-myon, Muju-gun, Chollabuk-do	25	June 16, 1992
8. Cheju: Kangjong-dong, Sogwipo-shi, Cheju-do	30	July 30, 1992
<i>M. semotilus</i>		
9. Kuchon: Hyonnae-myon, Kosong-gun, Kangwon-do	50	July 15, 1992
<i>P. phoxinus</i>		
10. Chongson: Dong-myon, Chongson-gun, Kangwondo	25	July 16, 1992

단은 평균 집단당 26.7개의 총절편수 중에서 평균 25.3개(25-26)의 공통절편수를 갖고 있었고 *M. keumkang* 3개집단은 평균 26.3개의 총절편수중에서 공통절편수는 평균 21.3개(20-24)였으며 *M. oxycephalus* 2개집단사이는 평균 29.5개의 총절편수중에서 공통절편수는 12개에 불과하여 집단간에 큰 차이를 보였다. 또한 *Moroco*속내 종간의 경우 *M. lagowskii*와 *M.*

*oxycephalus*의 평균 공통절편수가 8.7개로 가장 많은 공통절편수를 가지고 있었으며 *M. lagowskii*와 *M. semotilus*, *M. oxycephalus*와 *M. keumkang*이 그 다음으로 평균 각각 6개와 5.8개의 공통절편수를 나타내었고, *M. oxycephalus*와 *M. semotilus*는 3.5개, *M. lagowskii*와 *M. keumkang*은 3개였고 *M. semotilus*와 *M. keumkang*은 평균 2.7개로



**Fig. 1.** mtDNA variation of the genera *Moroco* and *Phoxinus* digested with *Bcl* I and *Xba* I. Numbers refer to sample localities listed in Table 1.

**Table 2.** Comparative analysis and estimated number of mtDNA fragments among populations of 5 species of the genera *Moroco* and *Phoxinus*.

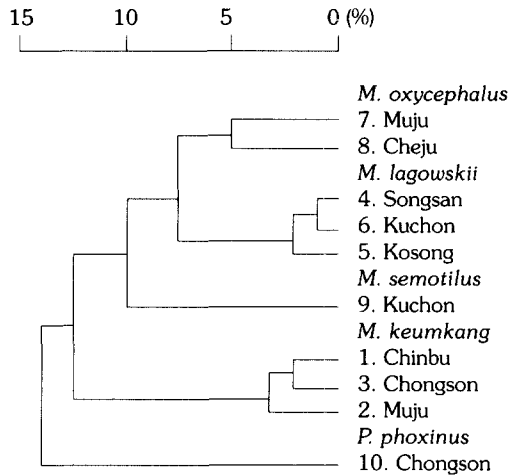
Population	Restriction Enzymes										Total
	<i>Bgl</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Bam</i> HI	<i>Xba</i> I	<i>Bst</i> EII	<i>Bgl</i> II	<i>Hin</i> dIII	<i>Pvu</i> II	<i>Bcl</i> I	<i>Eco</i> RI	
<i>M. keumkang</i>											
1. Chinbu	5	3	2	3	1	2	4	3	2	4	29
2. Muju	2	3	2	3	1	2	4	3	3	1	24
3. Chongson	2	3	2	3	3	2	4	3	2	2	26
<i>M. lagowskii</i>											
4. Songsan	2	2	1	3	2	3	5	3	3	1	25
5. Kosong	2	2	1	4	3	4	5	3	3	1	28
6. Kuchon	2	2	1	3	3	3	5	4	3	1	27
<i>M. oxycephalus</i>											
7. Muju	3	2	1	4	1	4	5	3	1	2	26
8. Cheju	3	3	2	3	1	3	6	3	2	7	33
<i>M. semotilus</i>											
9. Kuchon	3	2	1	2	3	0	4	3	3	1	22
<i>P. phoxinus</i>											
10. Chongson	5	2	2	2	2	4	5	2	6	2	32

**Table 3.** Shared restriction fragments among populations of 5 species of the genera *Moroco* and *Phoxinus*. Population numbers refer to sample localities listed in Table 1.

Population	Restriction Enzymes										Total
	<i>Bgl</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Bam</i> HI	<i>Xba</i> I	<i>Bst</i> EII	<i>Bgl</i> II	<i>Hin</i> dIII	<i>Pvu</i> II	<i>Bcl</i> I	<i>Eco</i> RI	
1/2	2	3	2	3	1	2	4	2	1	0	20
1/3	2	3	2	3	1	2	4	3	2	2	24
1/4	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
1/5	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	3
1/6	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	3
1/7	0	0	0	1	1	0	3	0	0	1	6
1/8	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	3
1/9	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
1/10	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
2/3	2	3	2	3	1	2	4	2	1	0	20
2/4	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	3
2/5	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	4
2/6	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	4
2/7	0	0	1	1	1	2	3	0	0	0	7
2/8	0	0	0	0	1	2	2	0	0	0	5
2/9	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	4
2/10	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	3
3/4	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
3/5	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	3
3/6	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	3
3/7	0	0	0	1	1	2	3	0	0	1	8
3/8	0	0	0	0	1	2	2	0	0	1	6
3/9	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
3/10	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	3
4/5	2	2	1	3	2	3	5	3	3	1	25
4/6	2	2	1	3	2	3	5	3	3	1	25
4/7	1	2	1	3	0	0	2	0	0	0	9
4/8	1	1	0	1	0	0	3	0	0	0	6
4/9	0	0	1	2	0	0	2	0	0	1	6
4/10	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	3
5/6	2	2	1	3	3	3	5	3	3	1	26
5/7	1	2	1	4	1	0	2	0	0	0	11
5/8	1	1	0	2	1	1	3	0	0	0	9
5/9	0	0	1	2	0	0	2	0	0	1	6
5/10	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	3
6/7	1	2	1	3	1	0	2	0	0	0	10
6/8	1	1	0	1	1	0	3	0	0	0	7
6/9	0	0	1	2	0	0	2	0	0	1	6
6/10	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	3
7/8	1	1	0	1	1	2	4	0	0	2	12
7/9	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	4
7/10	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	4
8/9	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3
8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4
9/10	0	0	0	1	0	0	2	0	2	0	5

**Table 4.** Estimates of genetic divergence of mtDNA of the genera *Moroco* and *Phoxinus*. Proportion of shared restriction fragments (F)(above diagonal) and nucleotide sequence divergence (p)(below diagonal).

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>M. keumkang</i>										
1. Chinbu		0.755	0.873	0.074	0.105	0.107	0.218	0.097	0.078	0.066
2. Muju	0.016		0.800	0.122	0.154	0.157	0.280	0.175	0.174	0.105
3. Chongson	0.008	0.013		0.078	0.111	0.113	0.308	0.203	0.083	0.103
<i>M. lagowskii</i>										
4. Songsan	0.161	0.129	0.157		0.943	0.962	0.353	0.207	0.255	0.105
5. Kosong	0.139	0.114	0.135	0.003		0.945	0.407	0.295	0.240	0.100
6. Kuchon	0.137	0.113	0.134	0.002	0.003		0.377	0.233	0.245	0.102
<i>M. oxycephalus</i>										
7. Muju	0.092	0.076	0.070	0.062	0.053	0.058		0.407	0.167	0.138
8. Cheju	0.144	0.106	0.097	0.095	0.073	0.088	0.053		0.109	0.123
<i>M. semotilus</i>										
9. Kuchon	0.157	0.106	0.153	0.082	0.086	0.085	0.109	0.121		0.185
<i>P. phoxinus</i>										
10. Chongson	0.168	0.139	0.140	0.139	0.142	0.140	0.136	0.128	0.102	



**Fig. 2.** Dendrogram of the genera *Moroco* and *Phoxinus* based on analysis of mtDNA nucleotide sequence divergence.

가장 적은 종간 유사성을 보였다. *Phoxinus*속의 *P. phoxinus*는 *Moroco*속의 4종 중 *M. keumkang*과 평균 2.7개의 공통절편수를 나타내어 가장 적은 종간의 유사성을 보였다.

이러한 공통절편수를 토대로 Upholt(1977)의 공식에 의한 공통절편의 비율(F값)과 염기치환율(p값)을 구한 결과는 Table 4와 같다. *M.*

*keumkang* 3집단의 경우 진부집단과 정선집단이  $F=0.873(p=0.008)$ 로 가장 가까웠고 진부와 무주집단이  $F=0.755(p=0.016)$ 로 3집단 중 비교적 멀게 나타났다. *M. lagowskii* 3집단의 경우는 평균  $\bar{F}=0.950(\bar{p}=0.003)$ 으로 집단간 가까운 유연관계를 보였다. 그러나 *M. oxycephalus*의 무주와 제주집단의 경우는  $F=0.407(p=0.053)$ 으로 종내 집단간 유연관계가 멀었다. *Moroco*속 어류중에서 *M. lagowskii*와 *M. oxycephalus*의 종간 유연관계가 가장 가까웠고( $\bar{F}=0.312, \bar{p}=0.072$ ), 반면 *M. keumkang*과 *M. semotilus*사이의 평균  $\bar{F}=0.112, \bar{p}=0.124$ 로서 이들 2종간의 근연관계가 제일 멀었다. *Moroco*속 4종과 *Phoxinus*속 1종간의 평균 염기치환율은  $\bar{p}=0.137(\bar{F}=0.114)$ 였다.

Table 4의 염기치환율을 토대로 하여 이들의 유연관계를 dendrogram으로 작성한 결과는 Fig. 2와 같다.

### 고찰

한국산 황어아과(Leuciscinae) 어류 2속 5종의 평균 mtDNA의 크기는 16.9 Kb로서 대부

본의 척추동물의 mtDNA 크기 범위(15.7-23.0 Kb) 내에 속하였고, 한국산 피라미아과(Danioninae) 어류와 기름종개과(Cobitidae) 어류들의 크기와 유사하였다(Lee *et al.*, 1989; Park and Lee, 1991). 종내 집단간 차이 정도는 *M. keumkang*의 경우, 무주집단이 타집단 사이(진부, 정선집단)보다 약간의 지리적 차이를 보이고 있으나 *M. lagowskii* 집단들과 마찬가지로 낮은 변이 정도를 나타내고 있어(Table 4) 일반적인 담수어류의 집단간 차이를 보이며, isozyme의 분석결과(Yang and Min, 1989) 와도 유사하였다. 그러나 *M. oxycephalus*의 경우 본토집단과 제주집단사이의 차이가 5% 이상 나타나 집단간에 큰 차이를 보이고 있으며, 이 값은 한국산 종개과의 *Nemacheilus toni*( $\bar{p}=5.6\%$ )(Park and Lee, 1991)의 경우나 *Lepomis*속의 *L. punctatus*(6.1%), *L. microlophus*(8.7%) (Bermingham and Avise, 1986)에서 나타난 집단간 차이와 유사하였다. 그러나 Yang과 Min(1989)에 의한 isozyme 분석결과는 *M. oxycephalus*의 제주와 본토집단간에 큰 지리적 차이가 없는 것으로 보고한 바 있어, 집단간 뚜렷한 차이를 보인 mtDNA 결과와는 차이를 보이고 있었다. 일반적으로 mtDNA의 분석결과로 얻어지는 생물군간의 유전적 근연 정도는 isozyme data와 대체로 비례하며 그 예로 상기한 종개과어류의 *N. toni* (Park and Lee, 1991)나 도롱뇽과의 *H. leechii*(Lee and Jung, 1993) 등의 경우 mtDNA 분석상 나타나는 집단간 큰 유전적 차이는 isozyme 분석에서도 동일하게 큰 유전적 차이를 나타낸다(Yang *et al.*, 1982, 1991).

Avise 등(1987)은 20여종의 분류군을 대상으로 동일종내 집단간 mtDNA 분석을 실시하여 동물군의 지리적 분포(격리 유무)에 따른 유전적 분화관계를 5가지의 category로 분류하여 설명한 바 있는데 *M. oxycephalus*의 경우는 category I에 속하는 경우로 지리적 격리가 유전적 차이를 유발하였다고 보며, isozyme과 mtDNA의 차이 정도는 제주집단이 본토집단과 지리적 격리 후 유전자 흐름 없이 독립된 집단으로

유지되고, 또한 founder effect나 genetic drift 현상에 의하여 유전적 조성이 크게 달라질 수 있고, 특히 모계 유전(haploid)을 하며 돌연변이율이 높은 mtDNA의 경우 타집단과 유전적 차이를 크게 유발할 수 있는 반면, 핵물질의 산물인 isozyme의 경우는 암·수의 유전자가 동시에 관여하므로 집단간 차이가 mtDNA보다 상대적으로 적게 나타날 수 있는 것으로 추측할 수 있으나 앞으로 보다 면밀한 연구가 요구된다.

MtDNA 분석에서 산출된 염기서열의 종간 분화 정도는 형태적으로 매우 유사한 *Moroco*속의 *M. lagowskii*와 *M. oxycephalus* 사이가 가장 가깝게 나타나며( $\bar{p}=7.15\%$ ) *M. semotilus*, *M. keumkang* 순으로 이들 2종과 가까운 유연관계를 갖고 있었다(Table 4, Fig. 2). 이는 isozyme에서 얻은 결과(Yang and Min, 1989)와 잘 일치한다. *Moroco*속 전체의 종간 평균  $p$  값이 10.8%로 한국산 *Zacco*속 어류(Lee *et al.*, 1989)나 *Misgurunus*속 2종(Lee *et al.*, 1994), *Merluccius*속 2종의 종간 값(Becker *et al.*, 1988)과 *Salmo*속 어류 4종의 평균  $p$  값(Gyllensten and Wilson, 1984)과 유사한 값을 나타내고 있었으나, 유전적 변이 정도가 높은 *Lepomis*속 9종의 종간 값( $\bar{p}=20.1$ )(Avise and Saunders, 1984)이나 한국산 양서류로서 타속에 비해 분화 정도가 비교적 오래된 *Rana*속 4종의 값( $\bar{p}=19.9$ )(Lee and Park, 1991)보다는 낮았다. 한편 *Moroco*속과 *Phoxinus*속간의 평균  $p$  값은 13.7%로서 피라미아과(Danioninae)의 *Zacco*속 *Z. temmincki* 2종과 *Opsariichthys*속의 *O. bidens*와의 속간 평균  $p$  값(12.2%)과 유사하였다(Lee *et al.*, 1989). 그러나 이런 종내 집단간 또는 종, 속간의 분화 정도는 각 분류군마다 차이를 보이고 있어 일정한 경향성을 추론하기는 어렵다고 사료된다.

MtDNA 분석에 의한 분화년대 추정 은 Brown 등(1979)이 포유동물을 대상으로 2%의 염기서열의 분화를 1백만년 정도로 추산하였고, Vawter과 Brown(1986)도 다른 척추동물에서 유사한 비율로 이 값이 유지됨을 시사한 바 있다. 이들의 추

정을 고려한다면 *Moroco*속의 *M. lagowskii*와 *M. oxycephalus*는 약 350만년전에 분화 되었고 *Moroco*속과 *Phoxinus*속은 약 700만년전에 분화된 것으로 추정되었다(Table 4). 이런 분화 양상은 Yang과 Min(1989)이 *Moroco*속 어류에 대한 isozyme 분석을 통한 종내, 종간 및 속간의 유전적 근연관계를 구명한 결과나 Kim 등(1985), Yang과 Min(unpublished)이 *Moroco*속과 *Phoxinus*속 어류에 대한 계통적 유연관계를 밝힌 isozyme분석결과와도 잘 일치하고 있으며, 이는 또한 한국산 피라미아과 어류 3속 5종을 대상으로 한 종간, 속간의 분화정도와 계통적 유연관계를 밝힌 mtDNA연구(Lee *et al.*, 1989)와 isozyme연구결과(Yang and Min, 1989)가 서로 일치하고 있는것과 유사하였다. 한편 *p*값에 의한 이들의 분화시기(Brown *et al.*, 1979)는 선신세에서 홍적세에 걸쳐 분화되었다고 사료되며 대부분의 한국산 담수어류의 분화 시기와 일치하고 있었다.

### 감사

본 연구는 1992년도 한국과학재단 Post-Doc. 연구지원비에 의해 수행되었음.

### 인용문헌

Avise, 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 Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp.147-164.

Avise, J.C., C.G. Davidson, J. Laerm, J.C. Patton, and R.A. Lansman, 1979. Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic population of pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 6694-6698.

Avise, J.C. and N.C. Saunders, 1984. Hybridization and introgression among species of sunfish (*Lepomis*): analysis by mitochondrial DNA and allozyme markers. *Genetics* **108**: 237-255.

Avise, 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.

Baker, R.J., S.K. Davis, R.D. Bradley, M.J. Hamilton, and R.A. Van Den Bussche, 1989. Ribosomal DNA, mitochondrial DNA chromosomal and allozymic studies on a contact zone in the pocket gopher, *Geomys*. *Evolution* **43**:63-75.

Becker, I.I., W.S. Grant, R. Kirby, and F.T. Robb, 1988. Evolutionary divergence between sympatric species of Southern African hakes, *Merluccius capensis* and *M. paradoxus*. II. Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Heredity* **61**: 21-30.

Bermingham, E. and J.C. Avise, 1986. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the Southern United States. *Genetics* **113**: 939-966.

Bernachetz, L. and J.J. Dodson, 1990. Allopatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial DNA restriction analysis. *Evolution* **44**: 1263-1271.

Brown W.M., M. George, Jr., and A.C. Wilson, 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 1967-1971.

Ferris, S.D., W.M. Brown, W.S. Davidson, and A.C. Wilson, 1981. Extensive polymorphism in the mitochondrial DNA of apes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**: 6319-6323.

Ferris, S.D., R.D. Sage, E.M. Prager, V. Ritte, and A.C. Wilson, 1983. Mitochondrial DNA evolution in mice. *Genetics* **105**: 681-721.

Gyllensten, U. and A.C. Wilson, 1987. Interspecific mitochondrial DNA transfer and colonization of Scandinavia by mice. *Genet. Res.* **49**: 25-39.

Hong, Y.H., M.S. Min, and S.Y. Yang, 1993. Geographic variation of the sweet smelt, *Plecoglossus altivelis* in Korea. *Bull. I. B. S. Inha Univ.*, **14**: 119-125.

Jeon, S.R., 1980. Studies on the distribution of freshwater fishes from Korea. Ph.D. Thesis Joong Ang Univ. pp.7-90.

Jeon, S.R. and H. Sakai, 1984. On the distribution and revision of genus *Tribolodon* (Cyprinidae) from Korea. *Korean J. Limnology* **17**: 11-21.

Kessler, L.G. and J.C. Avise, 1985. A comparative description of mitochondrial DNA differentiation in selected avian and other vertebrate genera. *Mol. Biol. Evol.* **2**: 109-125.

Kim, I.S., G.Y. Lee, and S.Y. Yang, 1985. Systematic study of the subfamily Leuciscinae (Cyprinidae) from Korea. *Bull. Kor. Fish. Soc.* **18**: 381-400.

- Lee, H.Y. and E.K. Jung, 1993. Genetic differentiation of the mitochondrial DNA in Korean salamander, *Hynobius leechii*. *Korean J. Zool.* **36(1)**: 14-20.
- 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.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, C.S. Chang, and C.S. Park, 1989. Evolutionary study on the Dark Chub (*Zacco temmincki*). VIII. Mitochondrial DNA analysis of subfamily Danioninae (Pisces, Cyprinidae). *Korean J. Genetics* **11**: 175-187.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, C.S. Park, E.K. Jung, and J.H. Kim, 1994. Systematic study on the fishes of the Family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) 4. The analyses of karyotype and mitochondrial DNA between the two species of the genus *Misgurnus* from Korea. *Korean J. Zool.* **37**: 439-451.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, S.G. Paik, C.S. Park, S.L. Yu, and S.K. Lee, 1988. A study on the speciation of a fresh water fish *Zacco temmincki*. VII. Variation of mitochondrial DNA between 2 types of *Zacco temmincki*. *Korean J. Zool.* **31**: 236-242.
- Mack, A.L., F.B. Gill, R. Colburn, and C. Spolsky, 1986. Mitochondrial DNA: A source of genetic markers for studies of similar passerine bird species. *Auk* **103**: 676-682.
- Min, M.S. and S.Y. Yang, 1986. Classification, distribution and geographic variation of two species of the genus *Moroco* in Korea. *Korean J. Syst. Zool.* **2**: 63-78.
- Min, M.S. and S.Y. Yang, 1993. Isozymes and mtDNA analyses of 2 species of the genus *Anguilla* (Pisces, Anguillidae). *Korean J. Zool.* **36**: 545-555.
- 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.
- Palmer, J.D., 1987. Intraspecific variation and multicircularity in Brassica mitochondrial DNAs. *Genetics* **118**: 341-351.
- Paik, N.K., H.Y. Lee, E.K. Jung, and I.S. Kim, 1992. Genetic differentiation of mitochondrial DNA in the genera, *Enhydryis* and *Elaphe*. *Korean J. Genetics* **14**: 89-98.
- Park, C.S. and H.Y. Lee, 1991. Systematic study on the fishes of family Cobitidae (Pisces: Cypriniformes): Extensive variation in mitochondrial DNA among geographic populations of *Nemacheilus toni*. *Korean J. Ichthyol.* **3**: 140-147.
- Upholt, W.B., 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digests. *Nucl. Acids Res.* **4**: 1257-1265.
- Vawter, L. and W.M. Brown, 1986. Nuclear and mitochondrial DNA comparison reveal extreme rate variation in the molecular clock. *Science* **234**: 194-196.
- Yang, S.Y. and J.C. Patton, 1981. Genetic variability and differentiation in the Galapagos finches. *Auk* **98**: 230-242.
- Yang, S.Y. and M.S. Min, 1988. Sympatry and species status of *Moroco lagowskii* and *M. oxycephalus* (Cyprinidae). *Korean J. Zool.* **31**: 56-61.
- Yang, S.Y. and M.S. Min, 1989. Genic variation and speciation of fishes of the genus *Moroco* (Cyprinidae). *Korean J. Zool.* **32**: 75-83.
- Yang, S.Y. and M.S. Min, 1990. Genetic variation and systematics of the sticklebacks (Pisces, Gasterosteidae) in Korea. *Korean J. Zool.* **33**: 499-508.
- Yang, S.Y., Y.J. Kim, and H.J. Son, 1982. Genic variation in natural populations of Korean salamander (*Hynobius leechii*). *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.* **3**: 135-139.
- Yang, S.Y., H.Y. Lee, H.J. Yang, and J.H. Kim, 1991. Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) I. Geographic variation of *Nemacheilus toni*, *Lefua costata* and *Niwaella multifasciata*. *Korean J. Zool.* **34**: 110-122.
- Yonekawa, H., K. Moriwaki, O. Gotoh, J.I. Hayashi, J. Watanabe, N. Miyashita, M.L. Petras and Y. Tagashira, 1981. Evolutionary relationships among five subspecies of *Mus musculus* based on restriction enzyme cleavage patterns of mitochondrial DNA. *Genetics* **98**: 801-816.

(Accepted December 12, 1994)



---

**mtDNA Analysis of 5 Species of the Genera *Moroco* and *Phoxinus* (Pisces,  
Leuciscinae)**

Mi Sook Min<sup>1</sup>, Yung Jin Kim<sup>2</sup>, and Suh Yung Yang<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept. of Biology, Inha University Incheon 402-751, Korea, <sup>2</sup>Dept. of Biology, Chungnam National University Daejeon 302-764, Korea)

mtDNA analysis was performed to investigate the phyletic relationships of 4 species of the genus *Moroco* and one species of the genus *Phoxinus* (Subfamily Leuciscinae) inhabiting in Korea. The genome size of mtDNA ranges between 16.5Kb (*M. keumkang*) and 17.5Kb (*P. phoxinus*). The species specific fragment patterns were observed in the digestion with the restriction enzymes of *Bcl* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Hin* dIII, *Pvu* II, and *Xba* I. The average nucleotide sequence divergence ( $p$ ) among populations within each species was more or less constant (less than 1% difference) except the Cheju and Muju population of *M. oxycephalus* ( $p=5.3\%$ ). In the congeneric species comparison, the average value of nucleotide sequence divergence between *M. oxycephalus* and *M. lagowskii* was the least ( $\bar{p}=7.2\%$ ) whereas the value between *M. keumkang* and *M. semotilus* was the most ( $\bar{p}=12.4\%$ ). Intergeneric difference between the genera *Moroco* and *Phoxinus* was  $\bar{p}=13.7\%$ . Based on the estimated divergent time (Brown *et al.*, 1979) of these species it is assumed that they are speciated during late Pliocene to Pleistocene epoch. The results of this study are fairly concordant with those of the isozyme study (Yang and Min, 1989).