

한국산 어류 미토콘드리아 DNA의 분자계통학적 이용 및 보존

김영자 · 김일찬¹ · 이세영² · 이완옥³ · 조용철³ · 이재성*

(한양대학교 대학원 환경과학과, ¹한양대학교 의과대학 생화학교실,
²한국민물고기과학관, ³국립수산과학원 청평내수면연구소)

The Use and Conservation in Molecular Phylogeny of Fish Mitochondrial DNAs in Korean Waters. Kim, Young Ja, Il-Chan Kim¹, Se Young Lee², Wan-Ok Lee³, Yong-Chul Cho³ and Jae-Seong Lee* (Department of Environmental Science, Graduate School, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea; ¹Department of Biochemistry, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea; ²Korean Freshwater Fishes Science Museum, Hampyeong 525-811, Korea; ³Chungpyong Inland Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Chungpyong 477-810, Korea)

Phylogenetic studies would clarify the diversity of fishes if the morphological analysis based on plesimorphy characters combined with new genetic analysis on molecular level, inferring more accurate and objective phylogeny and the taxonomy. Current molecular phylogenetic approach using mitochondrial genome provides the framework for a new hypothesis not only inferring the relationships between ancestor descendants but unraveling the intra-, interspecies variation.

Key words : molecular phylogeny, mitochondrial DNA, Korean fish

서 론

지구가 생성된 지 45억년에 가까운 세월동안 생성되고 소멸하는 진화의 역사를 거치면서 오늘에 이른 생물들 중, 어류는 현재 전세계의 해수, 기수, 담수의 모든 구역에 서식하고 있다. 전세계 어류는 현생하는 척추동물의 반수를 약간 초과하는 24,618종(57목, 482과, 4,258속)으로 추정된다(Nelson, 1994). 전 세계에 지금까지 알려진 482과 어류 가운데, 400종을 포함하는 8개과의 어류는 총 종수의 33%를 차지하며, 종수가 많은 순서대로 보면 Cyprinidae(잉어과), Gobiidae(망둑어과), Cichlidae(씨크리과), Characidae(카라신과), Loricariidae(로리카리과), Labridae(놀래기과), Balitoridae(종개과), Serrani-

dae(농어과)인데, 흥미롭게도 이들 8개과 중 66%가 담수어이다(Nelson, 1994). 모든 척추동물 중에서 가장 풍부한 종을 갖고 있는 진골아강(Teleostei)에는 23,000여 종(38목, 426과, 4064속)이 포함되어 있고, 이는 모든 현생종의 96%를 차지하는 수에 해당되며(Nelson, 1994), 약 2억 2천만~2억년전 삼첩기(Triassic period) 중후반기에 집중적으로 발생한 것으로 보고 되어 있다(Nelson, 1994; Inoue *et al.*, 2001a). 이 진골아강은 지난 5천만년 동안 극도로 번성하여 유영 능력이 향상되고 섭식 및 아가미 운동의 효과적인 발달과 정형의 꼬리지느러미를 갖게되어 현재 지구상의 담수와 해수의 양 수역에서 진화의 절정을 이루면서(김, 1997) 다양한 종들로 분화하여, 이로 인해 매년 이를 중심으로 한 신종 보고가 늘어가고 있다.

* Corresponding author: Tel: 02) 2290-0769, Fax: 02) 2294-6270, E-mail: jslee2@hanyang.ac.kr

한편, 한반도에 서식하는 해수, 담수어는 약 961여종(41목, 203과, 584속)이며, 그 가운데 담수어류는 196종으로 기재되어있다(김, 1997). 현재 우리나라의 각 하천에 분포하고 있는 담수어류는 신생대 제3기 상신세(약 6,500만년~200만년 전)에 이미 분포하고 있었던 어류와 신생대 제4기(약 200만년 전~현재)에 몇 차례의 빙하기를 거치는 동안 형성된 고황화(Paleo-Hwang Ho) 및 고아무르강(Paleo-Amur River)을 통해 우리나라 각 하천으로 유입된 어류들이 우리나라 담수환경의 특수조건에 적응하는 과정에서 나타났고(Jeon, 1983; 손, 1995; 김, 1997), 현재 한반도에 서식하는 고유종 및 아종은 약 50여종으로 기재되어 있다(김, 1997). 그러나 우리나라는 크고 작은 산맥과 섬들이 많이 분포하고 있어서 이러한 지형적 특성이 결국 종분화를 일으키는데 중요한 역할을 한 것으로 알려져있다. 또한 어류가 출현하는 지역의 과거와 현재에 관련된 여러 가지 지질적, 생태적 조건 등의 상호작용에 의하여 제한된 분포범위를 갖지만 중간에 넓게 중복된 범위를 갖고, 수환경 내·외에서도 생존이 가능한 종들도 많기 때문에 어류의 형태, 크기, 내부기관과 구조적 특징은 중간 또는 종내에서 매우 다양한 변이를 나타내고 있다. 이러한 다양한 어류들의 종간, 종내 변이파악 및 종분화 과정을 이해하기 위해서는 우선 과학적인 종분류가 선행되어야 하고, 나아가 종분화 요인을 연구하여 종간 질서를 찾고 계통을 세운다면 생물계를 보다 더 올바르게 이해할 수 있을 것이며, 이와 같이 과학적인 조사가 진행된다면 현재의 종수는 앞으로 더 증가할 것으로 예상된다.

특히 우리나라는 지역적인 특성상, 크고 작은 산맥으로 인해 짧고 좁은 하천들이 많이 형성되어 있고, 또한 많은 섬들내 복잡하게 형성된 독립 소하천들은 각기 독특한 특성들을 갖추고 있기때문에 이러한 조건에서 서식하는 어류들에 대한 분류학적 연구는 어류의 종다양성 및 유전적 다양성, 주변국에 서식하는 생물과의 계통유연관계 및 진화요인, 생물지리학적 분포, 섬과 하천의 생성과 관련된 지사학적(地史學的)사건, 서식지의 생태적 특성, 자연도 판정의 지표생물들을 규명하며, 수산자원으로서의 보존방안 등을 파악하고 논의하는데 귀중한 기초자료가 될것이다. 그러나 무분별한 개발과 환경오염이 해마다 가중되고 있고, 어류의 조사 및 채집대상 지역이 훼손되어서 그로 인해 국내 토착어종 및 고유어종의 멸종을 야기시키는 위험한 수준까지 도달하게 되었다. 자연환경보전법에 의하면 멸종위기종은 자연적 또는 인위적 위협요인으로 인한 주된 서식지, 도래지의 감소 및 서식환경의 악화 등에 따라 개체수가 현저하게 감소

되고 있어 현재의 위협요인이 제거되거나 완화되지 아니할 경우 멸종위기에 처할 우려가 있는 종을 말하며(자연환경보전법 제2조 제6호), 현재 우리나라 담수어류 중 멸종위기종에는 감돌고기, 통사리, 꼬치동자개, 미호종개, 흰수마자 등 총 5종이 보고되어 있다. 한편, 보호대상종은 학술적가치가 높은 동식물, 국제적으로 보호가치가 높은 야생동식물, 우리나라의 고유한 야생동식물 또는 개체수가 감소되고있는 야생동식물을 말하며(자연환경보전법 제2조 제7호), 보고되어 있는 담수어류는 꺾저기, 모래주사, 두우쟁이, 부안종개, 좁수수치, 다목장어, 목납자루 등 총 7종이 보고되어있다. 하지만 아직 밝혀지지 않은 종들이 많이 남아있는 상황에서 생태적 교란으로 소멸해가는 종들이 보고되고 있기때문에, 우리나라에 분포하고 있는 어류의 고유종 및 토착종을 파악하고, 종간질서를 찾아서 계통분류체계를 확립하는 연구는 종다양성 및 어족자원의 확보라는 의미에서 매우 시급한 과제가 아닐 수 없다. 본 연구는 우리나라 어류의 종다양성 규명을 위한 일환으로, 현재 국외에서 매우 활발하게 진행중인 미토콘드리아 DNA를 이용한 새로운 분자계통분류학적 연구현황 및 이용전망에 대해 고찰해보고자 한다.

어류 계통분류학적 연구 현황

다른 생물과 마찬가지로 어류의 분류는 계통분류의 입장에서 행하여진다(Jeon, 1983). 기존의 계통분류는 비교해부학적 및 비교발생학적 방법에 의해 특징적인 기준형질을 가지고 상위분류군간의 분류범주를 정하여 왔으나, 상위분류군들은 분류군을 구성하는 많은 구성원들이 나타내고 있는 형질의 집합체로서, 다양한 형질에 의해서 다루어져야 하기 때문에 상위분류군을 대상으로 계통분류를 하는데 있어서 종종 논란이 발생하는 경우도 있다(Inoue *et al.*, 2001a, 2002; Miya *et al.*, 2003). 최근에는 원시형질(plesiomorphy)과 엄격한 상동성(homology)에 입각한 공유파생형질(synapomorphy) 모두를 고려하여 종간의 파생적 유사성을 검토하고, 조상과 자손과의 관계를 구체적으로 추정하는 분지분류학(Cladistics)의 등장과 계통 분석프로그램의 보급에 따라, 어류의 계통분류를 위한 연구에 많은 기여를 하고 있다.

모든 척추동물 중 가장 다양하게 분화된 조기류(Actinopterygii)는 철갑상어아강(Chondrostei), 전골아강(Holostei), 진골아강(Teleostei)을 포함하고 있고, 총 23,680종이 보고 되어 있으며(Nelson, 1994), 이같은 많은 종

들은 형태뿐만 아니라 생태나 생리적 특징에서도 많은 변이를 보이고 있다 (Helfman *et al.*, 1997). 특히 조기류 중 진골아강은 30년동안 27개의 공유파생형질에 의해 단계통군 (monophyletic group)임이 인정되어 왔지만 (Inoue *et al.*, 2002), 역시 진화의 과정동안 엄청나게 분화되어 현존하는 종들의 다양성과 그들의 오래된 기원들은 현재 계통분류를 하는데 있어서 많은 논란을 야기시킨바 있고 (Inoue *et al.*, 2001a, 2002; Miya *et al.*, 2003), 이러한 사실은 Nelson (1976, 1984, 1994)의 “Fishes of the World”의 1~3판까지 계속 수정된 분류체계에서 입증되고 있다. 이와 같은 분류학의 혼란은 공통조상에서는 없는 독특한 형질 및 구조를 나타내는 종에 해당되는 평행진화 (Parallel evolution)나 계통발생적 기원이 다르지만 오랜기간동안 격리된 비슷한 환경에서 서식하면서 구조나 형질이 유사해진 종들에 해당되는 수렴진화 (Convergent evolution)의 경우 및 근연종간이나 자매종간에 잡종이 발생했을 경우 등에서는 이와같은 개체 인식에 많은 어려움이 존재한다. 그렇기 때문에 기존의 형태, 생태학적 특징에 분자형질이 가미되어 분류의 한계를 극복할수 있는 여러 가지 방법들이 종합적으로 연구되었다. 예컨대, 전기영동을 이용한 동위효소의 분석, 염색체 분석을 통한 세포유전학적 연구, DNA 분석 및 기타 생화학적 방법에 의한 분자수준에서의 연구방법이 수행 (Avice and Lansman, 1983; Yang and Park, 1988; Park, 1990; Min, 1991; Kim, 1995; Toshio and Jeon, 1996)되어 왔고, 특히, 동위효소 및 단백질 분석은 종 분류가 애매하던 다양한 분류군에서 유사종 및 자매종간의 근연관계, 속간 유전적 차이 등을 밝히면서 계통진화 연구에 용이하게 적용 (Avice, 1974; Wayne and Obrien, 1987; Rholf and Wooten, 1988; Dowling and Rown, 1989; Min, 1991; Shim, 1994)되는 등 점차 분자유전학 및 생화학적 접근이 활발히 이루어져 왔다. 또한 종분류에 있어 mitochondrial DNA 및 nuclear 유전자의 구조적인 기능뿐만 아니라, 기능적인 특성까지 연구의 필요성이 부각되기 시작하였는데 (Tian *et al.*, 1991; Ma *et al.*, 1993) 이와같은 여러 가지 분류방법은 기존에 합일되지 못한 가설들을 재검토할 수 있는 기회를 제공하고, 동시에 분자형질이 갖는 단점을 보완할 수 있는 새로운 형태, 생태, 지리학적 가설이 제시되어 어류계통분류학적 연구에 상호 보완하는 연구발표가 계속되어 오고있다.

특히, 객관성과 정확성을 높이기 위해 새로이 도입된 유전적인 분석방법 중 하나인 미토콘드리아 DNA를 통한 분류 방법은 그 효율성이 크게 부각되면서 mitochondrial DNA의 제한효소 인식부위에 대한 유전적 변

이 연구가 종분류의 집단유전학적 또는 계통유전학적 접근에 많이 쓰이고 있다. 그러나 현존하는 어류들은 형태, 행동, 생태, 생리적인 특징 등에서 종내 또는 종간에 폭넓은 변이를 보이고 있기 때문에 제한효소에 의한 짧은 인식부위만으로는 그 차이를 밝혀내기가 힘들다 (Miya *et al.*, 2003). 따라서 좀 더 긴 DNA 염기서열분석이 요구되고 있고 (Inoue, 2001a), 최근에는 어류를 대상으로 전체 미토콘드리아 DNA 염기서열을 분석하여 종내, 종간 변이, 종분화 및 계통분류학적 연구에 적용되어 활발한 계통분류학적 연구가 진행되고 있다.

외국의 경우, 어류 mitochondrial DNA 전체염기서열에 관한 연구는 Tzeng *et al.* (1992)이 freshwater loach (*Crossostoma lacustre*; Genbank M91245)를 이용해 최초로 보고한 이래, Atlantic cod *Gadus morhua* (Johansen and Bakke, 1996), Atlantic salmon *Salmo salar* (Hurst *et al.*, 1999), ayu *Plecoglossus altivelis* (Ishiguro *et al.*, 2001), bichir fish *Polypterus ornatipinnis* (Noack *et al.*, 1996), coelacanth *Latimeria chalumnae* (Zardoya and Meyer, 1997), common carp *Cyprinus carpio* (Chang *et al.*, 1994), deep sea teleost fish *Gonostoma gracile* (Miya and Nishida, 1999), goldfish *Carassius auratus langsdorfi* (Murakami *et al.*, 1998), Japanese eel *Anguilla japonica* (Inoue *et al.*, 2001b), Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Saitoh *et al.*, 2000), Japanese sardine *Sardinops melanostictus* (Inoue *et al.*, 2000), lungfish *Polymixia japonica* (Miya and Nishida 2000), rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Zardoya and Meyer, 1996), sea lamprey *Petromyzon marinus* (Lee and Kocher, 1995), shark *Mustelus manazo* (Cao *et al.*, 1998), spiny dogfish cartilaginous fishes (Rasmussen and Arnason, 1999a), thorny skate cartilaginous fishes (Rasmussen and Arnason, 1999b), zebrafish *Danio rerio* (Milam *et al.*, 2001) 등 총 20종에서 보고된 바 있고, 최근 일본에서는 Miya group을 중심으로 진골아강 (Teleostei)에 속하는 8목 (order) 100여종을 대상으로 전체 mitochondrial DNA의 염기서열을 분석하여 상위분류군간에 계통발생학적인 주 패턴 (major pattern)을 밝힌 바 있고 (Fig. 1; Miya *et al.*, 2003), 이와같은 어류 mitochondrial genome project가 다른 어종까지 넓혀 활발히 진행되고 있다.

한편, 국내에서 어류 미토콘드리아 DNA 염기서열 분석을 통한 계통분류 및 동정에 관한 보고는 연어과 어류의 미토콘드리아 DNA내의 control region과 cytochrome b 등의 부분적인 DNA 분석 (Lee *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2000)과 Lee *et al.* (2001)의 암수동체 점박이송사

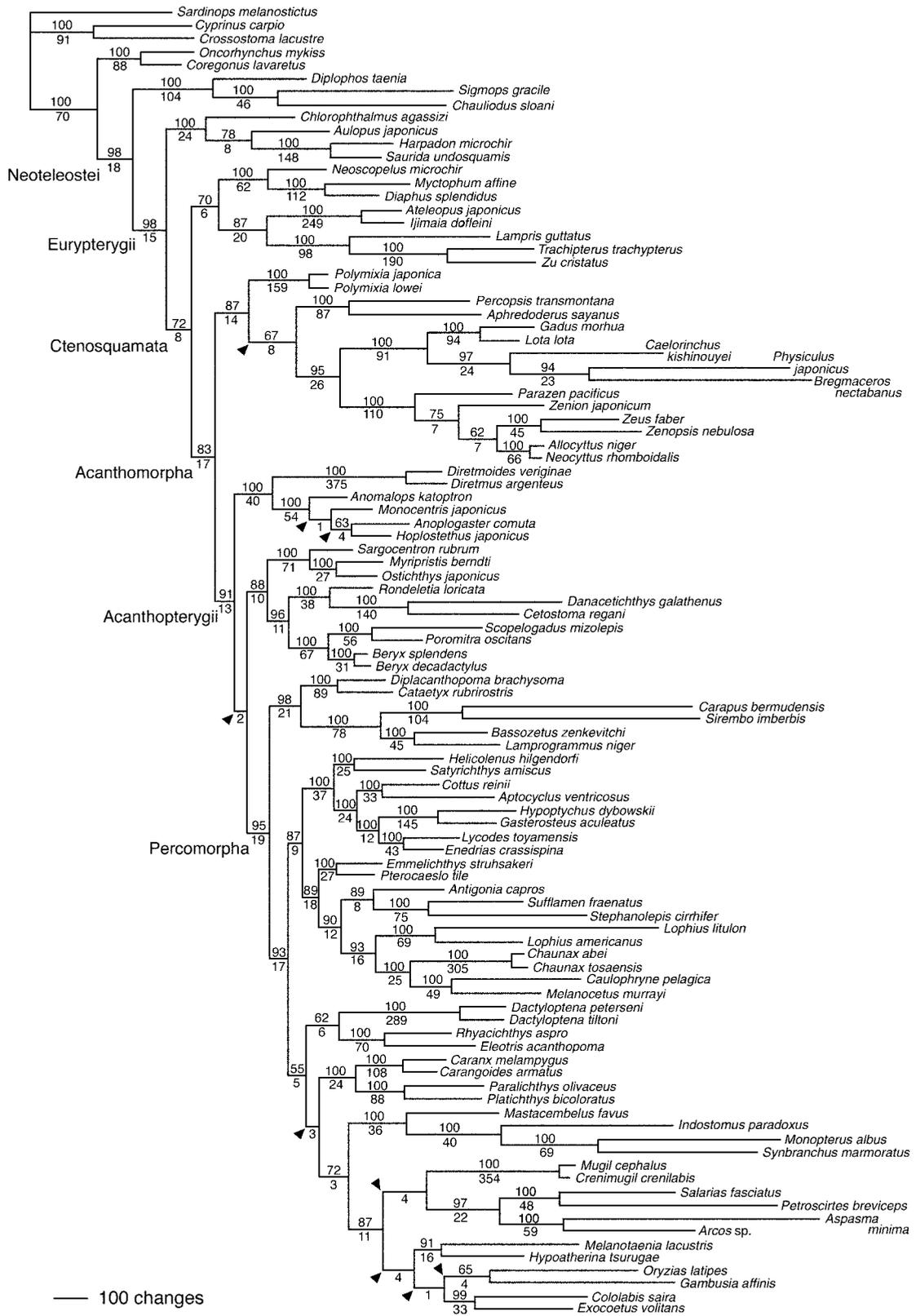


Fig. 1. The single most parsimonious (MP) tree derived from unweighted analysis of mitogenomic data (adopted from Miya et al., 2003).

리 (*Rivulus marmoratus*)의 전체 미토콘드리아 DNA의 염기서열 분석 등이며, Nam *et al.* (1997)의 미토콘드리아 12S rRNA 유전자 변이조사를 통한 잉어 (*Cyprinus carpio*)의 유전학적 동정 등의 소수종에 한정되어 있어서 외국의 경우와 비교한다면 연구가 매우 미흡한 실정이다.

미토콘드리아 DNA의 유용성

분류를 위한 표본의 채집은 현장에 직접 투입되어 객관적인 결과를 도출하기 위하여 가능한 많은 수의 개체수를 확보해야 하기 때문에 그만큼 많은 시간과 인내를 요하는 어려운 분야이지만 중분류를 위해서는 기본적으로 이루어져야 할 과정이다. 하지만 무분별한 개발과 환경오염으로 조사 및 채집대상지역이 훼손되어 더 이상 종의 출현을 볼 수 없게 되는 경우도 발생하고 있고, 그로 인해 분류를 위해 선행되어야 할 채집 및 어류상 조사 자체가 어렵게 되어 종 다양성이라는 개념에서 매우 위태로운 상황까지 오게 되었다. 이러한 악조건 속에서, 계통적으로 근연관계에 있으면서 형태적, 생태적으로 매우 유사하여 아직 분류학적으로 미기록된 종들이 산재되어 있기 때문에 이러한 종들의 분류 및 계통간 유연관계를 밝히기 위한 연구는 외부 형질 및 생태적인 특징과 더불어 최근 널리 이용되고있는 분자생물학적 방법이 도입되어 다각적인 시각에서 객관적이고 정확한 중분류가 시급히 이루어져야만 한다.

그동안 여러학자들이 다양한 접근방법을 통해 분류 및 계통을 추적하는데 모든 학설을 고찰 및 재정립해 왔다. 즉, 공통된 형질이 공동조상에서 유래한 것으로 가정하고, 어류 상호간에 계통적으로 유연관계가 가까운 종들을 구분하여 진화적인 계통을 추정해가는 자연분류 (박 등, 1995)는 형태나 구조적인 특징 뿐만 아니라 생리, 유전적인 특징까지 도입되어 보다 객관적으로 분류하려는 시도를 하고 있고, 그 중 세포질 유전물질인 미토콘드리아의 DNA와 RNA를 이용하여 진화경향을 연구하고 계통을 추적하는 방법이 널리 이용되고 있다. 특히 미토콘드리아 DNA는 종내·종간 유연관계에 대한 정보를 얻는데 있어 단백질 분석보다 그 효율성이 매우 큰 것으로 알려져 있는데 (Upholt and Dawid, 1977; Brown, 1980; Park, 1990), 그 특징으로는 첫째, 미토콘드리아는 자체의 유전자 서열을 갖고 있기 때문에 분석이 용이하고, 핵 유전자에 비해 환경변화에 따라 빠른 속도로 변화하기 때문에 염기서열에 있어서 차이가 다양하게 나

타난다 (Park, 1990). 둘째, 모계유전을 하므로 유전자 재조합 (gene recombination)이 일어나지 않아 종내·종간의 일련의 점진적인 변화를 관찰할 수 있다 (Zhu *et al.*, 1994; Kim, 1995). 셋째, mitochondrial DNA변이양상은 genome 크기에 크게 영향을 미치지 않는 점돌연변이로, 생물군간의 염기치환, 첨가, 결실로 나누어 첨가가 결실보다 2~3배 많이 일어난다 (Kim, 1995; Curole and Kocher, 1999). 넷째, 미토콘드리아 DNA의 크기는 척추동물에서의 경우 그 크기가 약 16~17 kb 정도 (Lee *et al.*, 2001)로 핵 DNA 보다 작고 덜 복잡해서 시간과 노력이 절약된다. 미토콘드리아는 그 DNA 크기 및 DNA서열에 있어서의 변이는 *Lepomis*속 어류 (Avisé *et al.*, 1984)와 노랑초파리 (Hale and Singh, 1986) 등에서 2가지 이상의 mitochondrial DNA 형태가 동일 개체내에 존재하는 이질현상 (heteroplasmy)이 보고 되었을 뿐, 개체내 변이는 거의 관찰되지 않는 것으로 알려져 (Park, 1990), 인간, 고등진핵생물, 무미류, 조류, 어류 등 다양한 분류군을 대상으로 하여 (Chapman *et al.*, 1982; Park, 1990; Kim, 1993; Lee *et al.*, 1999; Kosuch *et al.*, 2001; Inoue *et al.*, 2001a,b; Liang and Godley, 2003; Obermiller and Pfeiler, 2003; Takeyama *et al.*, 2001), nucleotide sequencing과 제한효소를 이용한 RFLP 분석에 의한 연구가 수행되어 왔다 (Bentzen and Brown, 1988; Park and Lee, 1991; Suk, 1995; Masaru *et al.*, 1997). 특히, 분류군의 계통유전학적 연구자료로 많이 이용되고 있는 유전자는 전자전달계에 관여하는 cytochrome b 유전자로서 (Avisé, 1994; Hillis *et al.*, 1994), 어류 (Rocha-Olivares *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2000; Apostolidis *et al.*, 2001; Moller and Gravlund, 2003), 조류 (Edwards and Wilson, 1990; Randi *et al.*, 2001), 포유류 (Ma *et al.*, 1993)의 여러 분류군에서 계통간 유연관계가 확인되었고 (Kondo *et al.*, 1990; Zouros *et al.*, 1992), 유전자배열과 크기에 따라 계통유전학적 다양성이 발견되었으며 (Jacobs *et al.*, 1989; Desjardins and Morais, 1990; Jin, 1997) 이러한 염기서열의 차이에 따라 종내·종간 유전적 근연정도를 밝힘으로써 종의 분화과정을 유추하고 있다.

어류 미토콘드리아 DNA의 이용 및 전망

앞서 기술한 바와 같이, 한 분류군의 분류체계는 그 분류군에 포함되는 종들이 더 많이 발견됨에 따라 그들이 나타내는 형태적 형질 또한 다양해지므로 이러한 다양한 형태적 형질에 분자유전학적 형질들을 보충하여 종합적이고 객관적인 종분화 및 계통학적 연구가 이루어

어진다면, 결과를 도출하는데 소요되는 많은 시간을 절약할 수 있을 뿐만 아니라 높은 정확성을 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 유영력이 매우 미약한 자치어의 동정의 어려움은 초기생태 연구의 어려움과 직결된다. 따라서 동정 및 분류가 어려운 자치어의 경우, mitochondrial DNA 분석과 같은 효과적인 방법으로 얻은 자료들은 연안어류의 자원관리차원에서, 어류의 장기변동 파악, 어류의 분포 및 자원량 변동에 관한 연구(Cha, 2002)로 발전하는데 토대가 될 수 있고, 아울러 성장단계별 형태변이조사 자료와의 비교연구가 가능할 것이다. 미토콘드리아 DNA를 이용하여 염기서열에 의한 유전적 상동성과 형태적 상동형질을 비교하면서 공동조상을 유추할 수도 있고, 몇가지 모델 동물의 완전한 유전체 정보가 알려지면 각 동물군에 특이한 유전자군의 팽창과 축소에 관한 정보를 수집함으로써 진화에 의한 유전체 분화메커니즘에 대한 많은 지식을 가질 수 있기 때문에 (Kim and Kim, 2001), 미토콘드리아 DNA의 염기서열을 밝히고, 이어서 유전자의 기능까지 알아낸다면 어떤 유전자 변화가 발생 조절 및 형태변화에 관련된 것인지 결정하는 연구가 가능할 수도 있을 것이다. 이와 같이 미토콘드리아 DNA를 이용한 분자계통분류학적 연구는 어류의 조상과 자손과의 관계를 유추하는데 새로운 가설을 세울 수 있는 뼈대와 비교발생학, 비교유전체학 정보가 해석 될 수 있는 토대를 제공 (Kim and Kim, 2001) 한다. 아울러 수산자원의 관리와 활용의 기본단위가 개체군 (Lee, 2000)이라는 점을 고려한다면, 어류 자원량의 변동 및 개체군의 정확한 규명을 위하여 분자형질을 이용한 객관적인 동정 및 분류작업은 매우 중요한 과제라고 할 수 있겠다.

적용 1. 한국산 담수어류 68종의 PCR 증폭 확인 및 응용

우리나라는 크고 작은 산맥과 섬들이 많이 분포하고 있어서 이러한 지형적 특성이 결국 종 분화를 일으키는 데 중요한 역할을 한 것으로 생각되며, 우리나라 담수 환경의 특수조건에 적응하는 과정에서 비교적 많은 고유종이 나타날 수 있었고 (Jeon, 1983; 손, 1995; 김, 1997), 현재 한반도에 서식하는 고유종 및 아종은 약 50 여종으로 보고 되어 있으나 (김, 1997) 좀 더 꾸준한 과학적 종분류 및 종분화 연구가 여러 가지 분석방법을 통하여 종합적으로 연구가 된다면 현재의 종수는 더 증가할 것으로 예상된다. 따라서 본 연구실에서는 국내산 어류의 분류 및 계통간 유연관계를 연구하기 위해서 현

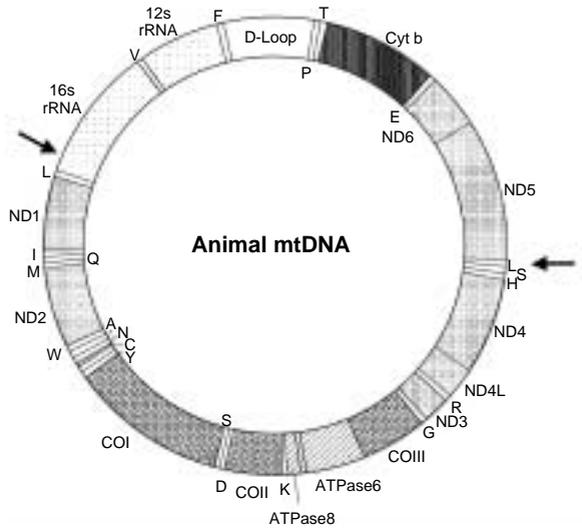


Fig. 2. A schematic mitochondrial DNA. Arrows indicate the primer binding sites.

재 확보된 국내산 담수어류 68종으로부터 tRNA-Leu과 16S rRNA의 부위 (upper band: L-12321-Leu, 5'-GGT CTT AGG AAC CAA AAA CTC TTG GTG CAA-3'과 S-LA-16S-H, 5'-TGC ACC ATT AGG ATG TCC TGA TCC AAC ATC-3', down band: H-12321-Leu, 5'-TTG CAC CAA GAG TTT TTG GTT CCT AAG ACC-3'과 S-LA-16S-L, 5'-GAT GTT GGA TCA GGA CAT CCC AAT GGT GCA-3')를 이용하여 annealing (98도, 25초) 및 extension (68도, 18분)을 예상외로 짧고 길게하는 long-polymerase chain reaction (long-PCR)을 통해 전체 mitochondrial DNA를 효과적으로 증폭하였다 (Figs. 2, 3).

이 long-PCR 방법을 토대로 쉽고 빠르게 우리나라 담수 및 해산어류 mitochondrial DNA를 증폭할 수 있고, 아울러 어류의 계통간 유연관계를 밝히는데 중요한 도구로 쓰일 것으로 사료된다. 예컨대, 동사리의 경우 (Table 1, 16번) Fig. 2를 통해 우리는 동사리 mitochondrial DNA의 genome내에 다른 어류들과는 달리 upper 및 down band에서 long-PCR에 의해 증폭된 band의 크기가 차이를 볼 수 있다. 이는 곧 동사리 mitochondrial DNA의 genome내의 유전자 구조가 다른 어종과 달리 재배열되어 있을 수 있음을 보여준다. 현재, 어류의 mitochondrial DNA에서 특이한 재배열 구조를 보여주는 것은 암수동체 어류인 점박이송사리 mitochondrial DNA에서 control region의 duplication이 극명한 예가 있고 (Lee et al., 2001), Miya and Nishida (1999) 등이 심

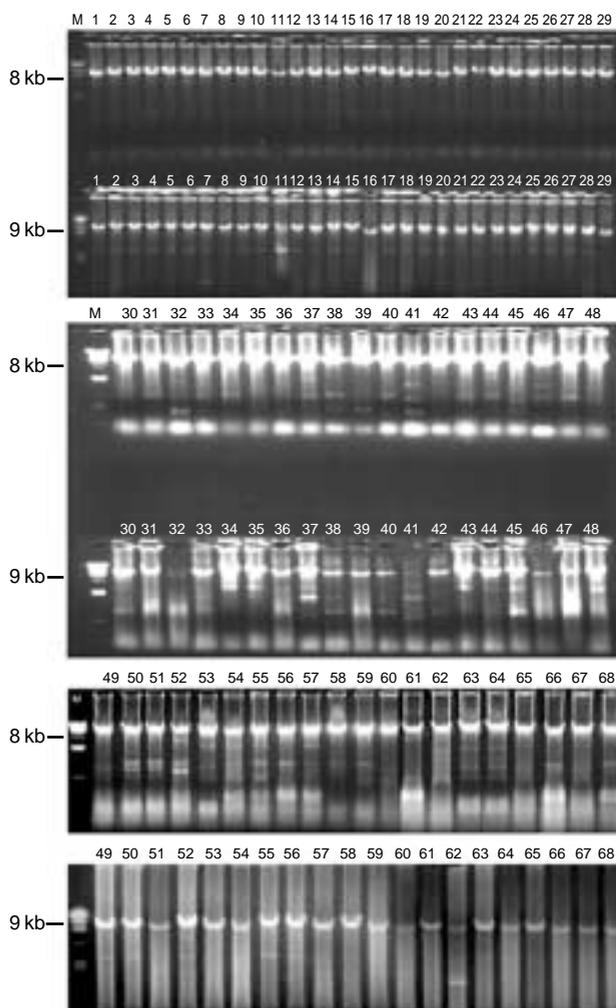


Fig. 3. Mitochondrial DNA products of 68 Korean freshwater-species amplified by long-PCR. There are three panels. The lower and down lane of each panel represents the amplification of half-mitochondrial DNA and the amplified mitochondrial DNA of each mitochondrial DNA, respectively. The PCR primers used were L-12321-Leu, 5'-GGT CTT AGG AAC CAA AAA CTC TTG GTG CAA-3' and S-LA-16S-H, 5'-TGC ACC ATT AGG ATG TCC TGA TCC AAC ATC-3' for upper band and H-12321-Leu, 5'-TTG CAC CAA GAG TTT TTG GTT CCT AAG ACC-3' and S-LA-16S-L and 5'-GAT GTT GGA TCA GGA CAT CCC AAT GGT GCA-3' for lower band, respectively and the expected mitochondrial DNA sizes were 8 and 9 kb long, respectively.

해어 *Gonostoma gracile*에서 tRNAs의 재배열을 보고하였다. 어류에서 뿐만 아니라 다른 분류군에서도 이러한 mitochondrial DNA의 재배열이 보고되고 있다. 따라서,

현재까지 알려진 바와 같이 척추동물중 가장 다양한 종으로 구성되어 있는 어류에서도 다양한 mitochondrial DNA의 재배열구조가 나올 수 있고, 이는 곧 진화와의 연관지을 수 있을것으로 사료된다.

적용 2. 검정꼭저구 (*Gymnogobius sp. 1*)의 전체 미토콘드리아 DNA sequences

망둑어과(Gobiidae)의 종 분화는 연안역의 중층에서 생활을 하던 고대의 농어형 어류에서 분화하여 (Matsubara, 1979) 연안역의 해저에서 저서생활의 습성을 획득했고, 형태적으로는 몸의 소형화가 진행되면서 몸의 각 부위의 형질이 저서 생활에 적응·분화되었으며, 생리적으로는 광염(廣鹽), 광온(廣溫), 내건(耐乾)의 성질을 얻게 되었다(Takagi, 1966; 道津, 1979). 이렇게 얻은 형태적, 생리적 특성에 의해 망둑어과는 계속 새로운 서식지로의 진출이 가능하게 되었고, 생태적으로나 형태적으로 보다 다양한 적응분화를 이루게 되어서 현재 절정기를 맞이하게 되었다고 추정되고 있다(道津, 1979). 대부분 어류들은 성어임에도 불구하고, 크기가 작은 종들이 많고, 형태적으로 다양한 특징을 나타내기 때문에 이들 분류군에 대한 이해의 부족으로 계통분류에 있어서 많은 혼란이 있어왔다(Wang *et al.*, 2001). 예컨대, 한국산 망둑어과 중 날망둑속(*Gymnogobius*)에는 날망둑(*G. castaneus*), 살망둑(*G. heptacanthus*), 꼭저구(*G. urotaenia*), 왜꼭저구(*G. macrognathus*), 얼룩망둑(*G. mororanus*) 등 5종이 기재되어 있었다(한국동물분류학회 편, 1997). 이 중 꼭저구 *G. urotaenia*(Hilgendorf, 1879)는 오랜기간동안 꼭저구 1종으로 보고 되어 왔었는데(Kim, 2002), 제 1등지느러미 후단과 미병말단에 뚜렷한 흑색반문의 특징과 외부 형태적 특징에 의하여 일본에서와 같이 서로 다른 2종(검정꼭저구: *G. sp. 1*, 무늬꼭저구: *G. sp. 2*)의 서식이 보고된 바 있다(Kim, 1997). 그러나 이들의 이러한 특징들이 유전적 조성과는 무관하게 환경적 요인에 의해 얻어진 아종수준에서의 다형현상인지, 또는 각각 독립된 종인지가 의문이었는데, 근래에 이들의 분류학적 위치를 규명하기 위한 연구가 여러 학자에 의해 꾸준히 이어지면서 일부 궁금증이 해소되었다. 즉, Suk *et al.* (1996)의 동위효소분석을 통한 중간 유연관계 및 계통분화 경로추적, Jeon *et al.* (1997)의 동일서식지에서의 미세분포조사, Kim and Jeon (2000)의 다형질 통계분석(多形質 統計分析), Kim and Kim (2001a, b, 2003)의 생태학적 연구보고 등으로 부터, 형태, 생태, 유전적으로 모두 독립된 종수준에 있음이 밝혀졌고(石野, 1986; Aiza-

Table 1. List of fish used for amplification of mitochondrial DNA using long-PCR. Numbers are corresponded to that of the band in Fig. 3.

잉어목		Cypriniformes		살치속		<i>Hemiculter</i>
잉어과		Cyprinidae		치리	60	<i>H. eigenmanni</i>
잉어속		<i>Cyprinus</i>		미꾸리과		Cobitidae
잉어	38	<i>C. carpio</i>		쌀미꾸리속		<i>Lefua</i>
붕어속		<i>Carassius</i>		쌀미꾸리	51	<i>L. costata</i>
붕어	13	<i>C. auratus</i>		미꾸리속		<i>Misgurnus</i>
납줄개속		<i>Rhodeus</i>		미꾸리	59	<i>M. anguillicaudatus</i>
흰줄납줄개	50	<i>R. ocellatus</i>		참종개속		<i>Iksookimia</i>
각시붕어	21	<i>R. uyekii</i>		참종개	25	<i>I. koreensis</i>
떡납줄갱이	22	<i>R. notatus</i>		부안종개	26	<i>I. pumila</i>
납자루속		<i>Acheilognathus</i>		미호종개	33	<i>I. choii</i>
납자루	19	<i>A. lanceolatus</i>		왕종개	24	<i>I. longicorpa</i>
목납자루	12	<i>A. sinifer</i>		남방종개	56	<i>I. hugowolfeldi</i>
칼납자루	27	<i>A. koreensis</i>		동방종개	58	<i>I. yongdokensis</i>
줄납자루	45	<i>A. yamatsutae</i>		새코미꾸리속		<i>Koreocobitis</i>
납지리	8	<i>A. rhombeus</i>		새코미꾸리	30	<i>K. rotundicaudata</i>
큰납지리속		<i>Acanthorhodeus</i>		기름종개속		<i>Cobitis</i>
큰납지리	3	<i>A. macropterus</i>		점줄종개	53	<i>C. lutheri</i>
가시납지리	10	<i>A. gracilis</i>		줄종개	54	<i>C. tetralineata</i>
참붕어속		<i>Pseudorasbora</i>		메기목		Siluriformes
참붕어	32	<i>P. parva</i>		동자개과		Bagridae
돌고기속		<i>Pungtungia</i>		동자개속		<i>Pseudobagrus</i>
돌고기	36	<i>P. herzi</i>		눈동자개	31	<i>P. koreanus</i>
감돌고기속		<i>Pseudopungtungia</i>		종어속		<i>Leiocassis</i>
감돌고기	4	<i>P. nigra</i>		종어	34	<i>L. longirostris</i>
가는돌고기	17	<i>P. tenuicorpa</i>		통가리과		Amblycipitidae
쉬리속		<i>Coreoleuciscus</i>		통가리속		<i>Liobagrus</i>
쉬리	40	<i>C. splendidus</i>		통가리	35	<i>L. andersoni</i>
중고기속		<i>Sarcocheilichthys</i>		동갈치목		Beloniformes
참중고기	41	<i>S. variegatus wakiyae</i>		송사리과		Adrianichthyoidae
중고기	23	<i>S. nigripinnis morii</i>		송사리속		<i>Oryzias</i>
줄물개속		<i>Gnathopogon</i>		대륙송사리	61	<i>O. sinensis</i>
줄물개		<i>G. strigatus</i>		농어목		Perciformes
물개속		<i>Squalidus</i>		꺼지과		Centropomidae
긴물개	9	<i>S. gracilis majimae</i>		쏘가리속		<i>Siniperca</i>
물개	6	<i>S. japonicus coreanus</i>		쏘가리	43	<i>S. scherzeri</i>
점물개	62	<i>S. multimaculatus</i>		꺼지속		<i>Coreoperca</i>
누치속		<i>Hemibarbus</i>		꺼지기	52	<i>C. kawamebari</i>
누치	11	<i>H. labeo</i>		꺼지	44	<i>C. herzi</i>
참마자	28	<i>H. longirostris</i>		동사리과		Odontobutidae
모래무지속		<i>Pseudogobio</i>		동사리속		<i>Odontobutis</i>
모래무지	39	<i>P. esocinus</i>		동사리	16	<i>O. platycephala</i>
버들매치속		<i>Abbottina</i>		일륙동사리	15	<i>O. interrupta</i>
버들매치	55	<i>A. rivularis</i>		망둑어과		Gobiidae
모래주사속		<i>Microphysogobio</i>		날망둑속		<i>Gymnogobius</i>
뽕경모치	29	<i>M. jeoni</i>		꼭저구	1	<i>G. urotaenia</i>
배가사리	37	<i>M. longidorsalis</i>		검정꼭저구	47	<i>G. sp. 1</i>
황어속		<i>Tribolodon</i>		무늬꼭저구	66	<i>G. sp. 2</i>
황어	20	<i>T. hakonensis</i>		밀망둑속		<i>Rhinogobius</i>
버들치속		<i>Rhynchocypris</i>		밀어	46	<i>R. brunneus</i>
버들치	7	<i>R. oxycephalus</i>		무늬밀어	48	<i>R. sp. CB</i>
버들개	64	<i>R. steindachneri</i>		검정망둑속		<i>Tridentiger</i>
금강모치	14	<i>R. kumgangensis</i>		민물두줄망둑	57	<i>T. bifasciatus</i>
왜물개속		<i>Aphyocypris</i>		검정망둑속		<i>Tridentiger</i>
왜물개	63	<i>A. chinensis</i>		검정망둑	67	<i>T. obscurus</i>
피라미속		<i>Zacco</i>		미끈망둑속		<i>Luciogobius</i>
갈겨니	2	<i>Z. temmincki</i>		미끈망둑	68	<i>L. guttatus</i>
피라미	42	<i>Z. platypus</i>		버들붕어과		Belontiidae
끄리속		<i>Opsariichthys</i>		버들붕어속		<i>Macropodus</i>
끄리	49	<i>O. uncirostris amurensis</i>		버들붕어	18	<i>M. chinensis</i>
눈물개속		<i>Squaliobarbus</i>		복어목		Tetraodontiformes
눈물개	5	<i>S. curriculus</i>		참복속		<i>Takifugu</i>
				복섬	65	<i>T. niphobles</i>

wa *et al.*, 1994; Kim, 2002), 현재 날망독속 어류들은 제3기 선신세 (Pliocene)인 약 450만년전에 분화하였으며, 그중 꼭저구, 검정꼭저구, 무늬꼭저구의 3종은 비교적 최근(약 120만년~180만년전)에 분화하여 현재에 이른 것(Suk *et al.*, 1996)으로 보고된 바 있다.

한편, 일본의 Harada *et al.* (2002)은 한국산과 일본산 날망독속 어류를 대상으로 미토콘드리아 cytochrome b gene의 염기서열을 분석하여 종내, 종간 관계 및 계통적 유연관계를 유추한바 있다. 그러나 기존의 보고(Aizawa *et al.*, 1994)에서는 종간변이 분석결과, 일본산 *G. isaza*와 *G. urotaenia*가 단계통군(monophyletic group)이라는 결과를 보고했던 반면, Harada *et al.* (2002)은 *G. sp.* 2가 가장 먼저 분화하였고, 다음으로 *G. isaza*가 분화되었으며, *G. sp.* 1와 *G. urotaenia*가 4종 중 가장 후에 분화된 것으로 나타나서, 좀 더 정확한 분석을 위해서는 DAN의 다른 부분까지도 조사가 이루어져야 할 것을 제안한 바 있다. 또한 Harada *et al.* (2002)은 종내 변이분석 결과, 꼭저구와 무늬꼭저구는 mitochondrial DNA 염기서열의 차이가 매우 낮았지만, 그들의 분포양상이 불연속적인 특징을 나타낸다는 근거를 토대로, 일본과 한국의 양 집단에서의 종내교잡은 현재 일어나지 않고 있는 것으로 생각되나, 검정꼭저구의 경우 일본과 한국집단에서 완전 격리되었는지는 유추할 수 없다고 하여, 여러 지역으로부터 더 많은 표본을 이용하여 DNA의 다른 부분까지도 분석할 필요가 있다고 제안하였다. 담수어류는 대부분이 과거 빙하기에 해수면이 낮아져서 육지가 연결되었을때 대륙으로부터 유입된 것으로부터 유래되었다는 보고(菁柳, 1957; Jeon, 1983; 손, 1995; 김, 1997)를 고려한다면, 꼭저구 3종과 같이 대한해협을 사이에 두고 한국과 일본의 양 집단에 분포하는 동일어종의 종분화를 구명하는 일은 매우 의미있는 과제라 할수 있겠다.

현재 본 연구실에서는 한국산 날망독속 어류중 *G. sp.* 1의 미토콘드리아 DNA 전체염기서열 분석을 마쳤고(unpublished data), 앞으로 나머지 2종에 대한 미토콘드리아 전체 염기서열분석도 실시하여 일본에서의 부분적인 DNA분석(Harada *et al.*, 2002)과 비교,연구가 이루어진다면, 날망독속 어류에 대한 계통분류학적 연구에 있어서 현재 풀리지 않고있는 문제를 해결하는데 단서를 제공할것으로 기대한다.

적용 3. 조피볼락 (*Schlegeli sebastes*)의 전체 미토콘드리아 DNA sequences

볼락속 어류는 양볼락과(Scorpaenidae) 어류 중 가장

큰 그룹으로, 전 세계적으로 100여종에 이르고(Washington *et al.*, 1984), 한국연안에 분포하고 있는 볼락속 어류는 총 19종이 보고(한국동물분류학회편, 1997)되고 있으며 경제성이 매우 높은 양식대상종으로 알려져 있다(Rocha-Olivares *et al.*, 1999). 그러나 종간에 형태적으로 유사한 점이 많고, 종내에서도 형태적 변이가 많음에도 불구하고 분류학적 재검토에 대한 연구가 부족했기 때문에 오랜기간 동안 속명변경, 동종 및 이종 등의 문제로 분류학적 혼란이 많았었다(Kendall and Orr, 2001). 더욱이 자치어의 경우 대부분이 채색의 특징을 이용하여 동정되었는데, 현재 많은 신종들이 보고 되고 있는 시점에서 이와 같은 비슷한 채색의 양상만으로 동정을 한다는 것은 매우 어렵고 불가능한 일이 될 수도 있다(Gray *et al.*, 2000). 또한 자치어를 포함하여 성어의 경우도, 외부형태적 특징, 서식범위, 생활사 등의 특징이 폭넓게 중복되고 있기 때문에 제한된 방법으로만 분류를 시행한다면 엄청난 노력과 어려움이 따를 것이다(Kendall and Orr, 2001; Gray *et al.*, 2000).

북서양산 어류인 *Sebastes sp.* Cuvier, 1829와 태평양산 *Sebastes*는 동속이명임이 확인되었음에도 불구하고(Matsubara 1934), 어떠한 이견도 없이 *Sebastes*라는 속명이 1960년대까지 널리 사용되어 왔으나 그 후 새로운 생화학적 접근과 형태적 형질의 재평가를 시행하여 두속은 동일속이라는 사실이 보고 되었다. 또한 *Sebastes*속의 많은 어류들 중 어떤 종은 아속에 포함되어 왔지만(Matsubara, 1934) 형태적 차이에서 뚜렷한 특징이 없고, 또 그 특징을 입증할만한 자료의 부족으로 아속내 또는 아속간에 진화적인 관계 및 아속의 범위의 유효성을 밝혀야 할 과제가 남아있었다. Seeb (1986)는 *Sebastes*속에 대해 전기영동을 실시, allozyme 분석 데이터에 의하여 *Sebastomus*속 14종 중 7종이 단계통군을 형성한다고 결론지었으나 대립유전자의 존재 및 부재만을 취급했을 뿐, 대립유전자의 빈도나 대립유전자를 형질상태(character state)로 전환한 형질분석은 이루어지지 않았다. 그 이후 Rocha-Olivares (1999)는 *Sebastes*속 54종의 미토콘드리아 cytochrome b gene의 염기서열을 분석하여 아속인 *sebastomus*가 단계통이라고 보고하면서 미토콘드리아 DNA를 이용한 볼락속 어류들의 분류 및 계통을 추정하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

한편, 우리나라의 경우 볼락속 어류에 관한 연구는 양식사업에서의 양적증대를 위한 노력 뿐, 그 외 수산생물에 관한 계통유전학적 및 분류학적 연구는 전무한 실정이다. 특히 국내 볼락속 어류 중 조피볼락은 형태적으로 두눈 사이가 넓고, 거의 평탄하며 새파가 길고 아래턱이

위턱보다 나와 있는 점 등이 *Sebastes* (Gill, 1861) 속과 같으나, 위턱후골과 아래턱에 비늘이 없는 점, 해부학적으로는 근설골(近楔骨)에 밀착하여 있는 점 등은 *Sebastes* (Gill, 1862) 속의 형질과 같기 때문에 두 속으로도 발표되면서, 계통상 매우 흥미있는 어류 (Chyung, 1977)로 알려진바 있다.

본 연구실에서는 볼락속 어류중 서해안에서 채집된 조피볼락의 계통분류를 위하여 분자유전학적방법을 이용한 전체 mitochondrial DNA의 염기서열을 분석하였다(미발표 자료). 앞으로 서해안산 조피볼락의 mitochondrial DNA 유전자 데이터를 이용하여, 외국에서 이미 보고된 양볼락과 볼락속 어류들과의 계통유연관계 및 종분화 연대와 요인들을 추적하는데 효율성을 제공할 것으로 사료된다. 그러나 우리나라 동, 서, 남해의 독특한 해양환경이 서로 다른 특성의 해양생물이 서식할 수 있는 여건을 제공할 수 있다(Lee, 2000)는 점을 감안한다면, 본 종의 좀 더 면밀한 분자계통학적 연구를 위해서 동해안, 남해안에 서식하는 조피볼락과 함께 종내, 종간 형태변이, 생물지리학적, 생태학적 연구 및 유전자 분석이 종합적으로 병행되어야 할 것이다.

적 요

종다양성 규명을 위한 계통분류학적 연구는 원시형질의 상동성에 근거한 기존의 형태형질과 효율적인 새로운 분자계통분류학적 연구방법이 병행된다면 좀 더 정확한 분류 및 계통을 추적하는데 객관적인 결론을 제시할 수 있을 것이다. 현재 활발히 연구되고 있는 미토콘드리아 DNA를 이용한 분자계통분류학적 연구는 기존의 형태적 특징을 근간으로한 계통분류를 재검토할 뿐 아니라 계통진화학상 조상과 자손과의 관계를 유추하는데 새로운 가설을 세울 수 있는 토대를 제공하는 기초자료로서 이용될 수 있다.

사 사

본 논문은 2002년 한양대학교 교내연구비지원(신임교수연구비)으로 수행되었습니다.

인 용 문 헌

김익수. 1997. 한국 동식물도감 제37권 동물편(담수어류). 교

육부. 국정교과서(주), 연기. pp. 1-629.

道津喜衛. 1979. ハゼ亞目 魚類の卵と 仔稚魚, 海洋科學 11: 111-116.

박홍양, 윤종만, 장계남, 허형택, 권혁추, 김정대, 민윤식, 배승철, 김계웅, 노순창, 박기영, 한창희, 김동수, 류동석, 이승배. 1995. 어류생물학, 정문각, pp. 213-214.

石野健吾. 1986. ウキゴリ (*Chaenogobius annularis* Gill) 3型の形態學的 生態學的 研究. 特に 3型の分化と適應に關する考察. 北海道大學水産學部博士學位論文. pp. 1-326.

손영목. 1995. 한국담수생태계의 특성과 어류상, 한국생태학회 심포지움 pp. 51-62.

青柳兵司. 1957. 日本列島淡水魚類總說, 大修館, 東京, 272pp.

한국동물분류학회편. 1997. 한국동물명집 (List of Animals in Korea): 곤충제외, 아카데미서적, 서울, pp. 259-276.

Aizawa, T., M. Hatsumi and K. Wakahama. 1994. Systematic study on the *Chaenogobius* species (Family Gobiidae) by analysis of allozyme polymorphisms. *Zool. Sci.* 11: 455-465.

Apostolidis, A.P., Z. Mamuris and C. Triantaphyllidis. 2001. Phylogenetic relationships among four species of Mullidae (Perciformes) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome b and 16S rRNA genes. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: 901-909.

Avise, J.C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23: 465-481.

Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York, pp. 1-511.

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 (*Hepomis macrochirus*). *Evol.* 38: 931-941.

Avise, J.C. and R.A. Lansman. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals, In: Evolution of genes and proteins (Nei, M. and R.K. Koehn, eds.). Sinauer Associate. Sunderland. Massachusetts. pp. 147-164.

Bentzen, P.W.C.L. and G.C. Brown. 1988. Length and restriction site heteroplasmy in the mitochondrial DNA of American Shad (*Alosa sapidissima*). *Genetics* 118: 509-518.

Brown, W.M. 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 3605-3609.

Cao, Y., P.J. Waddell, N. Okada and M. Hasegawa. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the shark *Mustelus manazo*: evaluating rooting contradictions to living bony vertebrates. *Mol. Biol. Evol.* 15: 1637-1646.

- Cha, S.S. 2002. Review on the studies of ecology of fish in their early life stages of Korea. *Korean J. Ichthyol.* **14**: 76–82.
- Chang, Y.C., F.L. Hunag and T.B. Lo. 1994. The complete nucleotide sequence and gene organization of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. *J. Mol. Evol.* **38**: 138–155.
- Chapman, R.M., J.C. Stepens, R.A. Lansman and J.C. Avise. 1982. Models of mitochondrial DNA transmission genetics and evolution in higher eukaryotes. *Genet. Res.* **40**: 41–57.
- Chyung, M.K. 1977. The fishes of Korea. Iljisa, Seoul, pp. 1–727.
- Curole, J.P. and T.D. Kocher. 1999. Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes. *Trend. Ecol. Evol.* **14**: 394–398.
- Cuvier, G. 1829. Le Regne animal, distribued d'apres son organisation, pour servir de et d'introduction a l'anatomie comparee. *Edo* **2**: 1–532.
- Desjardins, P. and R. Morais. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.* **212**: 599–634.
- Dowling, T.E. and W.M. Rown. 1989. Allozymes, mitochondrial DNA, and levels of phylogenetic resolution among four minnow species (Notropis: Cyprinidae). *Syst. Zool.* **38**: 126–143.
- Edwards, S.V. and A.C. Wilson. 1990. Phylogenetically informative length polymorphism and sequence variability in mitochondrial DNA of Australian songbirds (*Pomatostomus*). *Genetics* **126**: 695–711.
- Gill, T.N. 1861. Notes on some genera of fishes of the western coast of North America. *Proc. Acad. Natl. Sci. Phil.* **13**: 164–168.
- Gill, T.N. 1862. Notice of a collection of the fishes of California presented to the Smithsonian Institution by Mr. Samuel Hubbard. *Proc. Acad. Natl. Sci. Phil.* **14**: 274–282.
- Gray, A.K., B.L. Wing, A.W. Kendall, S. Johnson, J. Heifetz and A.J. Gharrett. 2000. The identification of larval and juvenile *Sebastes* using a mitochondrial DNA restriction site map (Agenda and Abstracts). 11th Western Groundfish Conference, Alaska, 12pp.
- Hale, L.P. and R.S. Singh. 1986. Extensive variation and heteroplasmy in size of mitochondrial DNA among geographic populations of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 8813–8817.
- Harada, S., S.R. Jeon, I. Kinoshita, M. Tanaka and M. Nishida. 2002. Phylogenetic relationships of four species of floating gobies (*Gymnogobius*) as inferred from partial mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Ichthyol. Res.* **49**: 324–332.
- Helfman, G.S., B.B. Collett and D.E. Facey. 1997. The diversity of fishes. Blackwell Sci., Massachusetts, pp. 1–512.
- Hilgendorf, F.M. 1879. Einige beiträge zur ichthyologie Japan's. *Sitzuer. Nat. Freunde* **5**: 107–108.
- Hillis, D.M., J.P. Huelsenbeck and C.W. Cunningham. 1994. Application and accuracy of molecular phylogenies. *Science* **264**: 671–677.
- Hurst, C.D., S.E. Bartlett, W.S. Davidson and I.J. Bruce. 1999. The complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Gene* **239**: 237–234.
- Inoue, J.G., M. Miya, J. Aoyama, S. Ishikawa, K. Tsukamoto and M. Nishida. 2001a. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Sci.* **67**: 118–125.
- Inoue, J.G., M. Miya, K. Tsukamoto and M. Nishida. 2000. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. *Fisheries Sci.* **66**: 924–932.
- Inoue, J.G., M. Miya, K. Tsukamoto and M. Nishida. 2002. Basal actinopterygian relationships: a mitogenomic perspective on the phylogeny of the “ancient fish”. *Mol. Phylogenet. Evol.* **26**: 110–120.
- Inoue, J.G., M. Miya, K. Tsukamoto and M. Nishida. 2001b. A Mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny resolving higher level relationships with longer DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **20**: 275–285.
- Ishiguro, N., M. Miya and M. Nishida. 2001. Complete mitochondrial DNA sequence of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fisheries Sci.* **67**: 118–132.
- Jacobs, H.T., S. Asakawa, T. Araki, K. Miura, M.J. Smith and K. Watanabe. 1989. Conserved tRNA gene cluster in starfish mitochondrial DNA. *Curr. Genet.* **15**: 193–206.
- Jeon, S.R. 1983. Ichthyology. Sangmyung Univ., Seoul. Printed matter.
- Jeon, S.R., H.G. Byeon, and Y.J. Kim. 1997. On the micro distribution of three species of genus *Chaenogobius* (Gobiidae) from Hosan-river. *Korean J. Limnol.* **30**: 21–27.
- Jin, J.H. 1997. Genetic variation in mitochondrial DNA of *Hyla japonica*. Master Thesis, Inha Univ., pp. 1–69.
- Johansen, S. and I. Bakke. 1996. The complete mitochondrial DNA sequence of Atlantic cod, *Gadus morhua*: relevance to taxonomic studies among cod fishes. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* **5**: 203–214.
- Kendall, A. and J. Orr. 2001. Identification and systematics

- of rockfishes (*Sebastes*) in the Northeast Pacific Ocean (Quarterly report). *NOAA Fish*. pp. 1-11.
- Kim, C.B. and W. Kim. 2001. New animal phylogeny. *Korean J. Syst. Zool.* **17**: 263-275.
- Kim, I.S. 1993. The analysis of mitochondrial DNA size difference in Korean frog, *Rana amurensis*. Master Thesis, Inha Univ., pp. 1-26.
- Kim, J.B. 1995. The studies of speciation and systematics on the fishes the genera *Rhinogobius* and *Tridentiger* (Perciformes, Gobiidae) in Korea. Ph.D. Dissertation, Inha Univ., pp. 1-134.
- Kim, K.H. 1995. The analysis of mtDNA using restriction endonucleases in Korean toad, *Bufo bufo*. Master Thesis, Inha Univ., pp. 1-25.
- Kim, Y.J. 1997. Studies on the morphological characteristics and microdistribution of the three species in genus *Chaenogobius* (Pisces: Gobiidae) from Hosan-river, Kangwon-do, Korea. Master Thesis, Sangmyung Univ., pp. 1-43.
- Kim, Y.J. 2002. Morphology and ecology of three species of the genus *Gymnogobius* (Gobiidae) from Korea. Ph.D. Dissertation, Sangmyung Univ. pp. 1-118.
- Kim, Y.J. and J.M. Kim. 2001a. Sexual dimorphism of three species of *Gymnogobius* (Gobiidae) from Korea. *Korean J. Ichthyol.* **13**: 111-122.
- Kim, Y.J. and J.M. Kim. 2001b. Age and growth of three species of genus *Gymnogobius* (Gobiidae) from Korea. *Korean J. Ichthyol.* **13**: 237-247.
- Kim, Y.J. and J.M. Kim. 2003. Feeding habits of three species of *Gymnogobius* (Gobiidae) from Hosan River, Korea. *Korean J. Ichthyol.* **15**: 37-44.
- Kim, Y.J. and S.R. Jeon. 2000. Studies on the morphological characteristics of the three species in genus *Chaenogobius* (Gobiidae) from Korea. *Korean J. Environ. Biol.* **18**: 387-394.
- Kondo, R., Y. Satta, E.T. Matsuura, H. Ishiwa and N. Takahata. 1990. Incomplete maternal transmission of mitochondrial DNA in *Drosophila*. *Genetics* **126**: 657-663.
- Kosuch, J., M. Vences, A. Dubois, A. Ohler and W. Bohme. 2001. Out of Asia: mitochondrial DNA evidence for an oriental origin of tiger frogs, genus *Hoplobatrachus*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **21**: 397-403.
- Lee, H.J., J.Y. Park, W.J. Kim, K.S. Min, Y. Kim, M.A. Yoo and W.H. Lee. 1999. Genetic study of the subfamily Salmoninae based upon mitochondrial DNA control region sequences. *Korean J. Ichthyol.* **11**: 163-171.
- Lee, J.-S., M. Miya, Y.S. Lee, C.G. Kim, E.-H. Park, Y. Aoki and M. Nishida. 2001. The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the self-fertilizing fish *Rivulus marmoratus* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) and the first description of duplication of a control region in fish. *Gene* **280**: 1-7.
- Lee, W.J. and T.D. Kocher. 1995. Complete sequence of a sea lamprey (*Petromyzon marinus*) mitochondrial genome: early establishment of the vertebrate genome organization. *Genetics* **139**: 873-887.
- Lee, Y.H. 2000. Evolution of sea urchin stronglylocentrotus intermedius based on DNA sequences of a mitochondrial gene, cytochrome c oxidase subunit I. *J. Korean Soc. Oceanogr.* **2**: 157-168.
- Liang, F.Q. and Godley, B.F. 2003. Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **76**: 397-403
- Ma, D.P., A. Zoharkikh, D. Graur, J.L. Vandeberg and W.H. Li. 1993. Structure and evolution of opossum, guinea pig and porcupine cytochrome b genes. *J. Mol. Evol.* **36**: 327-334.
- Masaru, M., T. Yamagishi, M. Sakaizumi and S.R. Jeon. 1997. Mitochondrial DNA variation in the Korean wild population of medaka, *Oryzias latipes*. *Korean J. Limnol.* **30**: 119-128.
- Matsubara, K. 1934. Studies on the scorpaenoid fishes of Japan. I. descriptions of one new genus and five new species. *J. Imp. Fish. Inst. Tokyo* **30**: 199-210.
- Matsubara, K. 1979. Fish morphology and hierarchy. 2nd ed. Ishizaki-Shoten, Tokyo, 807pp. (in Japanese).
- Milam, E., R.E. Broughton and B.A. Roe. 2001. Complete mitochondrial genome of *Danio rerio* (zebrafish). Submitted.
- Min, M.S. 1991. Systematic study on the genus *Zacco* (Pisces, Cyprinidae), Ph.D. Dissertation, Inha Univ., pp. 1-93.
- Miya, M., H. Takeshima, H. Endo, N.B. Ishiguro, J.G. Inoue, T. Mukai, T.P. Satoh, M. Yamaguchi, A. Kawaguchi, K. Mabuchi, S.M. Shirai and M. Nishida. 2003. Major patterns of higher teleostean phylogenies: a new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **26**: 121-138.
- Miya, M. and M. Nishida. 1999. Organization of the mitochondrial genome of a deep sea fish, *Gonostoma gracile* (Teleostei: Stomiiformes): first example of transfer RNA gene rearrangements in bony fishes. *Mar. Biotechnol.* **1**: 416-426.
- Miya, M. and M. Nishida. 2000. Use of mitogenomic information in teleostean molecular phylogenetics: a tree-bases exploration under the maximum parsimony opti-

- mality criterion. *Mol. Phylogenet. Evol.* **17**: 437-455.
- Moller, P.R. and P. Gravlund. 2003. Phylogeny of the eel-pout genus *Lycodes* (Pisces, Zoarcidae) as inferred from mitochondrial cytochrome b and 12S rDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* **26**: 369-388.
- Murakami, M., Y. Yamashita and H. Fujitani. 1998. The complete sequence of mitochondrial genome from a gynogenetic triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorfi*). *Zool. Sci.* **15**: 335-337.
- 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.
- Nelson, J.S. 1976. Fishes of the world. John Wiley & Sons, New York, pp. 1-416.
- Nelson, J.S. 1984. Fishes of the World (2nd.). John Wiley & Sons, New York, pp. 1-523.
- Nelson, J.S. 1994. Fishes of the World (3rd.). John Wiley & Sons, New York, pp. 2-89.
- Noack, K., R. Zardoya and A. Meyer. 1996. The complete mitochondrial DNA sequence of the bichir (*Polypterus ornatipinnis*), a basal ray-finned fish: ancient establishment of the consensus vertebrate gene order. *Genetics* **144**: 1165-1180.
- Obermiller, L.E. and E. Pfeiler. 2003. Phylogenetic relationships of elopomorph fishes inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **26**: 202-214.
- Park, C.S. 1990. Genetic studies on the Korean anurans (Amphibia, Anura): Chromosome and mitochondrial DNA analysis. Ph.D. Dissertation, Inha Univ., pp. 1-110.
- 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.
- Park, J.Y., H.J. Lee, W.J. Kim, J.H. Lee and K.S. Min, 2000. Mitochondrial cytochrome b sequence variation in Korean salmonids. *J. Fish Biol.* **56**: 1145-1154.
- Randi, E., V. Luccini, A. Hennache, R.T. Kimball, E.L. Braun and J.D. Ligon. 2001. The mitochondrial DNA control region and cytochrome b genes and the inference of phylogenetic relationships in the avian genus *Lophura* (Galliformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* **19**: 187-201.
- Rasmussen, A.S. and U. Arnason. 1999a. Phylogenetic studies of complete mitochondrial DNA molecules place cartilaginous fishes within the three of bony fishes. *J. Mol. Evol.* **48**: 118-123.
- Rasmussen, A.S. and U. Arnason. 1999b. Molecular studies suggest that cartilaginous fishes have a terminal position in the piscine tree. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **96**: 2177-2182.
- Rholf, F.J. and M.C. Wooten. 1988. Evolution of the restricted maximum-likelihood method for estimating phylogenetic trees using simulated allele-frequency data. *Evolution* **42**: 581-595.
- Rocha-Olivares, A., C.A. Kimbrell, B.J. Eitner and R.D. Vetter. 1999. Evolution of a mitochondrial cytochrome b gene sequence in the species-rich genus *Sebastes* (Teleostei, Scorpaenidae) and its utility in testing the monophyly of the subgenus *Sebastomus*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **11**: 426-440.
- Saitoh, K., K. Hayashizaki, Y. Yokoyama, T. Asahida, H. Toyohara and Y. Yamashita. 2000. Complete nucleotide sequence of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) mitochondrial genome: structural properties and cue for resolving Teleostean relationships. *J. Hered.* **91**: 271-278.
- Seeb, L.W. 1986. Biochemical systematics and evolution of the Scorpaenid genus *Sebastes*. Ph.D. Dissertation, School of Fisheries, Univ. of Washington.
- Shim, J.H. 1994. Systematic study on the birds of the order Passeriformes in Korea.. Ph.D. Dissertation. Inha Univ. pp. 1-95.
- Suk, H.Y. 1995. Systematic study on the fishes of the genus *Chaenogobius* (Perciformes: Gobiidae) in Korea. Mater Thesis, Inha Univ., pp. 1-67.
- Suk, H.Y., J.B. Kim, M.S. Min and S.Y. Yang. 1996. Genetic differentiation and reproductive isolation among three types of the floating goby (*Chaenogobius annularis*) in Korea. *Korean J. Zool.* **39**: 147-158.
- Takagi, K. 1966. Taxonomic and nomenclatural status in chaos of the gobiid fish, *Chaenogobius annularis* Gill, 1858. II. *J. Tokyo Univ. Fish.* **52**: 29-45.
- Takeyama, H., S. Chow, H. Tsuzuki and T. Matsunaga. 2001. Mitochondrial DNA sequence variation within and between tuna *Thunnus* species and its application to species identification. *J. Fish Biol.* **58**: 1646-1657.
- Tian, G.L., F. Michel, C. Macadre, P.P. Slonimski and J. Lazowska. 1991. Incipient mitochondrial evolution in yeasts : II. The complete sequence of the gene coding for cytochrome of both new and conserved introns and discloses major differences in the fixation of mutation in evolution. *J. Mol. Biol.* **218**: 747-760.
- Toshio, O. and S.R. Jeon. 1996. Genetic differentiation of the genus *Coreoperca* (Pisces: Serranidae) from Korea.

- Korean J. Limnol.* **29**: 387-391.
- Tzeng, C.S., C.F. Hui, S.C. Shen and P.C. Huang. 1992. The complete nucleotide sequence of the *Crossostoma lacustre* mitochondrial genome: conservation and variations among vertebrates. *Nucleic Acids Res.* **20**: 4853-4858.
- Upholt, W.B. and I.B. Dawid. 1977. Estimation of DNA sequence divergence from comparison of restriction endonuclease digests. *Nucleic Acids Res.* **4**: 1257-1265.
- Wang, H.-Y., M.-P. Tsai, J. Dean and S.-C. Lee. 2001. Molecular phylogeny of gobioid fishes (Perciformes: Gobioidae) based on mitochondrial 12S rRNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **20**: 390-408.
- Washington, B.B., W.N. Eschmeyer and K.M. Howe. 1984. Scorpaeniformes: relationships. In: Ontogeny and systematics of fishes (HG Moser, WJ Richards, DM Cohen, MP Fahay, AW Kendall Jr and SL Richardson. eds.). ASIH Special Publication 1. Allen Press, Lawrence, KS, pp. 438-447.
- Wayne, R.K. and S.J. Obrien. 1987. Allozyme divergence within the Canidae. *Syst. Zool.* **36**: 339-355.
- Yang, S.Y. and B.S. Park. 1988. Speciation of the two species of the genus *Hyla* (Anura) in Korea. *Korean J. Zool.* **31**: 11-20.
- Zardoya, R. and A. Meyer. 1996. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial genome of the lungfish (*Protopterus dolloi*) supports its phylogenetic position as a close relative of land vertebrates. *Genetics* **142**: 1249-1263.
- Zardoya, R. and A. Meyer. 1997. The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of a living fossil, the coelacanth (*Latimeria chalumnae*). *Genetics* **146**: 995-1010.
- Zhu, D., B.G.M. Jamieson, A. Hugall and C. Moritz. 1994. Sequence evolution and phylogenetic signal in control region and cytochrome b sequences of rainbow fishes (Nelanotaeniidae). *Mol. Biol. Evol.* **11**: 672-683.
- Zouros, E., K.R. Freeman, A.B. Ball and G.H. Pogson. 1992. Direct evidence for extensive paternal mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus*. *Nature* **359**: 412-414.

(Manuscript received 20 June 2003,
Revision accepted 6 August 2003)