

미토콘드리아 cytochrome *b* 유전자 염기서열 분석에 의한 극동지역 송사리의 계통과 지리적 분포의 상관관계

어재영 · 유정하¹ · 강태욱 · 김무상² · 김창배*

한국생명공학연구원 유전체정보센터, ¹경원대학교 화학생명공학과
²Department of Molecular Cellular and Developmental Biology, Yale University

Molecular Phylogeny and Distribution of Far Eastern *Oryzias latipes* Based on Mitochondrial Cytochrome *b* Gene Sequence

Jae-Yong Eah, Jeong-Ha Yoo¹, Tae-Wook Kang,
Moo-Sang Kim² and Chang-Bae Kim*

National Genome Information Center, Korea Research Institute of Bioscience and
Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

¹Department of Chemical & Bioengineering, Kyungwon University, Seongnam 461-701, Korea

²Department of Molecular Cellular and Developmental Biology, Yale University,
New Haven, CT 06520-8103, USA

To examine the relationship of geological distribution and phylogenetic tree of *O. latipes* in the Far East, we analyzed cytochrome *b* (cyt *b*) gene in the mitochondrial genome. In this study we employed the entire sequence of cyt *b* of 53 samples collected from nine Korean locations and 117 cyt *b* data retrieved from the GenBank. From 170 *Oryzias latipes* cyt *b* sequence data, 142 different haplotypes were identified and phylogenetic relationship was reconstructed based on the dataset. According to the phylogeny, haplotypes were divided into three major haplogroups A, B and C, and their relationships were well correlated to their distributional patterns. Haplogroup A which is widely distribute in the southern part of Korea is separated in the geographical distribution from the haplogroup B which is found from China to the western part of Korea. Haplogroup C is only found in Japan.

Key words : *Oryzias latipes*, mitochondrial cytochrome *b*, phylogenetic tree, geographical distribution

서 론

송사리는 전장 약 4 cm의 담수어로서 중국, 한국, 일본에 걸쳐 널리 분포하며, 주로 수심이 얇은 저수지, 늪 및

하천의 표층에서 떼를 지어 다니며 주로 동물성 플랑크톤을 섭취한다(김 등, 2005). 기존의 연구들에 의하면 송사리는 *Oryzias latipes*와 *O. sinensis*의 2종으로 나누어 지기도 하고, *O. latipes*의 두 아종으로 분리되기도 하였다(Uwa and Jeon, 1987; Sakaizumi and Jeon, 1987; Kim and Moon, 1987; Kim and Lee, 1992; Kim and Kim,

*Corresponding author: changbae@kribb.re.kr

1993; Matsuda *et al.*, 1997). 본 연구는 송사리의 cytochrome *b* (cyt *b*) 유전자의 variation과 각 지역 population과 어떠한 상관관계가 있는가를 규명하는데 있으며, cyt *b* 유전자로 계통분석을 한 결과도 *O. latipes*와 *O. sinensis*가 두 종으로 확실히 분리되었다고 보기엔 변이율이 낮았기 때문에 본 논문에서는 일단 한국과 일본에서 서식하는 송사리를 *O. latipes* 한 종으로 간주하여 연구를 진행하였다. 우리나라에서는 미토콘드리아의 control region을 비교분석하여 한국 송사리의 유전적 변이와 지리적 상관성을 연구한 사례가 있으며 (Kang *et al.*, 2005), 일본의 경우는 cyt *b*를 이용하여 본 송사리의 유전적 다양성과 지리적 분포의 상관관계를 분석한 연구가 일부 보고되어 있다 (Takehana *et al.*, 2003, 2004). Takehana 등 (2004)에 의해 선행된 연구에서는 RAPD를 이용하여 sample들을 mitotype으로 묶은 후 한 mitotype에서 대표 한 sample을 취하여 cyt *b*의 염기서열을 비교, 분석하여 결과를 도출하였는데, 이것은 다양한 haplotype들을 모두 나타내 주지는 못하고 있다.

cyt *b*는 근래에 많은 연구로 전체서열이 많이 밝혀져 있으며, 변이율이 속내에서 계통적 거리를 비교하는데 적합하여 어류의 계통연구에 많이 이용되고 있다 (Hardman, 2005; Pepe *et al.*, 2005). 이전 연구에서 일본의 경우 각 지역별로 상당히 많은 수의 sample을 채집하여 지역별 유전자변이를 상당히 자세하게 분석하였으나 한국의 경우는 지역별로 충분한 채집이 이루어지지 않아 확실한 결과를 얻은 경우가 없었다.

본 연구에서는 한국 내 새로운 지역에서 채집된 모든 송사리 미토콘드리아의 cyt *b* 유전자 염기서열을 새로이 얻고, 기존에 한국을 비롯한 중국과 일본에서 알려진 모든 데이터를 종합하여 이를 haplotype으로 변환하고 이들의 계통수를 작성하였다. 또한, 동북아시아 송사리의 분자계통과 지리적 분포와의 상관성을 확인해보고자 하였다.

재료 및 방법

연구에 사용된 송사리 표본은 2003년~2004년에 걸쳐 전국 9곳의 주요 강과 그 지류에서 채집하였다 (Table 1) 지느러미의 조직을 채취하여 DNeasy tissue kit (Qiagen)을 사용하여 DNA를 분리·정제하였다. 미토콘드리아의 cyt *b* 유전자를 cyt *b* Fa (5'-AGG ACC TGT GGC TTG AAA AAC CAC-3')과 cyt *b* RVa (5'-TYC GAC YYC CGR WTT ACA AGA CCG-3')를 사용하여 PCR로 증폭하였다. 증폭된 DNA는 pGEM-Teasy vector

(Promega)에 ligation 한 후 DH5 α strain에 삽입 배양 후 plasmid DNA를 분리 정제하여 ABI377 automatic sequencer (Applied Biosystems)에서 T7, SP6를 primer로 사용하여 bi-directional sequencing하였다. 분석한 염기서열의 편집과 수정에는 BioEdit software (Hall, 1999)를 사용하였다. 염기서열의 multiple alignment를 위해 Clustal W (Thompson *et al.*, 1997)를 사용하였고, align이 끝난 염기서열 데이터를 MEGA 3.0 program (Kumar *et al.*, 2004)을 사용하여 아미노산서열로 변환시킨 후 아미노산의 서열들을 비교하는 방법으로 최종 확인하였다. 연구에서 얻어진 새로운 데이터와 GenBank에서 확보한 한국과 중국, 일본에서 보고된 염기서열 데이터를 DnaSP (Rozas and Rozas, 1999)를 사용하여 haplotype으로 변환하였다. MEGA3.0을 사용하여 Kimura-2-parameter에 의한 Neighbor-joining method (Saitou and Nei, 1987)에 의거하여 계통수를 작성하였다. 각 lineage의 분화시기를 예측하기 위하여 haplogroup들의 평균 유전거리를 계산하여 2.8%/myr의 진화속도를 적용하였다.

결과 및 고찰

연구에서 얻어진 53개의 미토콘드리아 cytochrome *b* 유전자 염기서열 데이터와 GenBank에서 수집한 117개의 유전자 염기서열 데이터는 142개의 haplotype으로 분류되었고, 이들의 계통분석이 이루어졌다 (Fig. 1, Table 1). Haplotype들의 계통수 (Fig. 1)에 의하면 동북아시아의 송사리는 크게 3개의 haplogroup으로 나누어지는데, 한국의 서·남한에 널리 나타난 haplotype들을 haplogroup A로, 중국과 한국의 서한에 나타나는 haplotype들은 haplogroup B로, 일본에만 나타나는 haplotype들은 haplogroup C로 분리되었는데, 각 node들은 높은 bootstrap value (Fig. 1)로 계통위치가 강하게 지지되며 분리가 일어났으나 각각의 3개 그룹을 다른 종으로 구분하기엔 계통거리가 짧았다.

선행 연구들에 따르면 어류 미토콘드리아 cyt 유전자의 단위시간 당 염기치환율이 연골어류의 경우 1백만년 당 0.81% (0.81%/myr)로 측정되었고 (Cantatore *et al.*, 1994), 큰가시고기류는 2.8%/myr (Orti *et al.*, 1994), 경골어류인 썸뱅이목의 *Sebastes*는 0.92%/myr로 각각 측정되었다 (Rocha-Olivares *et al.*, 1999). 또한 Harada *et al.* (2002)은 농어목 *Gymnogobius*의 고지리학적 데이터를 토대로 연구한 결과 cytochrome *b*의 진화속도를 2.5~2.8%/myr로 발표한 바 있다. 송사리의 경우 선행된 연

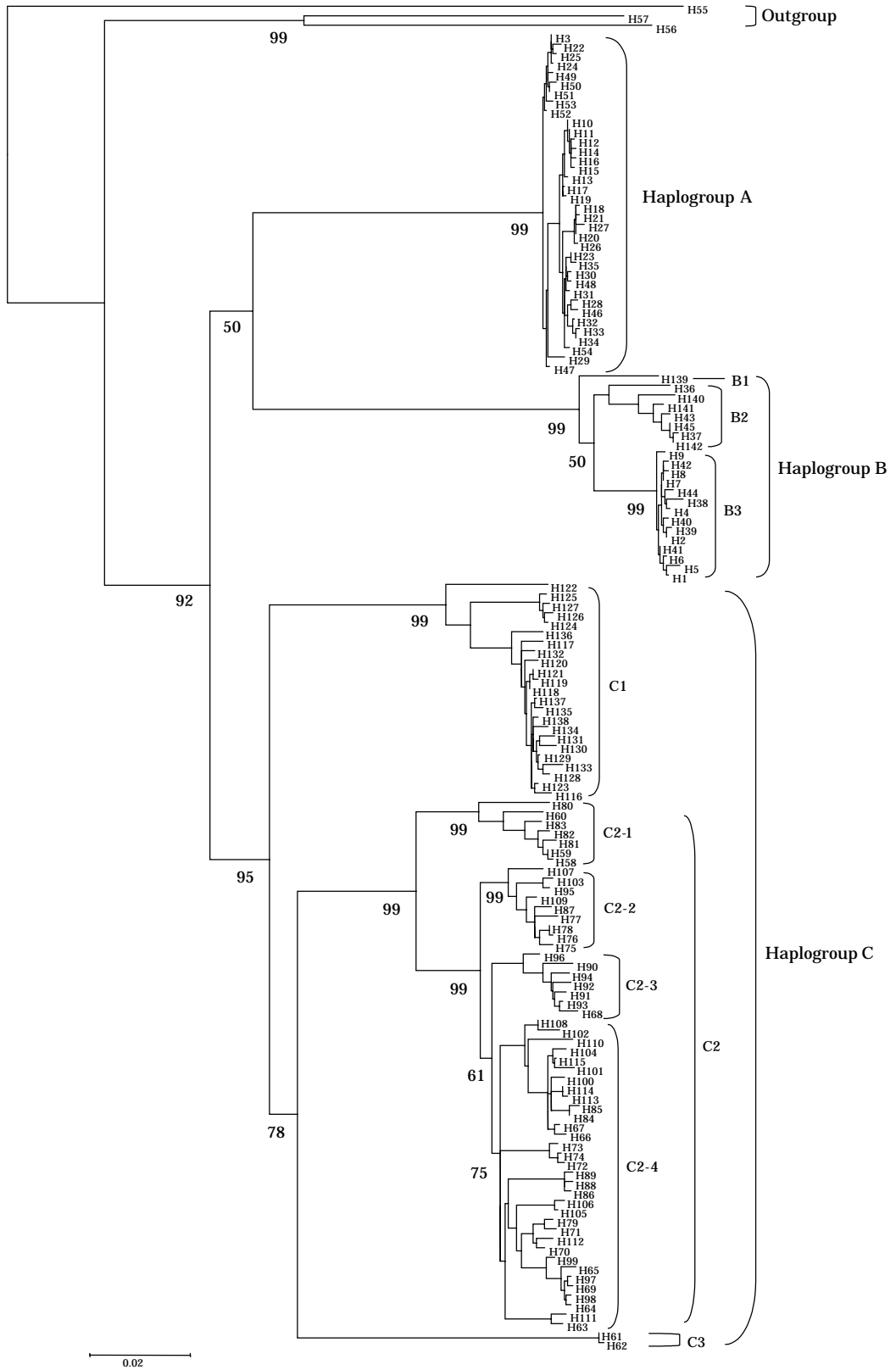


Fig. 1. The Phylogenetic tree of haplotypes in the *O. latipes* based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequence. Name of each haplogroup is as shown in the Table 1. Numbers below the branches are bootstrap values based on 100 bootstrap replicates. Bar indicates nucleotide substitution rate per site.

Table 1. The localities and haplogroups of *Oryzias latipes* examined in this study

Collection site	Haplotype	Haplogroup	GenBank accession number
KOREA			
Jungsu-am valley, Yosu, Jeollanam-do	H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16	A	Present study
Lake Jinyang, Jinju, Gyeongsangnam-do	H17, H18, H19, H20, H21	A	Present study
Geumnam, Hadong, Gyeongsangnam-do	H47	A	AB100936
Jinjeon, Changwon, Gyeongsangnam-do	H46	A	AB100937
Woopo swamp, Changnyeong, Gyeongsangnam-do	H28, H29, H30	A	Present study
Sokcho, Gangwon-do	H54	A	AB084750
Miryang river, Miryang, Gyeongsangnam-do	H35	A	Present study
Sunyu, Gunsan, Jeollabuk-do	H22, H23, H24	A	Present study
Mt. Yong-un, Unbong, Namwon, Jeollabuk-do	H25, H26, H27, H20	A	Present study AB100935
Haenam, Haenam, Jeollanam-do	H50	A	AB100931
Seongyeon, Seosan, Chungcheongnam-do	H53	A	AB100928
Byonsan, Buan, Jeollabuk-do	H51	A	AB100930
Jinseo, Buan, Jeollabuk-do	H49	A	AB100932
Jisan, Jindo, Jeollanam-do	H52	A	AB100929
Nakdong river, Gimhae, Gyeongsangnam-do	H31, H32, H33, H34	A	Present study
Duwall river, Baiku, Gymje, Jeollabuk-do	H43	B2	Present study
Hampyeong, Hampyeong, Jeollanam-do	H37	B2	AB100950
Dashi, Naju, Jeollanam-do	H142	B2	AB100939
Shinpyeong, Imsil, Jeollabuk-do	H45	B2	AB100938
Lake Asan, Paengseong, Pyeongtaek, Gyeonggi-do	H1, H2, H4, H5, H6, H7, H8, H9 H3	B3 A	Present study
Paltan, Hwaseong, Gyeonggi-do	H39 H48	B3 A	AB100948 AB100933
Oseong, Pyongtaek, Gyeonggi-do	H40	B3	AB100947
Daeseo, Janghowon, Icheon, Gyeonggi-do	H44	B3	AB100943
Dangjin, Danjin, Chungcheongnam-do	H38	B3	AB100949
Seokmo, Samsan, Gyeonggi-do	H7	B3	AB084751
Guhang, Hongseong, Chungcheongnam-do	H41	B3	AB100946
Daebu, Ongjin, Gyeonggi-do	H42	B3	AB100945
CHINA			
Kunming	H139	B1	AB100942
Ilan	H36	B2	AB100951
Shanghai	H140	B2	AB100941
Beijing	H141	B2	AB100940
JAPAN			
Koriyama, Fukushima Pref.	H138	C1	AB084670
Arakawa, Niigata Pref.	H137	C1	AB084671
Niigata, Niigata Pref.	H129	C1	AB084679
	H130 H133		AB084675 AB084678
Higashidori, Amori Pref.	H123	C1	AB084685
Shinjo, Yamagata Pref.	H135	C1	AB084673
	H118		AB084690
Maizuru, Kyoto Pref.	H119	C1	AB084689
	H121		AB084687
Yamagata, Yamagata Pref.	H131	C1	AB084677
Yuwa, Akita Pref.	H120	C1	AB084688
Noshiro, Akita Pref.	H134	C1	AB084674

Table 1. Continued

Collection site	Haplotype	Haplogroup	GenBank accession number
Kamiich, Toyama Pref.	H116	C1	AB084692
Tsuruoka, Yamagata Pref.	H132	C1	AB084676
Inawashiro, Fukushima Pref.	H128	C1	AB084680
Ojiya, Niigata Pref.	H117	C1	AB084691
Obama, Fukui Pref.	H136	C1	AB084672
Kanazawa, Ishikawa Pref.	H125	C1	AB084683
Nanao, Ishikawa Pref.	H127	C1	AB084681
Awara, Fukui Pref.	H124 H126	C1	AB084682 AB084684
Toyooka, Hyogo Pref.	H122	C1	AB084686
Nago, Okinawa Pref.	H59	C2-1	AB094504
Gushikami, Okinawa Pref.	H59	C2-1	AB094505
Mageshima, Miyazaki Pref.	H59	C2-1	AB094506
Kikai, Kagashima Pref.	H58	C2-1	AB094507
Sendai, Kagoshima Pref.	H82	C2-1	AB084728
Kamikoshiki, Kagoshima Pref.	H81	C2-1	AB084729
Kazusa, Nagasaki Pref.	H83	C2-1	AB084727
Yamato, Fukuoka Pref.	H60	C2-1	AB094503
Sasebo, Nagasaki Pref.	H80	C2-1	AB084730
Tango, Kyoto Pref.	H78	C2-2	AB084732
Omiya, Kyoto Pref.	H76	C2-2	AB084734
Iwami, Tottori Pref.	H87	C2-2	AB084723
Takeno, Hyogo Pref.	H75	C2-2	AB084735
Tamagawa, Yamaguchi Pref.	H109	C2-2	AB084700
Kasumi, Hyogo Pref.	H77	C2-2	AB084733
Kumihama, Kyoto Pref.	H95	C2-2	AB084714
	H103	C2-2	AB084706
	H105	C2-4	AB084702
Yonago, Tottori Pref.	H107	C2-2	AB084702
Hofu, Yamaguchi Pref.	H96	C2-3	AB084713
Ashibe, Nagasaki Pref.	H90	C2-3	AB084720
Shimonoseki, Yamaguchi Pref.	H92	C2-3	AB084718
Hamasaka, Hyogo, Pref.	H68	C2-3	AB084742
Munakata, Fukuoka Pref.	H91	C2-3	AB084719
Buzen, Fukuoka Pref.	H94	C2-3	AB084715
Kitaku, Tokyo Pref.	H93	C2-3	AB084716
Maebashi, Gunma Pref.	H114	C2-4	AB084693
Yoshmi, Saitama Pref.	H114	C2-4	AB084695
Menuma, Saitama Pref.	H113	C2-4	AB084696
Seto, Okayama Pref.	H115	C2-4	AB084694
Tanba, Kyoto Pref.	H67	C2-4	AB084743
Hikigawa, Wakayama Pref.	H100	C2-4	AB084709
Izumi Osaka Pref.	H104	C2-4	AB084705
Himeji, Hyogo Pref.	H101	C2-4	AB084708
Tannan, Hyogo Pref.	H66	C2-4	AB084744
Hikone, Shiga Pref.	H85	C2-4	AB084725
Katata Shiga Pref.	H84	C2-4	AB084726
Miyazaki, Miyazaki Pref.	H108	C2-4	AB084701
Nakatane, Kagashima Pref.	H102	C2-4	AB084707
Kainan, Tokushima. Pref.	H110	C2-4	AB084699

Table 1. Continued

Collection site	Haplotype	Haplogroup	GenBank accession number
Kumano, Mie Pref.	H73	C2-4	AB084737
	H64		AB084746
Shingu, Wakayama Pref.	H72	C2-4	AB084738
	H74		AB084736
Susaki, Kochi Pref.	H111	C2-4	AB084698
Nakamura, Kochi Pref.	H63	C2-4	AB084747
Mishima, Shizuoka Pref.	H89	C2-4	AB084724
Fuji, Shizuoka Pref.	H88	C2-4	AB084722
Shizuoka, Shizuoka Pref.	H86	C2-4	AB084724
Hongu, Wakayama Pref.	H98	C2-4	AB084711
Saori, Aichi Pref.	H97	C2-4	AB084712
Setagayaku, Tokyo Pref.	H69	C2-4	AB084741
Hashima, Gifu Pref.	H65	C2-4	AB084745
Mito, Ibaraki Pref.	H99	C2-4	AB084710
Iwata, Shizuoka Pref.	H106	C2-4	AB084703
Tsu, Mie Pref.	H112	C2-4	AB084697
Nagareyama, Chiba Pref.	H70	C2-4	AB084740
Futtsu, Chiba Pref.	H71	C2-4	AB084739
Odawara, Kanagawa Pref.	H79	C2-4	AB084731
	H62	C3	AB084717
Mooka, Tochigi Pref.	H93	C2-3	AB084748
	H61	C3	AB084749
<i>Oryzias mekongensis</i>	H55	outgroup	AB084756
<i>O. luzonensis</i>	H56	outgroup	AB084755
<i>O. curvinotus</i>	H57	outgroup	AB084754

구에서 *Oryzias*속의 진화속도를 2.8%/myr로 추정된 바 (Takehana *et al.*, 2004)이다. 2.8%/myr의 진화속도를 본 연구결과인 haplogroup의 계통수에 적용한 결과 한국과 중국에 분포하고 있는 haplogroup A, B와 일본에 분포하는 haplogroup C는 약 535만년전에 분화된 것으로 추정된다. 또한, 한국의 송사리는 약 528만년전에 태백산맥과 소백산맥을 경계로 남한아에 주로 분포하는 haplogroup A와 서한아에 분포하는 haplogroup B로 나누어졌으며, 약 121만년전에 중국 내륙에 분포하는 subhaplogroup B1이 분지되었고, 그 후 약 107만년전에 차령산맥을 경계로 이남의 subhaplogroup B2와 이북의 B3로 분지되었다고 추정된다. 이러한 결과는 선신세 후기부터 있었던 빙하기 때 해수면의 변화(김 등, 2005)와 관련성이 있다. 한편, haplogroup A에 속하는 일부 haplotype들은 남한아의 전역에 분포함과 동시에 서한아에서 haplogroup B와 같이 분포하는데, 이러한 결과는 haplogroup B에 속하는 송사리가 해수의 염분농도에 내성이 없는데 비해, haplogroup A에 속하는 송사리는 해수의 염분농도에 내성을 가지고 있어 비교적 최근에 서해연안을 따라 서한아로 이동하여 haplogroup B의 분포

영역과 겹치게 된 것으로 보인다(Takehana *et al.*, 2004; 김 등, 2005). 한국 내에서의 haplogroup의 지리적 분포를 분석한 결과 haplogroup B가 서한아에만 분포한다는 점과 차령산맥을 기준으로 남, 북으로 subhaplogroup B2와 B3로 나누어진다는 점과 소백산맥이북으로 subhaplogroup B2의 분포가 북쪽으로 제한된다는 점은 미토콘드리아의 control region의 유전자 염기서열 데이터를 이용하여 nested haplotype network를 작성하여 분석한 결과(Kang *et al.*, 2005)와 거의 일치하였다. 한편 haplogroup C는 C1, C2, C3의 subhaplogroup으로 나누어지고, subhaplogroup C2는 다시 C2-1~C2-4의 4개의 작은 group들로 다시 나뉘는데, 이 결과는 Takehana *et al.* (2003, 2004)의 선행 연구에서 mitotype의 계통유연관계와 거의 일치한다. 다만 mitotype으로 구분하여 묶는 것은 실험특성상 계통적으로 가까운 서로 다른 haplotype을 같은 mitotype으로 묶는 경우가 종종 있기 때문에 Takehana의 경우 같은 지역에서 채집된 sample을 모두 염기서열 분석을 하여 haplotype으로 나누었다면 일본의 송사리의 지역별 변이패턴의 분석결과가 좀 더 섬세하게 나왔으리라 생각한다.

본 연구를 통해 한국, 중국, 일본에 이르는 송사리의 분포경로를 어느 정도 유추해 볼 수 있게 되었다. 남한에서 송사리는 *cyt b*의 유전형의 변이를 볼 때 haplogroup A와 haplogroup B로 뚜렷이 구분됨이 확인되었으며, 지리적으로 haplotype의 분포가 달라짐이 확인되어 이들의 분화가 지리적, 환경적 영향에 기인한 것으로 보인다. 그러나 한반도 내에서 유전자의 다양성과 지리적인 관계를 확실히 규명하기 위해선 폭넓은 지역에서 많은 개체를 채집하여 분석할 필요성이 있다. 향후 북한 지방과 만주를 포함한 중국에서 표본 채집이 되면 동북아 전역에 걸친 송사리의 지역적 분화양상을 추적할 수 있을 것이다.

적 요

본 연구에서는 극동지역 *Oryzias latipes*의 지리적 분포와 미토콘드리아 cytochrome *b* (*cyt b*)의 유전적 다양성과의 관계를 밝히기 위해 전국 9개의 지역에서 53개체를 채집하여 얻은 *cyt b* 염기서열과 GenBank에 등록되어있던 117개의 데이터를 종합하여 이를 142개의 haplotype으로 새로이 변환하였고, 이의 계통수를 작성·분석하였다. 분석 결과 극동지역 송사리는 3개의 haplogroup (A, B, C)으로 나뉘어지며, haplogroup A는 남한의 남한아지역을 중심으로 남한 전역에 분포하며, haplogroup B는 중국과 남한의 서한아지역에 걸쳐 분포하며, haplogroup C는 일본에만 분포하였다. Haplogroup A는 haplogroup B와 한반도내에서 지리적으로 가깝게 분포하고 있으나 계통적으로는 상당한 거리를 가지고 뚜렷하게 구별되었다. haplotype의 분지양상은 선행된 연구결과와 거의 일치하였다.

사 사

본 연구는 환경부 차세대 핵심 환경기술 개발사업(위해성 평가관리)과 한국생명공학연구원 기관고유사업의 일환으로 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- Cantatore, P., M. Roberti, G. Pesole, A. Ludovico, F. Milella, M.M. Gadaleta and C. Saccone. 1994. Evolutionary analysis of cytochrome *b* sequences in some Perciformes: evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *J. Mol. Evol.*, 39 : 589~597.
- Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 41 : 95~98.
- Harada, S., S.R. Joen, 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.
- Hardman, M. 2005. The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences; the search for the ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 37 : 700~720.
- Kang, T.W., E.H. Lee, M.S. Kim, S.G. Paik, S. Kim and C.B. Kim. 2005. Molecular phylogeny and geography of Korean medaka fish (*Oryzias latipes*). *Mol. Cells.*, 20 : 151~156.
- Kim, I.S. and S.Y. Kim. 1993. Interspecific hybridization between *Oryzias sinensis* and *O. latipes* from Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 5 : 113~121.
- Kim, I.S. and E.H. Lee. 1992. New records of rice fish, *Oryzias latipes sinensis* (Pisces, Oryziidae) from Korea. *Korean J. Syst. Zool.*, 8 : 177~182.
- Kim, I.S. and K.C. Moon. 1987. The karyotype of a rice fish, *Oryzias latipes* from southern Korea. *Korean J. Zool.*, 30 : 379~386.
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. in Bioinform.*, 5 : 150~163.
- Matsuda, 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.
- Orti, G., M.A. Bell, T.E. Reimchen and A. Meyer. 1994. Global survey of mitochondrial DNA sequences in the threespine stickleback; evidence for recent migrations. *Evolution*, 48 : 608~622.
- Pepe, T., M. Trotta, I. di Marco, P. Cennamo, A. Anastasio and M.L. Cortesi. 2005. Mitochondrial cytochrome *b* DNA sequence variations: an approach to fish species identification in processed fish products. *J. Food Prot.*, 68: 421~425.
- Rocha-Olivares, A., R.H. Rosenblatt and R.D. Vetter. 1999. Molecular evolution, systematics, and zoogeography of the rockfish subgenus *Sebastes* (*Sebastes*, Scorpaenidae) based on mitochondrial cytochrome *b* and control region sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 11: 441~458.

- Rozas, J. and R. Rozas. 1999. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 15: 174~175.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4 : 406~425.
- Sakaizumi, M. and S.R. Jeon. 1987. Two divergent groups in the wild populations of medaka *Oizias latipes* (Pisces; Oryzitiidae) in Korea. *Korean J. Lim.*, 20 : 13~20.
- Takehana, Y., N. Nagai, M. Matsuda, K. Tsuchiya and M. Sakaizumi. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild populations of medaka, *Oryzias latipes*. *Zoolog. Sci.*, 20 : 1279~1291.
- Takehana, Y., N. Nagai, M. Matsuda, K. Tsuchiya and M. Sakaizumi. 2004. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in wild populations of medaka (*Oryzias latipes*) from Korea and China. *Zoolog. Sci.*, 21 : 483~491.
- Thompson, J.D., T.J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D.G. Higgins. 1997. The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.*, 25 : 4876~4882.
- Uwa, H. and S.R. Jeon. 1987. Karyotypes in two divergent groups of a ricefish, *Oryzias latipes*, from Korea. *Korean J. Lim.*, 20 : 139~147.
- 김익수 · 최 윤 · 이충렬 · 이용주 · 김병직 · 김지현. 2005. 원색 한국어류대도감. 교학사, pp. 1~616.

Received: December 27, 2005
Accepted: March 6, 2006