

갈겨니(*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 Ⅶ. 갈겨니 2 Type의 Mitochondrial DNA 변이

이혜영 · 양서영 · 백상기* · 박창신 · 유성림 · 이성근

인하대학교 이과대학 생물학과; *충남대학교 자연과학대학 생물학과

한국산 淡水 어류인 갈겨니(*Zacco temmincki*)는 형태적으로 동일하나 전기영동법에 의한 s-Mdh에 2type(MM과 MS type)이 있음을 梁 등 (1987)이 주장하였으며 2type間 遺傳的 차이 정도를 分析한 결과 姊妹種으로 밝힌바 있다.

본 연구에서는 상기 결과를 토대로 2type의 mtDNA를 4개 집단에서 추출하여 11가지 制限酵素로 처리한 다음 그 fragment 양상을 비교, 분석하였다.

갈겨니 mtDNA의 전 genome 크기는 약 16.7Kb였으며 fragment homology(F)에서 MS type間 F값은 0.464, MM type間 F값은 0.762로 높은 값을 나타냈다. 또한 MM과 MS 異型間 평균 F값은 0.312(0.258~0.345범위)로 同型間보다 낮은 유사성을 나타내고 있다.

집단 또는 type間 nucleotide sequence divergence(p)를 산출한 결과 MS type間的 p=0.128에 비해 同型間的 p값은 0.045로 매우 낮은 mtDNA sequence 變異를 나타내었다. 그러나 異型間인 2type 평균 p값은 0.195(0.177~0.226범위)로 차이를 나타냈다.

이와같은 2type간의 차이는 isozyme 연구 분석 결과와 일치하고 있어 갈겨니 2type間的 種分化를 확신시키는 새로운 자료가 되었다.

KEY WORDS: *Zacco temmincki*, Speciation, Mitochondrial DNA.

種分類는 주로 形態形質에 의한 分類방식에 의존하여 왔으나 근래에는 이와 더불어 核型 및 電氣泳動法에 의한 核遺傳子分析이 시도되어 왔다. 자연 상태에 서식하는 刺楸동물들의 遺傳的 變異 조사를 위하여 여러 유전진화 학자들은 集團 또는 種間 유전적 변이 정도가 어떻게 구성되어 있는지에 관심이 집중되었다. 이와같은 유전적 분화 문제에서 Avise (1975), Avise와 Selander (1972), Yang과 Patton (1981) 등이 전기영동에 의하여 isozyme을 분석한 자료는 다양하지만 DNA 수준에서 遺傳的 分化 문제를 다룬 연구자료는 매우 적은 편이다.

最近에 細胞質內에 존재하는 mitochondrial DNA(mtDNA)의 監基配列 순위에 따라 種內 또

는 種間 近緣關係를 밝힘으로써 種의 분화과정을 유추하고 있다 (Ferris *et al.*, 1981; Avise *et al.*, 1987).

mtDNA연구는 사람(Brown, 1980; Smouse, and Li, 1987) 및 포유동물(Bush *et al.*, 1977; Avise *et al.*, 1979; Chapman *et al.*, 1982)뿐 아니라 파충류(Wright *et al.*, 1983), 양서류(Spolsky and Uzzell, 1984; Carr *et al.*, 1987) 그리고 어류(Avise and Saunders, 1984; Bermingham and Avise, 1986; González-Villasenor *et al.*, 1986)에 이르기까지 다양하게 시도되고 있다. 이와같은 연구분야에 이용되는 mtDNA는 核 DNA에 비해 매우 작은 크기인 15~20kb 정도의 環狀二重 구조로 되어있으며, 母系遺傳 물질로 알려져있다. 또한 細胞內·外 환경 변화에 따라 核DNA보다 監基置換 속도가 매우 빠른 특징을 근거로 환경적응 문제와 연관하여 近緣 種間

본 연구는 1987년도 문교부 기초과학 육성연구비로 수행되었음.

Table 1. Collection localities, dates and sampling numbers between two allelotypes of *Zacco temmincki*.

Types*	No. of specimens	Localities(dates)
MS	100	Mogdong, Kapyung-Gun, Kyonggi-Do (87',11)
MS	116	Tongchon, Namhae-Gun, Kyongnam (88', 2)
MM	45	Sosang, Namhae-Gun, Kyongnam (88', 2)
MM	120	Sogwang, Uljin-Gun, Kyongnam (88', 5)
Total	381	

*:Mdh allelotypes

또는 姉妹種 및 雜種에 대한 연구에 많이 이용되고 있다(Ferris et al., 1981, 1983; Lansman et al., 1981; Chapman et al., 1982).

한국산 淡水魚 중 잉어과(Cyprinidae)에 속하는 갈겨니(*Zacco temmincki*)는 isozyme 分析 결과 supernatant malate dehydrogenase(s-Mdh)에 2type(MM과 MS type)이 존재하나 形態的인 分化는 전혀 관찰할 수 없었으며, 人工交配 실험 결과 2type 사이에 生殖的隔離가 작용하였음을 증명하였다(梁과 閔, 1987; 梁 등 1987). 李 등 (1986), 李와 李(1988)는 2type의 核型에도 차이가 있음을 밝힌바 있다.

本 연구는 갈겨니 2type의 mtDNA를 추출하여 특정한 數의 監基쌍을 인식, 절단하는 여러가지 제한효소를 처리함으로써 염기 배열순서의 차이로 나타나는 fragment의 크기 차이를 이용, 각 집단間 fragment homology(F)와 nucleotide sequence divergence(p)를 산출하여 이들의 近緣關係를 분석하고 核內 遺傳子 變異 정도와의 상호 관계를 규명하고자 하였다.

材料 및 方法

材料

본 연구에 사용한 실험 재료는 1987년 11월부터 1988년 5월에 걸쳐 梁 등 (1987)의 보고를 기준으로 Mdh MM type만이 서식하는 두 집단에서 165개체와 MS type만이 서식하는 두 집단에서 216개체를 투망과 어항을 사용하여 채집하였으며 채집한 개체들은 산소를 넣어 살아있는 상태로 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다

(Table 1).

Mt DNA 추출

mtDNA추출 효율을 높이기 위하여 그 함량이 많은 조직인 肝, 心臟 및 腎臟을 생체로부터 적출하여 Lansman 등 (1981)과 González-Villasenor 등 (1986)의 방법을 다소 변형하여 실시하였다. 즉, 조직을 마쇄하여 低速($\times 700g$) differential 遠心分離한 후 sucrose-step gradient 遠心分離로 mitochondria 층을 분리하였다. EDTA를 함유한 緩衝液에 mitochondria 층을 회석한 후 高速 遠心分離($\times 20,000g$)에 의해 형성된 침전물을 회수하고 non-charged detergent인 nonidet P-40으로 mitochondria 膜을 분해시켰다. Sequential phenol-chloroform 처리로 단백질을 제거하였으며 95% ethanol에 침전시켜 mtDNA를 얻어 $-20^{\circ}C$ 에 저장하였다.

制限酵素 처리

본 실험에 사용한 制限酵素는 6개의 nucleotides 인식부위를 가지는 type II로서 *Ava* I, *Bam* HI, *Ecl* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Bst* EII, *Cla* I, *Eco* RI, *Hind* III, *Pst* I, *Xba* I이었으며 각 효소 작용의 적정온도에서 mitochondrial DNA를 24시간 digestion시켰다.

Agarose 電氣泳動

제한효소로 처리한 시료에 gel loading dye(Bromophenol blue)를 첨가한 후 실온에서 0.8% agarose horizontal gel을 이용 60Volt에서 3시간 電氣泳動하였으며 Ethidium bromide(EtBR)로 染色한 후 UV transilluminator로 band를 확

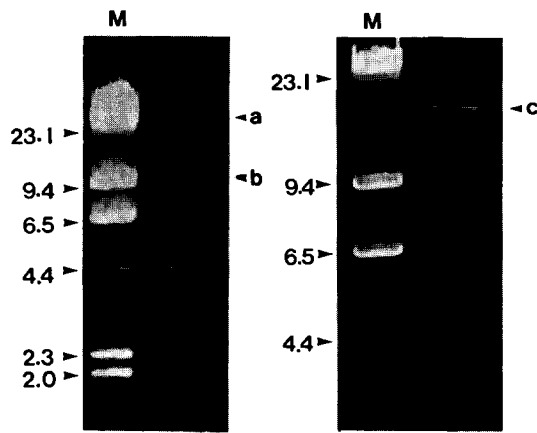


Fig. 1. Agarose-gel electrophoresis separation of undigested mtDNA(left) and one digested with *Bam* HI enzyme(right); M: molecular standard marker phage λ DNA digested with *Hind* III, a: nicked circular, b: supercoiling, c: linear state.

인하고 사진 촬영하였다.

Fragment 分析

fragment homology(F)와 nucleotide sequence divergence(p) 값은 Brown등 (1979)의 方法에 의해 산출하였다.

結 果

각 집단에서 분리된 mtDNA의 순수도를 알기 위해 制限酵素 처리를 하지 않은 전체 mtDNA와 *Bam* HI에서 1개의 인식 부위로 자른 서상 집단의 linear한 mtDNA를 *Hind* III로 처리된 λ phage DNA와 함께 電氣泳動한 후 그 이동도를 비교하였을때 효소 처리하지않은 전체 mtDNA에서는 supercoil과 circular DNA band만이 확인되었다 (Fig. 1). 갈겨니의 개체당 mtDNA의量は 11개 制限酵素를 처리하기에 너무 적으므로 집단별로 섞어서(pool) 분석하였다. Fig. 3에서와 같이 각 집단은 전형적인 mtDNA 양상으로부터 집단내 mtDNA 變異 정도가 매우 homogeneous함을 알 수 있었다. 酵素 처리된 fragment중 *Bam* HI, *Bgl* I 그리고 *Hind* III 결과

Table 2. Restriction fragment patterns in the mtDNA of *Z. temmincki*.

Enzymes	MS(1)	MS(2)	MM(3)	MM(4)
<i>Bam</i> HI	8,500	12,500	16,700	16,700
	4,350	2,450		
	2,300	1,300		
	1,300			
<i>Bgl</i> I	11,500	8,300	12,000	12,000
	4,500	4,500	4,500	4,500
		4,000		
<i>Bgl</i> II	13,000	13,000	13,000	13,000
	3,400	3,400	3,400	3,400
<i>Eco</i> RI	12,500	12,500	8,700	8,700
	4,050	4,050	4,100	4,100
			3,700	3,700
<i>Hind</i> III	11,000	6,900	6,900	6,900
	2,350	4,100	4,100	4,100
	1,800	2,350	2,350	2,350
	1,400	1,800	1,800	1,800
<i>Pst</i> I		1,400	1,400	1,400
	11,200	11,200	14,200	14,200
	3,000	3,000	2,450	2,450
<i>Xba</i> I	2,450	2,450		
	7,000	7,000	7,000	7,000
	6,400	5,000	5,600	5,900
	3,600	4,750	2,250	3,800
		1,850		

1: Kapyung, 2: Tongchon, 3: Sosang, 4: Uljin.

Unit: bp

는 MM集團間에서 동일하게 나타나는 반면, MS集團間에서는 모두 다르게 관찰되었다 (Table 2, Fig. 3). 특히 *Hind* III fragment중 2.3 kb이하의 작은 fragment는 4개 集團 모두 동일하나 가령 집단에서만 약 11.0kb의4 큰 fragment가 나타났다 (Fig. 2,3). *Eco* RI과 *Pst* I으로 처리하였을때 fragment들은 地理的 차이없이 2type에 따라 分類된 집단의 결과와 일치하였다 (Fig. 2,3). 또한 *Bgl* II로 처리된 fragment는 4개 집단 공히 동일하였으며 *Xba* I은 각 type 또는 地理的 분포에 따라 fragment 양상이 모두 다르게 나타났다 (Fig. 3).

制限酵素 처리된 fragment 분석에서 갈겨니의 전체 mtDNA 크기는 약 16.7 kb이며 각 酵素로

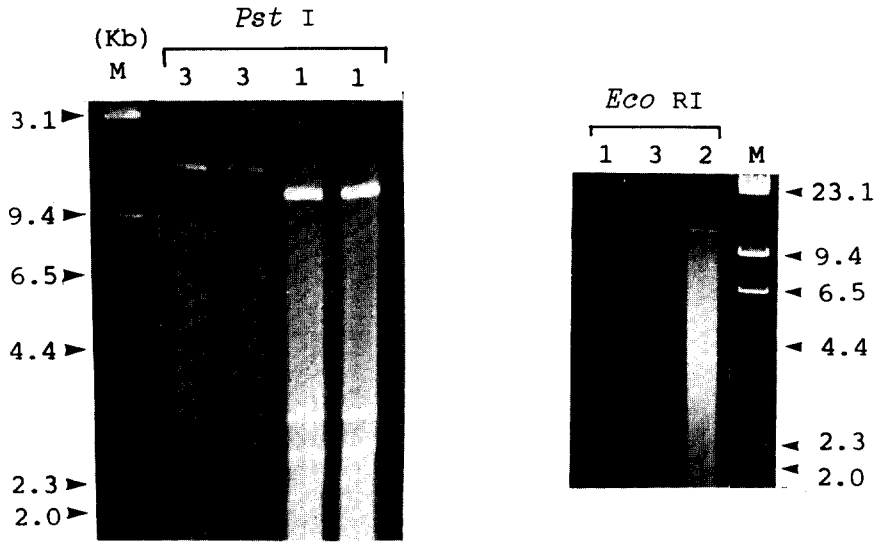


Fig. 2. Electrophoretic patterns of typical mtDNA between MS and MM allelotypes; M: size marker, 1: Kapyung, 2: Tongchon, 3: Sosang.

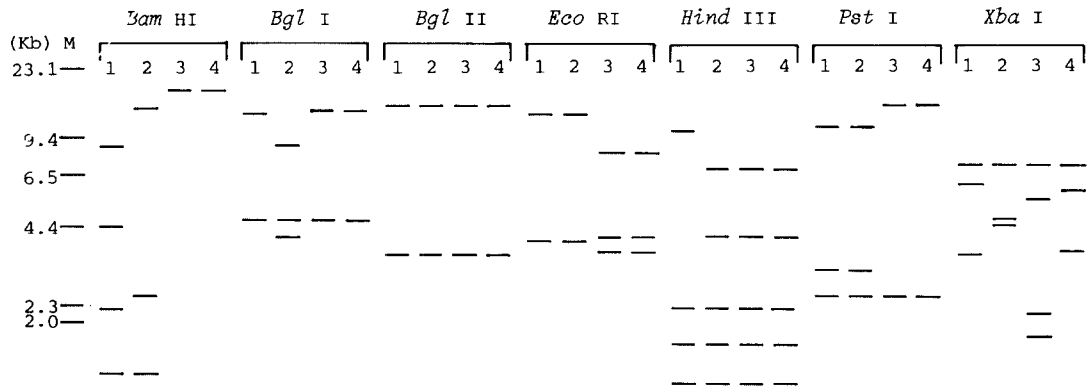


Fig. 3. Diagram of digestion patterns of mtDNA in 381 specimens; the molecular weight marker(M) is the fragments generated by a *Hind* III digestion of phage λ DNA. 1: Kapyung, 2: Tongchon, 3: Sosang, 4: Uljin

잘린 fragment數는 1개에서 5개까지로 나타났다 (Table 2). 각 집단별 7가지의 제한효소로 절단된 총 fragment數의 범위는 18~21개로 거의 일양하게 나타났으며 (Table 3), 1kb 이하의 fragment크기는 자료 분석에 포함시키지 않았다. Table 4는 4개 집단의 fragment의 비교분석을 토대로 fragment homology(F)와 sequence divergence(p) 정도를 표시하였다. 가평(MS)과 서상(MM) 集團間 F값은 0.258로 가장 낮았으며, 가장 높은 F값은 서상(MM)과 울진(MM)

集團間으로 0.762였다 (Table 4). MS 集團間 mtDNA 變異 정도 p값은 0.128이나 MM 集團間 變異값은 0.045로 매우 낮았다. MM과 MS 集團間 sequence divergence 變異 폭은 0.177~0.226이었다 (Table 4).

考 察

한국산 갈겨니(*Zacco temmincki*)의 supernatant

Table 3. Comparative analysis and estimated numbers of mtDNA fragments among four populations of *Z. temmincki*.

Enzymes	MS(1)	MS(2)	MM(3)	MM(4)	1-2	1-3	1-4	2-3	2-4	3-4
<i>Bam</i> HI	4	3	1	1	1	0	0	0	0	1
<i>Bgl</i> I	2	3	2	2		1	2	1	1	2
<i>Bgl</i> II	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Eco</i> RI	2	2	3	3	2	0	0	0	0	3
<i>Hind</i> III	4	5	5	5	3	3	3	5	5	5
<i>Pst</i> I	3	3	2	2	3	1	1	1	1	2
<i>Xba</i> I	3	3	4	3	1	1	1	1	1	1
Total	20	21	19	18	13	8	9	10	10	16

1: Kapyung, 2: Tongchon, 3: Sosang, 4: Uljin

Table 4. Estimates of mtDNA differentiation among four populations

Populations (types)	1	2	3	4
MS(1)	—	0.464	0.258	0.310
MS(2)	0.128	—	0.333	0.345
MM(3)	0.226	0.183	—	0.762
MM(4)	0.195	0.177	0.045	—

Results are based on restriction fragments from 7 six-base endonucleases. Above diagonal: fraction of shared fragments(F) over all digests. Below diagonal: estimates of mtDNA nucleotide sequence divergence(p) from approach of Brown *et al.* (1979). 1: Kapyung, 2: Tongchon, 3: Sosang, 4: Uljin.

*Mdh*에는 MS heterozygote와 MM homozygote type만이 존재하고 2type間 同所(sympatric)지역에서도 雜種type은 발견되지 않는다(梁 등 1987). 같거나 *Mdh*의 동일한 type間 nucleotide sequence divergence(p)를 비교해 볼때 MS type間的 p 값은 0.128로서 MM type間的 0.045에 비해 약 3배 정도의 變異를 보이고 있었다. 이는 메기의 일종인 *Arius felis*와 toadfish *Bagre marinus*에서 나타난 p 값(Avise *et al.*, 1987)과 비교될 수 있었으나 p 값의 산출방법이 相異한 관계로 직접적인 비교는 할 수 없었다. 또한 다른 두 type 間的 mtDNA 變異 정도는 동일type間的 變異보다 큰 값을 보이고 있었다. 梁과 閔(1987)의 isozyme 연구 결과에서도 2type間的 遺傳的 近緣値는 동종내 集團間的 近緣値보다 낮은 값을 보였는데, 이 결과는 본 연구의 결과와 일치하였다. 이와같은 變異에서 梁과 閔

(1987)은 자연 집단 遺傳的 變異 정도가 집단 的 크기, 환경 조건에 따른 棲息處의 안전성, 여러 종류의 자연 선택의 작용 그리고 集團의 交配 行動등 다양한 요인에 의해 좌우됨을 제시하였으며, 같거나 mtDNA 變異 또한 上記 요인들에 의한 결과로 생각한다. 특히 다른 두 type間 평균 p 값 0.195는 Brown등 (1979)에 의해 연구된 primates 4종류의 屬間 變異 값과 유사하게 나타났다. 그러나 *Lepomis* 屬 어류 9種의 mtDNA 분석 결과, 種間 p 값 범위는 0~0.788로 매우 다양함을 보여주고 있었다 (Avise and Saunders, 1984). 이와같은 분석은 사람을 포함한 여러 포유동물중 同種, 姊妹種 그리고 獨立種의 결과에서도 p 값의 정도 차이가 뚜렷하게 나타남을 알 수 있다 (Lansman *et al.*, 1981)

mtDNA 變異 측정을 위해 동일한 결과를 대상으로 하였을때 Brown등 (1977)에 의해 산출된 p 값은 Nei와 Li (1981)에 따른 값과 다소 차이를 나타내므로 p 값 수치의 직접적인 비교는 어려운 점이 있으나 種內 또는 種間 mtDNA 變異 차이의 추정은 가능하리라 생각한다.

같거나 mtDNA 분석 중 *Eco* RI과 *Pst* I digestion pattern은 *Mdh* 2type을 뚜렷히 구별할 수 있는 genetic marker로 생각된다. Spolsky와 uzzell (1984)은 *Rana* 屬 2種의 mtDNA 분석에서 *R. ridibunda*는 genetic marker band로 인하여 뚜렷한 mtDNA 2type으로 구별되었으며 이들 type중 하나가 *R. lessonae*와 유사함을 근거로 種間 雜種 문제를 설명하고 있다. 여러 mtDNA 연구 결과에서 많은 分類郡의 mtDNA sequence

차이는 large fragment의 inversion, transposition, deletion 또는 addition 등의 突然變異 보다는 각 監基 置換의 결과인 遺傳子 突然變異(gene mutation 또는 point mutation)가 우세하게 작용했음을 지적하였다 (Avisé et al., 1979; Lansman et al., 1981; Carr et al., 1987). 그러므로 isozyme 분석 결과에서 나타난 *Mdh 2* type의 分化 年代 推定을 기초로 하였을 때 갈겨니 mtDNA 制限 酵素 인식 위치의 획득(*Eco* RI, *Hind* III 등) 또는 소실(*Bam* HI, *Pst* I 등)을 예견할 수 있을 것으로 사료된다.

여러가지 制限 酵素 중 6-base cutting 酵素만을 사용한 본 연구에서는 그 fragment 數가 다소 적은 18~21의 범위를 나타냈다. Avisé 등 (1984)이 보고한 sunfish 중에서 *Lepomis macrochirus*의 fragment 數는 37(12개 制限 酵素 처리 결과)이며 González-Villasenor 등 (1986)이 분석한 경골 어류의 일종인 *Fundulus heteroclitus*는 55(18개 制限 酵素 처리 결과)로서 사용한 酵素의 數와 인식부위 監基 數에 따라 다양하게 나타남을 예견할 수 있다.

mtDNA fragment 크기와 인식부위관계에서 갈겨니 mtDNA의 전체 genome 크기인 16.7kb를 6-base cutting 酵素가 작용하여 각 fragment를 만들 경우 특정한 위치를 인식할 수 있는 기대 확률은 약 0.024%로 매우 낮은 값을 보이기 때문에 同一種의 비교에서는 같은 크기의 fragment가 동일한 위치에 존재할 기대치가 매우 높은 것으로 推定된다. 이러한 관계는 제한효소의 정확한 위치가 밝혀진다면 상기와 같은 推定은 해명될 수 있을 것이다.

引用文獻

- Avisé, J. C., 1975. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* **23**:465-481.
- Avisé, 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.
- Avisé, J. C. and R. K. Selander, 1972. Evolutionary genetics of cave-dwelling fishes of the genus *Astyanax*. *Evolution* **26**:1-19.
- Avisé, J. C., C. A. Reeb, and N. C. Saunders, 1987. Geographic population structure and species differences in mitochondrial DNA of mouthbrooding marine catfishes (Ariidae) and demersal spawning toadfishes (Batrachoididae). *Evolution* **41**:991-1002.
- Avisé, 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.
- Avisé, J. C., C. Giblin-Deavidson, J. Laerm, J. C. Patton, and R. A. Lansman, 1979. Mitochondrial clones and maternal phylogeny within and among geographic populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**:6694-6698.
- Bermingham, E. and J. C. Avisé, 1986. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics* **113**:939-965.
- 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.
- Brown, W. M., 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**:3605-3609.
- Bush, G. L., S. M. Case, A. C. Wilson, and J. L. Patton, 1977. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**:3942-3946.
- Carr, S. M., A. J. Brothers, and A. C. Wilson, 1987. Evolutionary inferences from restriction maps of mitochondrial DNA from nine taxa of *Xenopus* frogs. *Evolution* **41**:176-188.
- Chapman, R. M., J. C. Stepens, R. A. lansman, and J. C. Avisé, 1982. Models of mitochondrial DNA transmission genetics and evolution in higher eucaryotes. *Genet. Res. Camb.* **40**:41-57.
- Ferris, S. D., A. C. Wilson, and W. M. Brown, 1981. Evolutionary tree for apes and humans based on cleavage maps of mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**:2432-2436.
- Ferris, S. D., R. D. Sage, C. M. Huang, J. T. Nielsen, U. Ritte, and A. C. Wilson, 1983. Flow of mitochondrial DNA across a species boundary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**:2290-2294.
- Gonzalez-Villasenor, L. I., A. M. Burkhoff, V. Corces, and D. A. Powers, 1986. Characterization of cloned mitochondrial DNA from the teleost *Fundulus heteroclitus* and its usefulness as an interspecies hybridization probe. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**:1866-1872.
- Lansman, R. A., R. O. Shade, J. F. Shapira, and J. C.

- Awise, 1981. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. *J. Mol. Evol.* **17**:214-226.
- 이혜영, 이현실, 1988. 갈겨니(*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 V. 갈겨니 2형의 핵형에 관한 지리적 변이. *Kor. J. Genetics* **10**:93-99.
- 이혜영, 조정우, 양서영, 1986. 갈겨니(*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 II. 갈겨니 2형의 핵형 분석. *한국동물학회지*. **29**:208~214.
- Nei, M. and W. H. Li, 1979. mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**:5269-5273.
- Smouse, P. E. and W. H. Li, 1987. Likelihood analysis of mitochondrial restriction-enzyme patterns for the human-chimpanzee-gorilla trichotomy. *Evolution* **41**:1162-1176.
- Spolsky, C. and T. Uzzell, 1984. Natural interspecies transfer of mitochondrial DNA in amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**:5802-5805.
- Wright, J. W., C. Spolsky, and W. M. Brown, 1983. The origin of the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus laredonesis* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Herpetologica* **39**:410-416.
- 양서영, 민미숙, 1987. 갈겨니(*Zacco temmincki*)의 진화에 관한 연구 IV. 유전적 변이, 형태비교 및 인공 교배. *동물학회지* **30**:417-431.
- Yang, S. Y. and J. L. Patton, 1981. Genetic variability and differentiation in the Galapagos finches. *Auk* **98**:230-242.
- 梁瑞榮, 閔燦淑, 金英眞, 1987. 갈겨니(*Zacco temmincki*)의 進化에 關한 研究 I. 갈겨니 2型의 地理的 分布 및 季節的 變異에 關하여. *한국동물학회지* (submitted).

(Accepted June 19, 1988).

A Study on the Speciation of a Fresh Water Fish *Zacco temmincki*. VII. Variation of Mitochondrial DNA between 2 Types of *Zacco temmincki*

Hei Yung Lee, Suh Yung Yang, Sang Gi Paik*, Chang Shin Park, Sung Lim Yu, and Sung Keun Lee (Dept. of Biology, Inha University, Inchon 402-751; *Dept. of Biology, Chungnam National University, Taejeon 302-764, Korea)

Mitochondrial DNAs of two *Mdh* allelotypes of the dark chub, *Z. temmincki* inhabiting in Korean fresh water, were analysed.

Samples of each type were collected from four populations, and the fragment patterns for mtDNA of each type were explained from 7 of the eleven restriction enzymes with hexanucleotide recognition site.

Genome size was approximately 16.7 kilobases. The highly typical mtDNA fragments of each type were discovered in digestion profiles produced by *Eco* RI and *Pst* I enzymes. The comparisons of restriction fragment patterns and relative digestion maps permitted the estimation of fragment homology (F) and nucleotide sequence divergence(p). Between the two identical types, sequence divergence(p) was 0.128(MS), and 0.045(MM),; between the two different types, 0.195 (range 0.177-0.226).

These result may provide a distinct difference more than the value derived from allozyme analysis, and a powerful new molecular approach for assessing genetic-evolutionary relationship among fishes.