

## 미토콘드리아 ribosomal RNA 유전자 염기서열분석에 의한 한국산 연어아과 어류의 유전적 계통도

이희정 · 박종연 · 이정호 · 민광식 · 전임기\* · 유미애\*\* · 이원호\*\*\*  
국립수산진흥원 생물공학과, \*국립수산진흥원 증식부, \*\*부산대학교 분자생물학과, \*\*\*부산대학교 생물학과

### Phylogeny of the subfamily Salmoninae distributed in Korea based upon nucleotide sequences of mitochondrial ribosomal RNA genes

Heui-Jung LEE, Jung-Youn PARK, Jeong-Ho LEE, Kwang-Sik MIN, Im Gi JEON\*,  
Mi-Ae YOO\*\* and Won-Ho LEE\*\*\*

Biotechnology Division, National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-900, Korea

\*Aquaculture Division, National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-900, Korea

\*\*Department of Molecular Biology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

\*\*\*Department of Biology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Complete sequences of the mitochondrial rRNA genes were determined among six salmonines in Korean Waters (*Brachymystax lenok*, *Oncorhynchus keta*, *O. masou masou*, *O. masou ishikawae*, *O. mykiss*, and albino mutant of *O. mykiss*). The purposes of this study were to provide the basic information on levels of mtDNA polymorphism among these species for genetic characterization; discuss phylogenetic relationships among three *Oncorhynchus* species; demonstrate the utility of rRNA gene sequence data as a genetic marker for distinguishing among Korean salmonines. PCR/direct sequencing data indicated the following consistent results; 1) 12S rRNA genes was 945 bases long in *Oncorhynchus* species, and 946 bases in *B. lenok*, including one insertion. 2) Of sequence variation in mitochondrial rRNA regions, transitional substitutions were superior to transversion. 3) The significant differences were not shown in the intraspecific variation values in these gene regions. The percentage sequence divergence values were ranged from 0.066 to 0.212%. 4) The interspecific divergences were greater than the intraspecific variation. Nevertheless, ribosomal RNA genes were more conserved among species than the other mitochondrial genes, and they showed potentiality as an intergenic marker for systematics. In addition, phylogenetic trees, constructed from this data, supported that cherry salmon was closer to chum salmon than to rainbow trout, and that lenok was most distantly related species in six salmonid species.

Key words: Mitochondrial rRNA gene, PCR/direct sequencing, Phylogenetic tree, Korean salmonines

### 서 론

연어류는 미국, 일본, 캐나다 등 선진 수산국가에서는 이미 오래전부터 주요한 산업자원으로 취급되어져 오고 있으며 생산성 향상, 방류효과 등에 관해 다각적인 연구가 진행되어 오고 있다. 우리나라에서도 1970년대부터 대대적인 치어방류사업을 실시하여 연안 어업 자원 조성 및 증식을 모색하고 있으며, 식용어로서의 가치와 산업적 중요성에 대한 국가적인 관심이 높아지고 있다.

현재 우리나라 연안에는 연어속 (*Oncorhynchus*) 어류인 *O. masou* (산천어, 시마연어), *O. keta* (연어), *O. mykiss* (무지개송어)와 열목어속 (*Brachymystax*)의 열목어 (*B. lenok*)가 대부분을 점하고 있으며, 이들은 냉수성 고급어종으로써 이미 국내에서 활발한 양식이 진행중이며 또한 미래의 고부가 양식대상종으로 꾸준한 연구가 계속되고 있다.

그러나, 지금까지 연구의 대부분이 형태적 특징에 의한 분류학적 연구 혹은 배수체 생산가능성, 양식 적용 가능성 등에 집중된 세포유전학적·생화학적 연구였으며 (Hong et al., 1994; Myoung and Kim, 1996; Park et al., 1997), 집단유전학적인 관점에서 종의 분류 및 집단구조분석은 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 국내외적으로 주요한 유전자원으로 활용하기 위해서는 새로운 분자생물학적 기법을 도입한 집단유전학적 연구 및 종의 유전적 분석 등의 연구가 필요 요구되는 것이다.

근래에는, 수산생물의 종내·종간 및 집단내·집단간의 유전적 차이를 규명하는데 있어, 미토콘드리아 DNA의 다형 분석 및 특정유전자 염기서열분석 등이 효과적으로 이용되고 있으며 (Thomas and Beckenbach, 1989; Beckenbach, 1991; McVeigh et al., 1991; Kitano et al., 1997), 국내에서도 참조기 (Hwang et al., 1994), 대하 (Hwang, 1996), 잉어 (Nam et al., 1997) 등의 연구가 수행된 바 있다.

미토콘드리아 DNA는 환상의 이중나선 구조로 세포내에서 복제수 (copy number)가 많고, 크기가 작아 분리 및 분석이 용이하며, 핵 DNA보다 5~10배나 빠른 진화속도를 나타내는 등, 집단유전학 연구의 표지인자로 사용가능한 많은 잇점을 가지고 있다 (Brown et al., 1982). 또한, 미토콘드리아 DNA를 구성하는 대부분의 유전자 배열은 매우 보존적인데, 특히 ribosomal gene과 protein coding gene은 모든 생물체의 미토콘드리아 DNA내에 일정하게 존재하며, 염기서열 또한 보존적 영역과 변이 영역을 겸비하고 있어서 특정유전자 염기서열분석과 같은 분자생물학적 분석

본 연구는 해양수산부 수산특정연구과제 연구비에 의해 수행되었음.

방법을 적용하여 집단의 변이성 연구, 종의 유연성 연구 등에 널리 이용되고 있다 (Bartlett and Davidson, 1991; Beckenbach, 1991; Carr and Marshall, 1991).

본 연구에서는 우리나라 연안에 서식하는 연어류의 집단구조 분석을 위한 기초자료를 얻기 위하여 미토콘드리아 ribosomal RNA (12S & 16S) 유전자 영역의 염기서열변이를 비교·분석하여 집단 내/집단간의 유전적 차이를 조사하고자 하였으며, 또한, 연어속에 속하는 세 종간의 유전적 유연관계 및 시마연어의 진화적인 위치를 파악하고자 하였으며, 이 영역에서의 유전적 표지인자 개발가능성과 그 효용성을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용된 어류

본 연구에 사용된 어류는 국립수산물진흥원 양양내수면 연구소에서 증보존용 친어로서 사육중인, 연어 (*Oncorhynchus keta*), 시마연어 (*O. masou masou*), 산천어 (*O. masou ishikawae*), 무지개송어 (*O. mykiss*), 무지개송어의 알비노 변이체 및 열목어 (*Brachymystax lenok*) 6종이며, 냉동상태로 실험실로 운반한 후, 조직 (liver, brain, muscle)을 채취한 뒤 분석용 시료로서  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 동결·보존하였다.

### DNA 분리

미토콘드리아 DNA 분리는 Chapman and Powers (1984)의 Non-idet 방법을 개량하여 사용하였다. 동결보존된 조직 1~5 g을 0.25M sucrose-TEK (TEK; 50mM Tris, 10mM EDTA, 1.5% KCl, pH 7.5) 완충용액과 함께 homogenize한 후, 핵 및 세포 debris 제거를 위해  $1,000\times\text{g}$ 에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 취해  $18,000\times\text{g}$ 에서 한 시간 동안 원심분리하여 미토콘드리아를 모으고, 4.05 ml의 TEK에 녹여 최종 농도 1%의 Non-idet으로 lysis하였다. 이후의 DNA 추출 과정은 Sambrook et al. (1989)의 일반적인 방법에 따랐으며, 분리된 DNA는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

### Ribosomal RNA 유전자 영역의 증폭

0.2~0.5  $\mu\text{g}$ 의 template DNA와 mitochondrial genome의 각 영역별로 적절한 primer 0.5  $\mu\text{M}$ ; 각각의 dNTP 0.2 mM;  $1\times\text{Ex TaqTM}$  buffer (TAKARA); 1.25 units의 Taq DNA polymerase (*Ex TaqTM*, TAKARA)이 든 반응액을 총 50  $\mu\text{l}$ 되게 조성하여, PCR (polymerase chain reaction)반응을 35회 반복하였다 ( $94^{\circ}\text{C}$ , 1분;  $50\sim 55^{\circ}\text{C}$ , 1분;  $72^{\circ}\text{C}$ , 2분). PCR 반응 및 direct sequencing을 위해 6쌍의 primers를 제작하여 사용하였으며, 그들의 염기서열은 Table 1에 나타내었다.

### Direct sequencing

증폭된 PCR단편은 QIAquick PCR Purification Kits (QIAGEN)나 QIAEX II Gel Extraction Kits (QIAGEN)을 사용하여 정제한 후, Table 1의 적절한 primer와 함께 cycle sequencing을

**Table 1. Primers used for PCR and sequencing of mitochondrial ribosomal RNA region**

Primer name	Position*	Sequence
PRO-L	: L16615	5'-CTACCTCCAACCTCCCAAAGC-3'
12-1L	: L1295	5'-CTTGACTTAGTTAAGGTTAAGAGGG-3'
12SAR-H	: H1488	5'-ATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTT-3'
12SA-L1	: L1510	5'-TCAAACCTGGGATTAGATACCCCACTAT-3'
12SB-H	: H1898	5'-TCACTGCAGAGGCTGACGGGCGGTGTGT-3'
26-1L	: L1862	5'-ACAGAGAGTTCTCTTGAACCTGGCT-3'
26-1H	: H2505	5'-TACCTTAAGGTCTTAAGAAAGCCGG-3'
16-2L	: L2341	5'-TTTAGTTTAGGCCCCCGAAACTA-3'
16-3L	: L2433	5'-CGAGTAGAGGTGATAAACCT-3'
16-3H	: H3093	5'-AAAAGACAAGTGATTGCGCTACC-3'
16SAR-L	: L3011	5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'
16SBR-H	: H3590	5'-CCGGTCTGAACCTCAGATCACGT-3'

\* The letters L and H refer to the light and heavy strands, respectively, and the numbers refer to the positions of the 3' end of the primers in the complete rainbow trout mitochondrial DNA sequence (Zardoya et al., 1995).

행하였다. ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Kits (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, USA)을 사용하여  $96^{\circ}\text{C}$ , 10초;  $50^{\circ}\text{C}$ , 5초;  $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ , 4분간의 반응을 25회 반복하였으며, 얻어진 extension products는 에탄올 침전시킨 후 automated DNA sequencer (ABI PRISM 377)로 전기영동하였다. 증폭된 PCR단편 각각의 염기서열은 forward와 reverse 양방향으로 대조·확인하였다.

### 염기서열분석

Direct sequencing에 의해 얻어진 미토콘드리아 rRNA 유전자 영역의 염기서열은 DNASIS ver. 2.5 program (Hitachi Software Engineering Co., Ltd.)으로 정렬하였으며, PHYLIP ver. 3.5c package (Felsenstein, 1993)를 이용하여 phylogenetic tree를 얻었다. Parsimony 분석에는 DNAPARS program을 사용하였으며, bootstrap은 1000회 반복하였다. Neighbor-Joining bootstrap tree (1000회 반복)는 Kimura의 2 parameter matrix에 준해 NEIGHBOR program을 사용하였다. DNAML program을 통한 Maximum likelihood 분석에서는 global rearrangement option (7회)을 이용하였다. 위의 세가지 분석 모두에서 consensus tree를 얻어 그 topology를 비교하였다. DNA sequence similarity searches는 NCBI (the National Center for Biotechnology Information)의 the BLAST network service를 통해 수행하였다. 본 연구에서 얻어진 염기서열은 모두 NCBI GenBank database에 등록되어있으며 (AF125508~AF125513), 따라서 변이가 나타나지 않은 위치에서의 염기서열은 본문에 게재하지 않았다.

## 결 과

본 연구에서는 미토콘드리아 DNA의 12S rRNA, Valine transfer RNA 및 16S rRNA 등 3개의 유전자 영역에 걸쳐, 최대 2531 bases의 염기서열을 PCR/direct sequencing하여 얻었다 (Fig. 1).





어류에서의 종 동정 및 집단분석에 다양하게 이용되고 있으며, 이러한 분자생물학적 응용기법을 통해 미토콘드리아내의 여러 유전자들이 표지인자로서의 가능성에 대해 연구되고 있는 실정이다 (Bartlett and Davidson, 1991; Carr and Marshall, 1991; McVeigh et al., 1991).

미토콘드리아 ribosomal RNA 영역은 taxa간에 매우 보존적이며 구조적 특징과 연관된 변이 영역도 함께 가지고 있어, PCR/direct sequencing과 같은 분자생물학적 기법을 적용하기에 매우 적합한 표지인자로서 척추동물 및 미생물 등에서 많은 연구가 이루어져 있다 (Hillis et al., 1996). 본 연구에서 조사된 12S rRNA와 tRNA<sup>Val</sup> 영역의 complete sequences와 16S rRNA의 염기서열은, 우리나라 연안에 서식하고 있는 연어류에 대한 최초의 자료로서, 연안어업자원의 "genetic information bank"의 의미에서 그 가치가 매우 높으며, 다른 생물종들의 자료와 함께 mtDNA 염기서열을 이용한 앞으로의 여러 가지 연구에 기초가 될 수 있을 것으로 사료된다.

mtDNA 다형은 대부분의 종내 변이 분석에서 효과적으로 사용되어 왔는데, Salmonids에서 sequencing을 통해서 얻어진 intraspecific sequence variation은 0.25%이며 (Beckenbach, 1991), Atlantic herring (*Clupea harengus*)에서는 4.4%, Pacific herring (*C. pallasii*)에서는 1.8%, American shad (*Alosa sapidissima*)에서 평균 0.37%의 intraspecific mtDNA sequence divergences가 보고되었으며 (Bentzen et al., 1989), Billington과 Hebert (1991)은 어류의 mtDNA diversity에 대한 review에서 anadromous fish의 intraspecific sequence divergence가 0.1~1.8%라고 보고한 바 있다. 또한, mtDNA 진화속도와 양상은 taxa내의 유전자간 변이보다 taxa간에 더 높은 비율을 나타내는데, *Salmo salar*에서의 cytochrome b 유전자의 interspecific variation은 4.8~5.4% (McVeigh et al., 1991)이며, mtDNA의 제한효소분석을 통해 곤들매기속 (*Salvelinus*)과 자치속 (*Hucho*)간에는 6.53~9.01%의 변이가 존재하며, 곤들매기속내 아종간에는 2.7~4.25%의 변이가 존재한다고 보고된 바 있으며 (Grewe et al., 1990), Beckenbach (1991)은 연어아목 어류에 관한 review에서 interspecific sequence divergence가 6.8% (왕연어와 은연어간)에서 16.3% (무지개송어와 곱사연어간) 사이의 범위라고 보고하였으며, McVeigh와 Davison (1991)은 8종의 연어아목의 cytochrome b 유전자 영역의 종간변이율이 4.07~17.29%라고 보고한 바 있다.

본 연구에서 조사된 모든 영역에 걸쳐 나타난 대부분의 유전적 변이는, 열목어와 다른 종들사이를 뚜렷하게 구별해 주고 있다. 이것으로 미루어, 미토콘드리아의 rRNA 유전자는 연어아목에 있어서 속간의 차이를 나타내는 표지인자임은 분명하며, 그 상위분류단계의 유전학적 비교에 있어서도 유용한 유전적 표지인자로 사용되어질 수 있으리라 사료되어진다. 그러나, 종간 변이율이 5% 이하로 매우 낮게 나타나고 있어, mtDNA내 다른 유전자 영역에 비해 ribosomal RNA 영역에서의 염기서열이 매우 보존적이므로, 이 영역에서의 변이만을 기준으로 사용하는에는 많은 오류가 가능성이 있으며, 다른 여러 가지 연구가 병행되어야 할 것으로 사료된다.

연어아목은 수산분야에서의 가장 많은 연구가 이루어진 분류군 중의 하나이나, 지금까지도 진화학적·분류학적으로 해결되지 않은 몇가지 문제를 안고 있다. 그 중 가장 대표적인 것이 시마연어의 계통적 유연관계에 관한 것이다. 연어속은 크게 4가지 group으로 나뉘어질 수 있는데 1) 무지개송어와 cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki*)를 포함하는 Pacific trout group, 2) 은연어와 왕연어의 Pacific salmon group, 3) 곱사연어, 홍연어, 연어로 구성되는 Pacific salmon group, 그리고 4) 시마연어 group이다 (Kitano et al., 1997). Pacific trout는 대부분이 America 서부에서 서식하는 반면, 시마연어를 제외한 Pacific salmon은 북태평양 전역에 분포하며, 시마연어는 한국, 일본을 비롯한 아시아에만 국소적으로 분포하고 있다고 보고되어지고 있다 (Kitano et al., 1997; McKay et al., 1997). 시마연어의 경우, 이러한 분포상의 특징으로 인해 그 계통적 연구에서 아시아쪽의 자료가 매우 중요하나 그 연구실적은 아주 미비한 실정이며, 이들 네 group간의 계통적 유연관계에 관한 기존의 연구들에 있어서도, 자료에 따라 상충되는 결과들이 보고되고 있다. 특히 시마연어의 계통학적 분류에 관해서는, 형태학적인 연구 (Stearley and Smith, 1993) 및 mtDNA의 염기서열분석 (Thomas and Beckenbach, 1989; Kitano et al., 1997), mtDNA의 RFLPs (restriction fragment length polymorphisms) 분석 (Thomas et al., 1986) 및 핵 DNA 염기서열분석 (Murata et al., 1996; Domanico and Phillips, 1997)에서는 Pacific salmon에 더 근연이라고 밝히고 있으나, 동위효소분석 (Utter et al., 1973), ribosomal DNA RFLPs 분석 (Phillips et al., 1992) 및 growth hormone 2의 D intron (GH2D) 염기서열분석 (McKay et al., 1997)에서는 Pacific trout에 더 가깝다고 보고된 바 있다.

이와같은 보고들과의 비교분석을 위하여 본 연구에서 얻어진 미토콘드리아 ribosomal RNA 염기서열자료로부터, phylogenetic tree를 구성해서 이들 종간의 진화적인 유연관계를 살펴본 결과, PHYLIP program에서 얻어진 모든 계통도에서 일관되게 시마연어가 무지개송어보다는 Pacific salmon에 속하는 연어와 더 근연임을 나타내었으며, 이들의 topology는 Figure 3에서 Neighbor

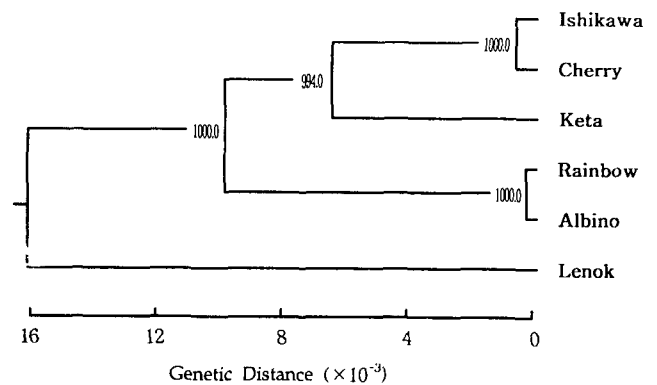


Fig. 3. Consensus tree constructed by mitochondrial ribosomal RNA genes sequences. The numbers at the forks indicate the number of times the group consisting of the species which are to the right of that fork occurred among the trees, out of 1000 trees.

Joining 분석에서의 consensus tree를 사용하여 나타내었다. 한편, Stearly와 Smith (1993)는 열목어가 형태적으로도 가장 원시적인 종이며 기존의 분류단계에 있어서도 유연이 가장 먼 종임을 보고한 바 있으며, 본 연구 결과에서도 이와같은 사실을 재확인할 수 있었다.

## 요 약

열목어를 비롯한 산천어, 시마연어, 연어, 무지개송어 등 우리나라 연어아과 어류의 집단구조분석을 위한 기초자료를 얻기 위하여, 미토콘드리아 ribosomal RNA 유전자 영역의 염기서열변이를 비교·분석하였다. 미토콘드리아 DNA의 12S rRNA (945 bases, 열목어의 경우 946 bases), Valine transfer RNA (72 bases), 및 16S rRNA (1513 bases) 등 3개의 유전자 영역에 걸쳐, 최대 2531 bases의 염기서열을 PCR/direct sequencing하여 얻었는데, 모든 염기변이중 전이가 월등히 우세하게 나타났으며, 종내·종간변이율은 모두 0.5%이하로 낮게 나타나, 다른 영역에 비해 rRNA 유전자 영역에서의 염기서열이 매우 보존적임을 보여주었다. 또한, 미토콘드리아 rRNA 유전자 염기서열은 연어류의 속 (genus) 단계 이상에서 집단분류표지인자로 유용하게 쓰일 수 있으리라 사료되어진다.

미토콘드리아 rRNA 염기서열자료를 기초로 구성된 phylogenetic tree를 통해 이들 종간의 진화적인 유연관계를 살펴본 결과, 시마연어가 무지개송어보다는 연어와 더 근연인 것으로 나타났으며, 열목어는 가장 유연이 먼 종임을 확인할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Bartlett, S.E. and W.S. Davidson. 1991. Identification of *Thunnus* tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of mitochondrial cytochrome *b* genes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48, 309~317.
- Beckenbach, A.T. 1991. Rapid mtDNA sequence analysis of fish populations using polymerase chain reaction (PCR). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48 (Suppl. 1), 95~98.
- Bentzen, P., G.C. Brown and W.C. Leggett. 1989. Mitochondrial DNA polymorphism, population structure and life history variation in American shad (*Alosa sapidissima*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46, 1446~1454.
- Berg, W.J. and S.D. Ferris. 1984. Restriction endonucleases analysis of salmonid mitochondrial DNA. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 1041~1047.
- Billington, N. and P.D.N. Hebert. 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implication for introductions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48 (Suppl. 1), 80~94.
- 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.
- Carr, S.M. and H.D. Marshall. 1991. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome *b* gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48, 48~52.
- 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.
- Domanico, M.J., R.B. Phillips and T.H. Oakley. 1997. Phylogenetic analysis of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) using nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54, 1865~1872.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (*Phylogeny Inference Package*), version 3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Grewe, P.M., N. Billington and P.D.N. Hebert. 1990. Phylogenetic relationship among members of *Salvelinus* inferred from mitochondrial DNA divergence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47, 984~991.
- Hillis, D.M., C. Moritz and B.K. Mable (Eds.). 1996. *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Inc. pp. 205~247.
- Hong, K.P., J.G. Myoung, J.K. Son and C.W. Park. 1994. A biochemical study for the development of genetic marker on salmonids in Korea. *J. Korean Fish. Soc.*, 27, 83~88 (in Korean).
- Hwang, G.L., Y.C. Lee, C.S. Chang and H.K. Hue. 1994. Mitochondrial DNA analysis of the small yellow croaker (*Pseudosciaena polyactis* Bleeker) in the Yellow Sea. *J. Korean Fish. Soc.*, 27, 613~619 (in Korean).
- Hwang, G.L. 1996. Stock characterization of the fleshy prawn (*Penaeus chinensis*) in the Yellow Sea by intraspecific sequence variation of the cytochrome *c* oxidase subunit I gene. *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 876~881.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). *Nomenclature for Incompletely Specified Bases in Nucleic Acid Sequences*, Recommendations 1984.
- Kitano, T., N. Matsuoka and N. Saitou. 1997. Phylogenetic relationship of the genus *Oncorhynchus* species inferred from nuclear and mitochondrial markers. *Genes Genet. Syst.*, 72, 25~34.
- McKay, S.J., M.J. Smith and R.H. Devlin. 1997. Polymerase chain reaction-based species identification of salmon and coastal trout in British Columbia. *Mol. Mar. Biol. & Biotech.*, 6, 131~140.
- McVeigh, H.P. and W.S. Davidson. 1991. A salmonid phylogeny inferred from mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. *J. Fish Biol.*, 39 (Suppl. A), 277~282.
- McVeigh, H.P., S.E. Bartlett and W.S. Davidson. 1991. Polymerase chain reaction/direct sequence analysis of the cytochrome *b* gene in *Salmo salar*. *Aquaculture*, 95, 225~233.
- Murata, S, N. Takasaki, M. Saitoh, H. Tachida and N. Okada.

1996. Details of retropositional genome dynamics that provide a rationale for a generic division: The distinct branching of all the Pacific salmon and trout (*Oncorhynchus*) from the Atlantic salmon and trout (*Salmo*). *Genetics*, 142, 915~926.
- Myoung, J.G. and Y.U. Kim. 1996. Morphological study of *Oncorhynchus* spp. in Korea—V. Comparison of skeletal characters of chum salmon *O. keta*, masu salmon *O. masou* and rainbow trout *O. mykiss*. *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 208~229 (in Korean).
- Nam, Y.K., S.D. Chu, C.H. Jeong, C.H. Noh, J.Y. Jo and D.S. Kim. 1997. Genetic stock identification of common carp (*Cyprinus carpio*) by detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial 12S rRNA gene. *J. Aquaculture*, 10, 403~407.
- Park, I.S., C.H. Kim, G.C. Choi and D.S. Kim. 1997. Production of hybrid and allotriploid between rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* and cherry salmon, *O. masou* I. Cytogenetic study. *J. Aquaculture*, 10, 39~47 (in Korean).
- Phillips, R.B., K.A. Pleyte and M.R. Brown. 1992. Salmonid phylogeny inferred from ribosomal DNA restriction maps. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49, 2345~2353.
- Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.L. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K.B. Mullis and H. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487~491.
- Sambrook, E., F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Stearley, R.F. and G.R. Smith. 1993. Phylogeny of the Pacific trouts and salmon (*Oncorhynchus*) and genera of the family Salmonidae. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 122, 1~33.
- Thomas, W.K. and A.T. Beckenbach. 1989. Variation in salmonid mitochondrial DNA: Evolutionary constraints and mechanisms of substitution. *J. Mol. Evol.*, 29, 233~245.
- Thomas, W.K., R.F. Withler and A.T. Beckenbach. 1986. Mitochondrial DNA analysis of Pacific salmonid evolution. *Can. J. Zool.*, 64, 1058~1064.
- Utter, F.M., F.W. Allendorf and H.O. Hodgins. 1973. Genetic variability and relationships in Pacific salmon and related trout based on protein variations. *Syst. Zool.*, 22, 257~270.
- Zardoya, R., A. Garrido-Pertierra and J.M. Bautista. 1995. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Mol. Evol.*, 41, 942~951.

---

1999년 7월 21일 접수

2000년 3월 4일 수리