

미토콘드리아 DNA에 의한 붕넙치과 어류 4種간의 鹽基置換數

朴重淵·金 潤

國立水産振興院 遺傳育種科

The Number of Nucleotide Substitutions per Sites of Mitochondrial DNA in the Four Pleuronectid Species

Jung-Youn PARK and Yoon KIM

Genetics and Breeding Division, National Fisheries Research and Development Agency, Pusan, 626-900, Korea

In order to estimate the level of genetic differences among the pleuronectid species, mitochondrial DNAs were isolated from four species: brown sole, *Limanda herensteini*; marbled sole, *Limanda yokohamae*; stone flounder, *Kareius bicoloratus*; starry flounder, *Platichthys stellatus*, and the number of nucleotide substitutions was calculated by the restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) generated by 14 six base recognition restriction endonucleases. Total lengths of the mitochondrial DNA were measured as about 17.6 kbp in all species. Ten different composite genotypes were observed in brown sole, four different genotypes in marbled sole, and two different genotypes in starry flounder. However, only one genotype was observed in stone flounder. The calculated haplotypic diversity value of brown sole was higher than that of marbled sole. The average number of nucleotide substitutions per sites in four species was estimated to be 0.0045 in the intraspecies, 0.0344 in the interspecies, and 0.0457 in the genera, respectively. From these results, we could estimate that the genetic differences among interspecies were not influenced by nucleotide substitutions but genetical discontinuous.

Key words : mitochondrial DNA, RFLPs, haplotypic diversity, genetic differences

서 론

지난 20년간 集團遺傳學 研究에 있어서 標識遺傳子로 가장 普遍的으로 利用되어 온 것이 isozyme 遺傳子이다. Isozyme 遺傳子는 種間 및 種內的 遺傳的 變異를 조사할 수 있는 유용한 척도로서 種內는 遺傳子頻度の 差異에 의해서, 種間은 對立遺傳子の 置換에 의해 特徵지어진다는 사실이 報告된 바 있다(藤尾芳久, 1986; Park et al., 1990; Park and Kijima, 1991). 그렇지만 isozyme이라는 것은 그것을 支配하는 遺傳子の 鹽基 配列을 직접 보는 것이 아니고 核內 DNA의 指令에 의해 生成되는 酵素의 差異를 보는 것이기에 때문에 amino acid의 置換을 수반하지 않는 鹽基의 置換 및 intron에 있어서의 鹽基 置換이 把握되지 않는다

는점, 또한 交配에 의해 母系와 父系의 遺傳子가 融合되어 다음 世代에서는 전혀 새로운 組合의 genome이 形成됨으로써 家系判別이 어렵다는 점등의 여러가지 難點이 있다. 이러한 理由로 isozyme보다 強度가 좋으며 보다 많은 情報를 同時에 얻을 수 있는 遺傳的 標識가 기대되어 왔다(Avise and Lansman, 1983). 최근 DNA 操作技術의 발전에 따라 DNA 鹽基 配列을 직접 파악할 수 있는 방법이 집단유전학에도 이용되기 시작했다. 미토콘드리아 DNA(mtDNA)는 핵DNA와는 독립된 DNA로서 포유류, 조류 및 어류에서 조사된 바에 의하면 環狀의 DNA이며 총염기대수가 16~19 kbp 정도로 핵 DNA에 비해 극히 작아 취급이 간편하며 진화속도가 5~10배 정도 빠르다고 보고되어 있다(Brown et al., 1979). 또한 개체내에 많

은 copy가 존재하며 모계유전을 한다는 점에서 동일 종의 지역집단간 및 종간의 유전적 분화의 정도를 DNA level에서 해석하는 데 유용한 유전적 표지로 주목 받고 있으며 현재까지 많은 연구자에 의해 연구 및 해석이 진행중이다 (Brown, 1983; Avise et al., 1984; Berg and Ferris, 1984; Wilson et al., 1985; Saunders et al., 1986; Avise et al., 1986; 木島 등, 1990; 木島, 1991).

본 연구에서는 가자미과 어류 4종을 이용하여 mt-DNA를 분리하고 제한 효소에 의해 절단한 단편의 길이 다형 (RFLPs; Restriction fragment length polymorphisms)을 비교함으로써 4종간의 유전적 차이를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1) Sample의 채집

실험에 사용한 봉넙치과 어류의 sample은 日本國 福島縣 수산시험장 및 北海道立 중앙수산시험장의 협조를 받았으며, 채집 즉시 냉장상태로 운반하여 전기 영동용 조직을 채취한 뒤 -80℃에서 동결 보존하였다.

2) mtDNA의 분리 및 전기영동

mtDNA의 분리는 木島 등 (1990) 및 Chapman and Powers (1986)의 방법을 개량한 Alkaline방법을, mt-DNA의 절단은 14종의 6염기 인식 제한효소를 사용하였다. 또한 mtDNA 전기 영동은 0.7% agarose(TA-KARA L03) gel을 이용하였다.

3) mtDNA의 염기대수 추정

Agarose gel상에 발현한 mtDNA 절단단편의 염기대수를 추정하기 위하여 제한효소 *Hind* III에 의해 소화시킨 λDNA를 marker로서 사용하여 각 제한효소로써 소화시킨 sample과 동시에 전기영동을 행한 뒤 원점에서 이동한 거리를 측정하여 각 절단단편의 염기대수를 추정하였다.

4) 유전적 변이성 및 유전적차이의 정량

각 종에 있어서 mtDNA의 haplotype 다양도(h: hap-

lotypic diversity)는 Nei and Tajima (1981)의 다음과 같은 식에 의해 구하였다.

$$h = [1/(2n-1)] \times \left\{ 2n \left(1 - \sum_{i=1}^l X_i^2 \right) \right\}$$

X_i: i번째 type의 빈도

l : type수

n : 표본수

또한 mtDNA에 있어서 제한 부위당 염기치환수(d)의 추정은 Nei and Li (1979)의 식에 의해 구하였다.

$$d = -(2/r) \ln G$$

$$G = \exp(-r \lambda t)$$

r; 제한site의 염기수

$$G = F \{ (3 - 2G') \}$$

G'; G의 시행치

F = 2M_{XY} / (M_X + M_Y) F; 2배열간에 공통 DNA 단편의 비율에 대한 기대치

M_X; DNA배열 X의 제한효소 절단 단편수

M_Y; DNA배열 Y의 제한효소 절단 단편수

M_{XY}; 2개의 배열에 공통적인 DNA 단편수

결 과

(1) mtDNA haplotype의 추정

4종의 어류에서 mtDNA 분리하고 14종의 제한효소로써 절단한 절단단편의 pattern을 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 살펴보면, 참가자미에서 9, 문치가자미에서 7, 강가자미에서 9, 돌가자미에서 6종의 제한효소가 2본이상의 절단단편을 나타내었으며, 그 중 참가자미에서는 6, 문치가자미에서는 2, 강가자미에서는 1개의 제한효소가 개체에 따라 다른 band 수의 절단 pattern을 나타내었으며 돌가자미에서는 동일한 절단 pattern만이 나타났다. 이와 같이 돌가자미를 제외한 3종에서 나타난 서로 다른 Band수의 pattern은 본래의 절단단편에 염기의 치환이 발생하여 1개 혹은 2개의 제한부위가 새롭게 생성되거나 실패되어 나타나는 pattern이며, 이것이 염기치환에 의한 mtDNA의 전형

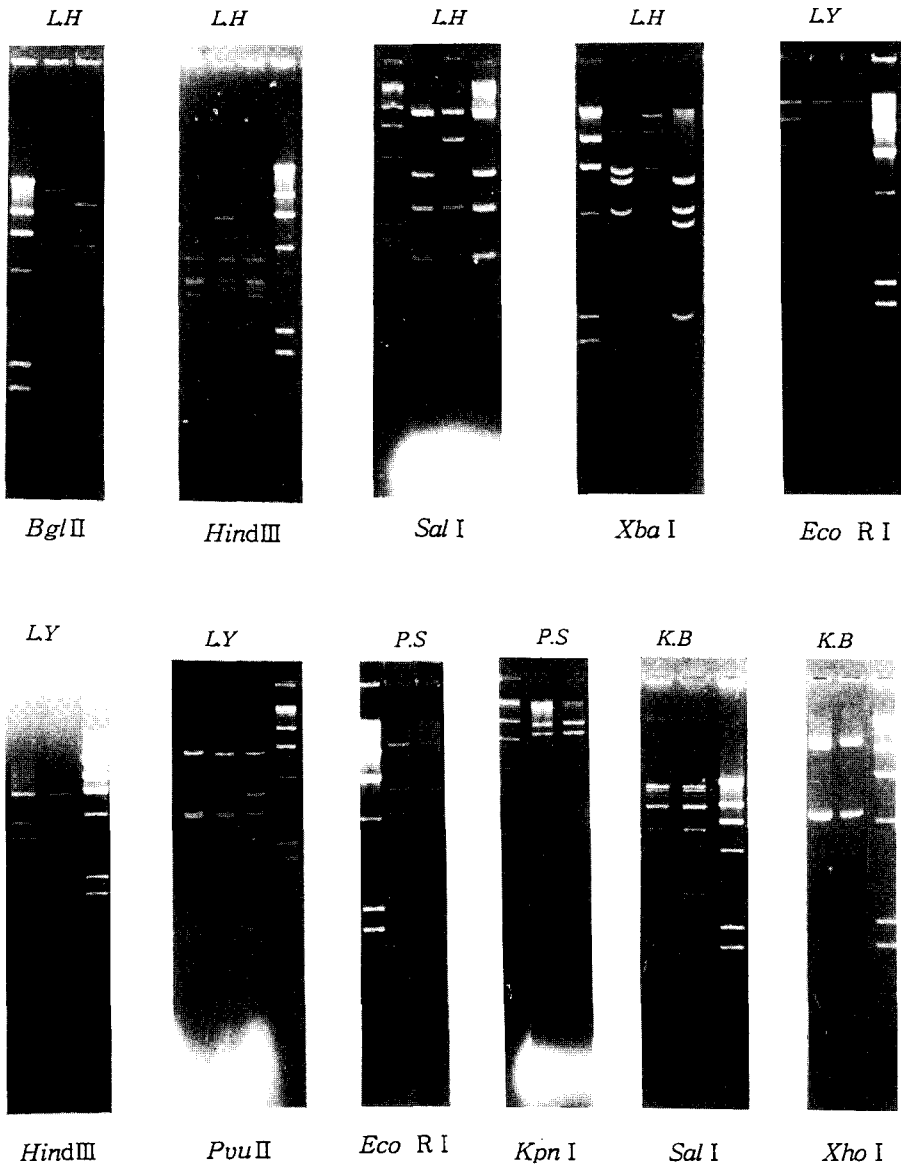


Fig. 1. Cleavage patterns of mtDNA digested by restriction endonucleases in four pleuronectid species.
 λ : *Hind*III digested of Lamda DNA for size marker.
 L.H: *Limanda herzensteini*, L.Y: *Limanda yokohamae*,
 P.S: *Plalichthys stellatus*, K.B: *Kareius bicoloratus*

적인 변이 pattern 일 것이라고 추정되었다. 한편 조사한 14종류의 제한효소로부터 얻어진 붕넙치과 어류 4종의 mtDNA 總鹽基對數는 참가자미 平均 17.67 kbp 문치가자미가 平均 17.62 kbp 강가자미가 平均 17.77 kbp 돌가자미가 平均 17.67 kbp로 나타났다(Table 1).

14종의 제한효소에 의해 관찰된 유전적 변이를

조사한 결과 (Table 2) 참가자미의 mtDNA는 유전적으로 서로 다른 10종류의 haplotype (유전자형)으로 나누어졌으며, 이것은 mtDNA 염기배열의 차이를 나타내는 것이다. 또한 문치가자미는 4종류, 강가자미는 2종류, 돌가자미 1종류의 haplotype이 존재하고 있음이 확인되었다. 이들의 haplotype 출현빈도를 이용하

Table 1. Estimated total size (in Kilobase) of cleavage fragments of mitochondrial DNA surveyed 14 restriction endonuclease in four pleuronectid species

Species	P.F ¹	V.P ²	Average size (kbp)	range (kbp)
<i>Limanda herzensteini</i>	9	6	17.67	17.31~17.95
<i>Limanda yokohamae</i>	7	2	17.62	17.31~17.96
<i>Platichthys stellatus</i>	9	1	17.77	17.37~18.15
<i>Kareius bicoloratus</i>	6	0	17.67	17.41~17.95

¹ The number of polymorphism band pattern

² The number of variant pattern

여 haplotype 다양도를 계산한 결과 참가자미는 0.588, 문치가자미는 0.371, 강가자미는 0.667이었다. 한편, 관찰된 haplotype을 종에 관계없이 공통의 기호를 사용하여 표시해보면, 4종에서 총 17종류의 haplotype이 관찰되었으며, 각 종간에는 공통의 haplotype이 전혀 존재하지 않음을 알 수 있었다(Table 3).

(2) mtDNA 절단단편의 비교

4종간에 있어서 mtDNA의 제한효소 절단단편을 비교하기 위하여 同一 gel 상에서 전기영동을 실시하여 10종류의 제한효소의 절단단편을 비교하였으며 그들 중 대표적인 전기영동상을 Fig. 2에 나타내었다. 전기영동상을 비교한 결과 4종간에 있어서 다수의 공통 및 비공통의 절단단편이 존재하고 있음이 확인되었다.

(3) 4종간의 유전적 차이

14종류의 제한효소에서 얻어진 4종간의 공통 절단단편수 및 mtDNA 제한부위당 평균 염기 치환수(d)를 Table 4에 표시했다. 공통단편수는 참가자미에서 최대96%~최소88%, 문치가자미에서 최대95%~최소91%, 강도다리에서 96%로 나타나 종내 평균 94%, 종間에서 최대62%~최소53%로 나타나 평균 58%,屬間에서는 최대54%~최소31%, 평균 43%로 나타나 分類群이 멀어지면 멀어질수록 낮은 수치를 나타내었다. 한편 mtDNA 제한 부위당 평균 염기치환수(d)는 종內에서 평균 0.0045 (52組合), 종間에서 평균 0.0344 (40組合),屬間에서는 평균 0.0457 (44組合)로 나타나 공통 단편수와는 반대의 경향을 나타내고 있음을 알

수 있었다.

고 찰

포유류, 조류, 곤충류 등의 동물의 mtDNA 총염기대수는 15 kbp에서 19 kbp에 分布하며 全 動物種을 살펴보다도 거의 유사한 염기대수를 가지고 있다고 보고되어 있다 (Brown, 1983). 魚類에 있어서도 15.6 kbp에서 17.6 kbp에 分布하고 있으며 動物의 mtDNA와 거의 동일한 크기를 가지고 있다고 보고한 바 있다 (木島 등, 1990; 木島, 1991). 붕넛치과 魚類에 대해서는 現在까지 보고된 바가 거의 없으며 본 연구에서 얻어진 4종의 염기대수를 살펴보면 거의 17.6 kbp 부근으로 나타나 魚類에서 보고된 수치보다 수백 bp정도 큰것으로 나타내었다. 이것은 본 연구에서 사용한 0.7% agarose gel이 효과적으로 DNA 분자를 분리할 수 있는 범위가 0.8 kbp에서 10 kbp (Maniatis et al., 1982)이며, gel 상에서 band의 이동도로써 分子量을 推定하는 方法의 精密度를 고려한다면 붕넛치과 4종의 mtDNA 염기대수는 다른 魚類 및 動物과 거의 同一하다고 판단되어진다. 한편, 4종간의 염기대수의 偏差가 種內的 염기대수 偏差보다 작기때문에 조사된 4종의 mtDNA 염기대수가 同一한 크기로 인정되며 이러한 사실로 종간의 유전적 차이는 一元的으로 절단단편의 길이를 비교해도 좋다고 생각되어졌다. 이러한 사실은 연어과 魚類 5종간에서 이미 확인된 바 있다 (Berg and Ferris, 1984).

mtDNA의 遺傳的 變異性を 나타내는 尺度로 사용

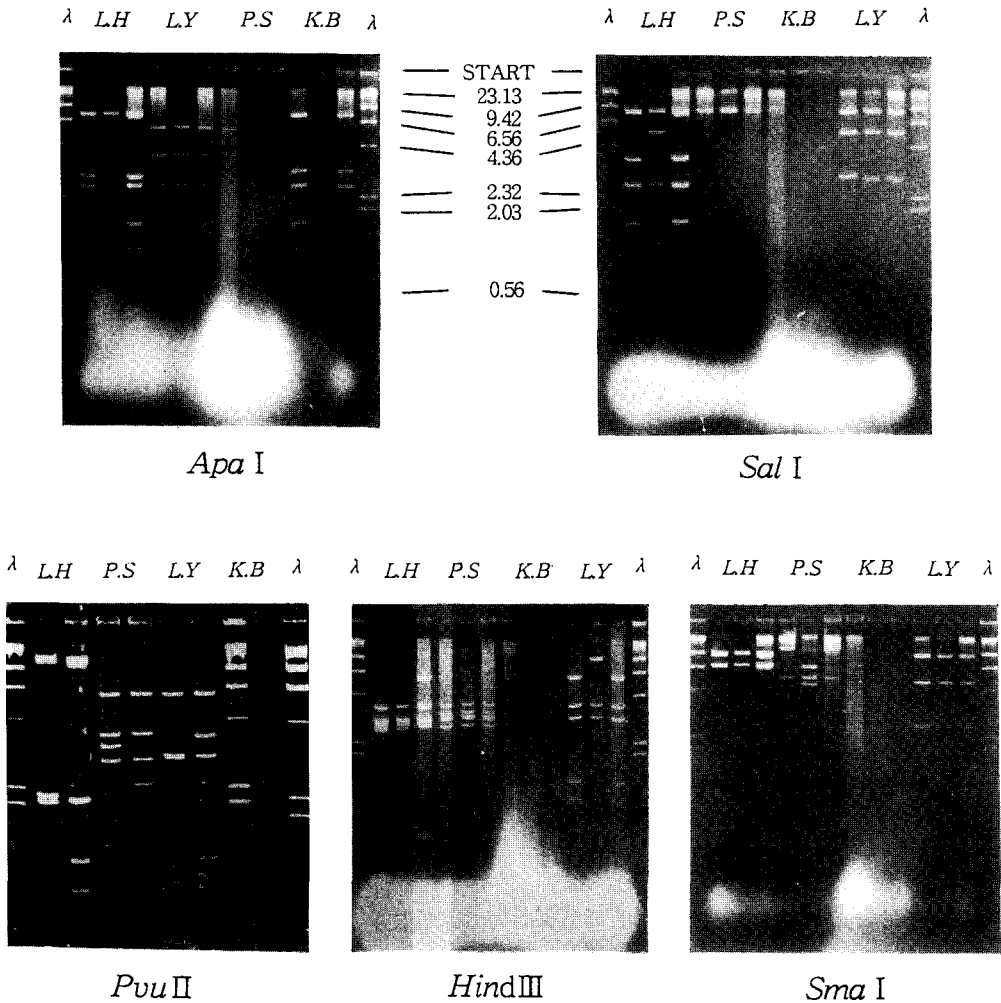


Fig. 2. Comparing of mtDNA cleavage patterns among four pleuronectid species. λ : *Hind*III digested of Lamda DNA for size marker.
 L.H: *Limanda herzensteini*, L.Y: *Limanda yokohamae*,
 P.S: *Plalichthys stellatus*, K.B: *Kareius bicoloratus*

되고 있는 haplotype 다양도 (h)는 魚類의 경우 별로 조사된 바가 없지만 잉어에서 0.699 (木島, 1991), 황어 (*Tribolodon hakonensis*)에서 0.3~0.4 (Hanzawa et al., 1987), 송어 (*Oncorhynchus masou*)류에서 0.638~0.813 (木島, 未發表) 등이 보고되어 있다. 본 연구에서 다수의 개체를 분석한 참가자미와 문치가자미의 haplotype 다양도를 살펴보면 참가자미가 0.588, 문치가자미가 0.371로 나타나 참가자미에서 높은 수치를 나타내었으며, 이것은 Park 등 (1990)이 isozyme 분석법을

이용하여 참가자미와 문치가자미의 중간 유전적 변이성을 보고한 결과와 잘 일치하고 있다. 이러한 사실은 mtDNA 유전적 변이성의 경우도 Isozyme 분석에서 유전적 변이성을 나타내는 가장 큰 要因으로 취급되고 있는 集團의 유효한 크기에 의해서 決定되어진다는 理論 (Kimura and Crow, 1964; Kijima and Fujio, 1990)을 따르고 있다는 가능성을 시사해주고 있다.

집단간의 mtDNA 분화정도를 표시하는 척도의 하나로 제한효소에 의한 절단단편의 제한 부위당 염기

Table 2. Observed haplotypes and the haplotype diversity of mitochondrial DNA in four pleuronectid species

Endonuclease	Haplotypes																No. of indiv.	Freq. of indiv.	h		
	L.H						L.Y						P.S		K.B						
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	I	II	III	IV		I				II	
<i>Apa</i> I	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Bam</i> H I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Bgl</i> II	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Eco</i> R I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Eco</i> R V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Hind</i> III	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Kpn</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Pst</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Pvu</i> II	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A
<i>Sac</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Sal</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Sma</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Xba</i> I	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Xho</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
No. of indiv.	21	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	15	2	1	1	1	1	2
Freq. of indiv.	0.636	0.030	0.030	0.061	0.061	0.061	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.789	0.105	0.053	0.053	0.500	0.500	1.000
h																	0.588	0.371	0.667	0	

L.H.; *Limanda heizensteini*, L.Y.; *Limanda yokohamae*, P.S.; *Platichthys stellatus*, K.B.; *Kareius bicoloratus*

Table 3. Haplotypes observed from the four pleuronectid species surveyed in the present study

Endonuclease	Haplotypes																No. of indiv.
	LH I	LH II	LH III	LH W	LH V	LH VI	LH VII	LH VIII	LH IX	LH X	LY I	LY II	LY III	LY IV	PS I	PS II	
<i>Apa</i> I	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	C	C	C	C	D	D	D
<i>Bam</i> HI	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Bgl</i> II	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Eco</i> RI	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Eco</i> RV	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Hind</i> III	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	C	D	D	C	E	E	F
<i>Kpn</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A
<i>Pst</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	C	C	C
<i>Pvu</i> II	A	A	A	A	B	A	A	A	A	D	E	E	F	F	G	H	I
<i>Sac</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Sal</i> I	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	C	C	D
<i>Sma</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	C	C	D
<i>Xba</i> I	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C
<i>Xho</i> I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	C	C	B
	21	1	1	2	2	2	1	1	1	1	15	2	1	1	1	1	3

LH; *Limanda herzensteini*, LY; *Limanda yokohamae*, PS; *Platichthys stellatus*, KB; *Kareius bicoloratus* For each endonuclease, the pattern "A" represents the most common one observed

Table 4. Estimation of mtDNA differentiation among haplotypes in the four pleuronectid species based on fragment patterns generated by 14 restriction endonucleases

Haplotype	LH I (37)	LH II (38)	LH III (38)	LH IV (36)	LH V (38)	LH VI (36)	LH VII (38)	LH VIII (37)	LH IX (36)	LH X (36)	LY I (38)	LY II (36)	LY III (37)	LY IV (39)	PS I (38)	PS II (37)	KB I (29)
LH I	-	72	72	70	72	70	72	68	70	70	42	42	42	42	40	40	24
LH II	0.0023	-	70	68	70	68	70	66	68	68	40	40	40	40	40	40	24
LH III	0.0023	0.0046	-	68	70	68	70	66	68	68	40	40	40	40	38	38	22
LH IV	0.0023	0.0047	0.0047	-	68	66	68	70	66	66	44	44	42	44	40	40	26
LH V	0.0023	0.0046	0.0046	0.0047	-	64	66	66	70	68	46	46	46	46	40	40	24
LH VI	0.0023	0.0047	0.0047	0.0049	0.0082	-	68	64	66	66	44	44	44	44	40	40	24
LH VII	0.0023	0.0046	0.0046	0.0047	0.0079	0.0047	-	72	68	68	38	38	38	38	38	38	24
LH VIII	0.0047	0.0072	0.0072	0.0023	0.0072	0.0074	0.0023	-	64	64	40	40	38	40	38	38	26
LH IX	0.0023	0.0047	0.0047	0.0049	0.0031	0.0049	0.0047	0.0074	-	66	42	42	42	42	40	40	24
LH X	0.0023	0.0047	0.0047	0.0049	0.0047	0.0049	0.0047	0.0074	0.0039	-	38	38	38	38	38	38	24
LY I	0.0037	0.0374	0.0374	0.0300	0.0290	0.0300	0.0406	0.0366	0.0329	0.0389	-	70	68	74	40	38	22
LY II	0.0321	0.0358	0.0358	0.0000	0.0274	0.0284	0.0389	0.0350	0.0312	0.0379	0.0031	-	70	68	40	38	20
LY III	0.0329	0.0366	0.0366	0.0000	0.0282	0.0292	0.0397	0.0389	0.0312	0.0391	0.0055	0.0023	-	72	40	38	22
LY IV	0.0345	0.0382	0.0382	0.0000	0.0298	0.0304	0.0414	0.0374	0.0337	0.0397	0.0022	0.0055	0.0030	-	40	38	24
PS I	0.0366	0.0374	0.0406	0.0000	0.0374	0.0358	0.0406	0.0397	0.0358	0.0389	0.0374	0.0358	0.0366	0.0382	-	72	30
PS II	0.0382	0.0366	0.0397	0.0000	0.0366	0.0350	0.0397	0.0389	0.0350	0.0381	0.0397	0.0381	0.0389	0.0406	0.0023	-	32
KB I	0.0604	0.0614	0.0669	0.0000	0.0614	0.0595	0.0614	0.0554	0.0595	0.0595	0.0669	0.0711	0.0660	0.0624	0.0474	0.0426	-

Above diagonal; the number of shared fragments over all digests

Below diagonal; Estimates of mtDNA nucleotide divergence

The number of parenthesis is total fragment.

LH; *Limanda herzensteini*, LY; *Limanda yokohamae*, PS; *Platichthys stellatus*, KB; *Kareius bicoloratus*

치환수(d)의 값이 이용되고 있다. 본 연구에 있어서 종내의 집단간에 얻어진 d값에 비해 종간에서는 훨씬 높은 수치를 보여주었으며, 속간에서는 종간에서 나타난 값보다 더욱 높은 값을 나타내어, 分類上 高位에 있는 종간에서 보다 큰 값을 나타냄을 알 수 있었다. 여기에서 나타난 값을 다른 어류에서 조사된 d값과 비교해 보면 잉어(*Cyprinus carpio*)에서는 0.0037~0.0231(木島 1991), 시마연어(*Oncorhynchus masou*)에서는 0.0018~0.028(木島, 未發表), walleye에서는 0.0015~0.0060, 무지개 송어(*Salmo gairdneri*)에서는 0.001~0.011(Wilson et al., 1985), 연어(*Oncorhynchus keta*)에서는 0.0024(Wilson et al., 1985)로 보고 되어 있으며, 種間에서는 무지개 송어와 왕연어(*Oncorhynchus tshawytscha*)가 0.064(Berg and Ferris, 1984)로 보고되어, 본 연구의 결과와 同一하게, 分類上 먼 거리에 있는 種間에서 보다 큰 값을 나타내었다. 한편, 붕넙치과 어류 4종간에 있어 공통의 haplotype(유전자형)이 전혀 존재하지 않았다는 사실로 미루어 종간의 유전적 차이는 종내의 차이와는 달리 염기의 1개 혹은 그 이상이 치환되거나 실할 됨으로서 나타내어 지는것이 아니라 유전적 불연속에 의해 특징 지어진다고 추측할수 있었다.

요 약

붕넙치과 어류의 종간에 있어서의 유전적 분화정도를 DNA level에서 관찰하기 위하여 참가자미, 문치가자미, 돌가자미, 강가자미의 미토콘드리아 DNA를 분리하고, 6鹽基認識의 14제한효소로써 절단한 절단단편의 鹽基置換數를 계산하였다.

1) mtDNA 총염기대수는 4종 모두 17.6 kbp 부근으로 나타나 동일한 염기대수를 가지는것으로 추정되었다.

2) 14종류의 제한효소로써 절단한 절단단편의 pattern으로 4종의 종내 및 종간의 haplotype수를 조사한 결과, 참가자미에서는 10개, 문치가자미에서는 4개, 강가자미에서는 2개, 돌가자미에서는 1개의 haplotype이 관찰되었으며, 종간에 있어서는 공통적인 haplotype가 전혀 관찰되지 않았다.

3) mtDNA의 유전적 변이성을 나타내는 haplotype

다양도(h)는 참가자미에서 0.588, 문치가자미에서 0.371로 나타나 참가자미에서 높은 변이성을 나타내었다.

4) 4종의 유전적 분화의 정도를 mtDNA haplotype간의 제한 부위당 염기치환수(d)로써 살펴 본 결과, 종내의 平均은 0.0045, 종간의 平均은 0.0344, 속간의 平均은 0.0457로 되어 종간, 속간의 값이 종내에 비해 현저하게 높은 수치를 나타내었다.

5) 4種간의 mtDNA haplotype는 1개 또는 2개의 염기치환에 의한 差異가 아니고 遺傳的 불연속을 나타내었다.

참 고 문 헌

- Avise, J. C., E. Bermingham, L. G. Kessler and N. C. Saunders. 1984. Characterization of mitochondrial DNA variability in a hybrid swarm between subspecies of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Evolution*, 38, 931~941.
- Avise, J. C., G. S. Helfman, N. C. Saunders and L. S. Hales. 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 4350~4354.
- Avise, J. C. and R. A. Lansman. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in population of higher animals. In *Evolution of genes and proteins*. eds. M. Nei and R. K. Koehn, Sinauer, Sunderland, Massachusetts, pp. 109~145.
- Berg W. J. and S. D. Ferris. 1984. Restriction endonuclease analysis of salmonid mitochondrial DNA. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 1041~1047.
- Billington, N. and P. D. N. Hebert. 1988. Mitochondrial DNA variation in Great Lakes Walleye (*Stizostedion Vitreum*) populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45, 643~654.
- Brown, W. M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In *Evolution of genes and proteins*. eds. M. Nei and R. K. Koehn, Sinauer Sunderland, Massachusetts, pp 62~88.

- Brown, W. M., M. George, Jr. and A. C. Willson. 1979. Rapid evolution for animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 1967~1971.
- Chapman, R. W. and D. A. Powers. 1984. A method for the rapid isolation of mitochondrial DNA from fishes. Maryland Sea Grant College University of Maryland 1222, H. J. Parterson Hall College Park, MD 20742 UM-SG-TS-84, pp 1~11.
- Hanzawa N., H. Yonekawa and K. Numachi. 1987. Variability of mitochondrial DNA in Japanese dace, *Tribolodon hakonensis* (Cyprinidae). *Jpn. J. Genet.*, 62, 27~38.
- Kijima A and Y. Fujio. 1990. Genetic analysis of population structure in marine teleosts around Japan. *In* Isozyme structure, function, and use in biology and Medicine. eds. Z. Ogita and C. L. Markert, Alanlis Inc., New York, pp. 177~206.
- Kimura, M. and J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49, 725~738.
- Maniatis, T., E. F. Fritsch and J. Sambrook. 1982. "Molecular cloning" A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, USA, pp. 150
- Nei, M. and F. Tajima. 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97, 145~163.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, No.10, 5269~5273.
- Park, J. Y. and A. Kijima. 1991. Genetic variability and differentiation within and between the stone flounder (*Kareius bicoloratus*) and the starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Tohoku J. Agri. Res.*, 41, 69~82.
- Park, J. Y., A. Kijima and Y. Fujio. 1990. Genetic differentiation and variability between and within Brown sole and Mabled sole in the genus *Limanda*. *Tohoku J. Agri. Res.*, 41, 9~23.
- Saunders, N. C., L. G. Kessler and J. C. Avise. 1986. Genetic variation and geographic differentiation in mitochondrial DNA of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Genetics*, 112, 613~627.
- Wilson, G. M., W. K. Thomas and A. T. Beckenbach. 1985. Intra- and Inter-specific mitochondrial DNA sequence divergence in *Salmo*: rainbow, steelhead, and cutthroat trouts. *Can. J. Zool.*, 63, 2088~2094.
- 藤尾芳久. 1986. アイソザイム分析法による魚介類の遺傳的特性の解明に関する研究. 農林水産特別試験研究費補助金による研究報告書, pp 1~12.
- 木島明博. 1991. ミトコンドリア DNAによる魚介類の集團解析および育種への應用. 水産育種, 16, 9~17.
- 木島明博・谷口順彦・坂東喜久・雄向井龍男. 1990. アルカリ処理法によるウナギ, コイ, アユのミトコンドリアDNA (mtDNA)の單離と鹽基對數の推定. 水産育種, 15, 51~57.

1994년 11월 18일 접수

1995년 9월 12일 수리