

碩士學位論文

한국산 양볼락과(Family Scorpaenidae) 어류의  
분자계통진화적 연구



濟州大學校大學院

海洋生物工學科

吳常圭

2005年 12月

한국산 양불락과(Family Scorpaenidae) 어류의  
분자계통진화적 연구

指導教授 宋 春 福

吳 常 圭

이 論文을 理學碩士 論文으로 提出함



吳常圭의 理學碩士 論文을 認准함

審査委員長 허 문 수 (인)

委 員 전 유 진 (인)

委 員 송 춘 복 (인)

濟州大學校 大學院

2005年 12月

# Molecular Phylogeny of Scorpaenid fishes In Korea

Sang-Gyu Oh

(Supervised by professor Choon Bok Song)



A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for  
the degree of Master of science

Department of Marine Biotechnology  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

Dec. 2005

# 목차

List of Table.....	i
List of Figure.....	ii
Abstract .....	iii
I. 서론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	3
1. 시료 .....	3
2. Total DNA 추출 .....	3
3. PCR 증폭 .....	5
4. PCR 산물의 cloning .....	7
5. 염기서열 결정 및 자료 분석 .....	8
6. 형태형질 측정 .....	8
III. 결과 .....	9
1. 염기조성, 구성편차 및 염기치환 .....	9
2. 염기서열의 진화 .....	13
3. 포화도 분석 .....	14
4. 계통분석 및 형태형질 측정.....	17
IV. 고찰 .....	31
V. 요약 .....	35
VI. 참고 문헌 .....	37
감사의 글 .....	42

## List of Tables

Table 1. List of species, common name and collection locality of scorpaenidae fishes to be examined.

Table 2. Primers used for PCR amplification and sequencing.

Table 3. Base composition observed in the mitochondrial cytochrome *b* gene of scorpaenid fishes and outgroups.

Table 4. The number of identical pairs, transitional pairs, transversional pairs, and the ratio of transition to transversion mutations.

Table 5. Amino acid differences among the cytochrome *b* of *Sebastes pachycephalus* color variants.

Table 6. Genetic differences (p-distance) among the four types of *S. pachycephalus*.

Table 7. Measurement of meristic characters observed in *S. pachycephalus*.

Table 8. Genetic differences between *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

Table 9. Measurement of meristic characters observed in *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

Table 10. Genetic differences among *S. marroatus*, *S. albofasciatus* and *S. tertius*.

## List of Figure

Fig. 1. Relationships between the observed mutations, transition(TS) transversion(TV), and Kimura 2-parameter observed either at first codon position (A) or at second codon position (B).

Fig. 2. Relationships between the observed mutations, transition (TS) and transversion (TV), and Kimura 2-parameter observed either at third codon position (A) or at all codon position (B).

Fig. 3. Neighbor-joining (NJ) tree based on cytochrome *b* DNA sequences obtained from 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroup species.

Fig. 4. 50% majority-rule consensus tree with 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups, recovered from *cytb* sequences according to the minimum evolution. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

Fig. 5. 50% majority-rule consensus tree with 27 species of scorpaenidae fishes individual and 3 outgroups, recovered from *cytb* sequences according to the neighbor-joining. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

Fig. 6. 50% majority-rule consensus tree with 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups, recovered from *cytb* sequences according to the maximum parsimony. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

Fig 7. NJ tree with *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

Fig 8. NJ tree with *S. marmoratus*, *S. albofasciatus* and *S. tertius*.

## Abstract

The scorpaenidae fishes belong to Order Scorpaeniformes which consist of about 56 genera, 400 species in sea of world and 19 genera, 43 species in Korea and were important for commercial fisheries. The taxonomics of this fishes have been difficult because of morphological variation in intraspecies and between species. A few phylogenetic studies on their relationships have been conducted so far. Thus, this study has performed to understand phylogenetic relationships among scorpaenidae fishes using mitochondrial cytochrome *b* DNA sequences. Morphological differences between populations were also investigated to understand how much genetic differences can affect the morphology.

The complete cytochrome *b* DNA sequences were 1,141 bp in length, which began with the start codon ATG and ended with the stop codon TAA. Also, it was inferred to have an ORF of 380 amino acids encoding a subunit of the cytochrome *bc*<sub>1</sub> complex.

The codon composition was a global deficit of guanine (G: 16.1%) and approximately equal frequencies of the other three nucleotides (A: 29.6%, C: 30.0%, T:24.4%)

With 27 species 65 individuals of scorpaenidae fishes and 3 outgroup species, phylogenetic trees were constructed based on the distance-based method. As a result, the monophyly was inferred in the genus scorpaenidae. The first specialization fishes are *E. pottii*, *H. rubripinnis*, *I. japonicus* and *C. miltibarbus*. Scorpaenidae fishes can be divided into five genetically distinct populations (monophyletic group or clade in phylogenetic tree). Clade 1 are *Sebastes pachycephalus*, *Sebastes longispinis*, *Sebastes hubbsi*, *Sebastes oblongus*, *Sebastes koreanus*, *Sebastes schlegeli*, *Sebastes inermis*, *Sebastes thompsoni*, *Sebastes joyneri*, *Sebastes malanops*, *Sebastes maliger*. clade 2 are *Sebastiscus marrotatus*, *Sebastiscus albofasciatus*, *Sebastiscus tertius*. Clade 3 are *Dendrochirus biocellatus*, *Pterois lunulata*, *Dendrochirus branchypterus*. Clade 4 are *Scorpaena izensis*, *Scorpaenopsis*

*cirrhusa*, *Scorpaendes littoralis*, *Scorpaena miostoma*, *Scorpaena onaria*.  
Clade 5 are *Erisphex epottii*, *Hypodytes rubripinnis*, *Inimicus japonicus*,  
*Choridatylus multibarbus*.



## I. 서론

양볼락과(Family Scorpaenidae) 어류는 쏨뱅이목(Order Scorpaeniformes)에 속하는 어류로 전세계적으로 약 56속(Genus) 400종(Species)이 알려져 있으며, 우리나라에는 19속(Genus) 43종(Species)이 분포하고 있다(Kim, 2005).

대부분의 양볼락과 어류는 북태평양 부근에 나타나며, 우리 나라를 비롯하여 일본 부근의 중앙아시아와 북아메리카 중부의 캘리포니아 부근에서 집중적으로 서식을 한다(Barsukov, 1981). 또한 서식장소는 연안의 얕은 해초 지대나 깊게는 약 500 m까지 깊은 바위지대로 매우 광범위하게 분포하고 있고(Eschmeryer and Herald, 1983), 대부분 난태생 어류이지만 아직까지 산란 형태에 대해 아직 알려져 있지 않다.

볼락과 어류는 경제성이 매우 높은 양식대상종으로 알려져 있다. 계통학연구에 있어 중간 형태의 유사한 점이 많고, 종내에서도 형태적 변이가 많음에도 불구하고 분류학적 재검토가 부족했기 때문에 속명변경, 동종 및 이종 등의 문제로 분류학적 혼란이 많다(Kendall and Orr, 2001).

양볼락과에 관한 연구는 볼락속의 mitochondrial cytochrome *b* 유전자 서열의 진화적인 측면과 *Sebastomus* 아속의 분류학적 측면에 관한 연구(Rocha-Olivares et al., 1998), mitochondrial DNA 염기서열을 이용한 Lionfish의 분자계통진화적 연구(Kochzius et al., 2002), *Sebastes* 속과 sebastinae 아과에 대한 종형성에 관한 계통발생학적 연구(Kai et al., 2003), 조피볼락의 complete mitochondrial genome에 관한 연구(Kim and Lee, 2004) 등이 있다.

우리나라에 서식하는 양볼락과 어류는 1977년에는 8속(Genus) 27종(Species)이 보고되었지만(Jung, 1977) 이후 여러 종류의 미기록종이 보고되면서 현재는 19속(Genus) 43종(Species)이 보고되고 있지만(Kim, 2005), 아직 우리 나라에서 양볼락과에 관한 연구는 1992년 Kim에 의해 양볼락과에 대한 분포와 검색표만 제시되었을 뿐(Kim et al., 1992) 계통학적 연구는 아직까지 진행된 바 없다. 특히 cytochrome *b* 유전자를 이용한 양볼락과에 관한 연구는 외국의 종을 대상으로 한 소수의 연구자에 의해 연구(Rocha-Olivares et al., 1998; Kochzius et al., 2002)가 진행된 바가 있다. Mitochondrial DNA는 핵 유전자와 다른 독립된 자체의 유전자 서열을 갖고 있으며, 핵 유전자에 비해 상대적으로 빠른 속도로 진화하

고 모계유전으로 인해 일반적으로 유전자 재조합이 일어나지 않기 때문에 계통분류학 연구에 많은 이점을 가지고 있다. 이러한 mitochondrial DNA는 16-17kb 크기(Inoue et al., 2001)로서 그 구조는 인간이나 쥐의 경우 하나의 control region이 22 tRNA와 13개의 단백질로 구성되어 있다(Anderson et al., 1981; Bibb et al., 1981) 핵 DNA보다 작고 단순한 구조이며 mitochondrial DNA 내의 cytochrome *b* (Song et al., 1998), rRNA (Apostolidis et al., 2001), control region (Alarcón et al., 2004)의 DNA 염기서열은 계통 분류학적 형질로 사용되고 있다. 이들 중 cytochrome *b*는 모든 척추동물의 mitochondrial DNA 내의 tRNA<sup>Glu</sup>와 tRNA<sup>Thr</sup>사이에서 존재하며 염기서열 또한 보존적 영역과 변이영역을 동시에 보유하고 있을 뿐만 아니라 척추동물에서 가장 광범위하게 알려진 유전자이며(Irwin, 1991; Johns and Avise, 1998), 이 유전자의 단백질 산물은 구조와 기능 및 진화의 측면에서 가장 잘 연구된 분자들 중의 하나이다(Espoti et al., 1993). 이러한 이점을 가지고 있기 때문에 이 유전자는 계통분류학적 연구 및 종내 변이의 연구에 이용된다.

따라서, 본 연구에서는 아직까지 정립되어 있지 않은 한국산 양볼락과 어류의 분자계통진화적 유연관계를 규명하기 위하여 참조분류군(otugroup)으로 사용한 돌팍망둑, 노래미와 쥐노래미의 3종을 포함하여 전체 30종, 68개체를 대상으로 하였다. 이들 전체의 cytochrome *b* DNA sequence 자료를 이용하여 한국산 양볼락과 어류의 속간 중간 분자진화적인 유연관계를 규명하였고, 일본에서 채색 패턴에 따라 아종으로 두고 있는 개볼락에 대해 이들 사이에 진화적관계를 조사하였으며, 더 나아가 현재에 사용하고 있는 형태형질과 비교하여 분류학적으로 이들 어류 사이의 관계 설정에 있어서 아종의 사용이 합당한지의 문제를 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료

연구에 사용된 총 27종 65개체의 양볼락과(Family Scorpaenidae) 어류는 제주 연근해와 여수, 통영, 부산, 미국 등지에서 채집되었다. 특히 체색 패턴이 다른 개볼락의 경우 제주 연근해에서 채집한 19개체와 통영에서 채집한 3개체의 개볼락을 사용하였으며, 흰꼬리볼락의 경우에도 부산과 여수에서 각각 채집되었다. 참조분류군으로는 돌팍망둑, 쥐노래미, 노래미 3종을 사용하였다. 그리고 사용시료의 학명은 Table 1. 에 나타내었다.



### 2. Total DNA 추출

25-50 mg의 간, 기저 근육조직이나 지느러미로부터 Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer Co.)를 이용하여 total DNA 시료를 추출하였다. DNA의 농도는 분광광도계 (Helios  $\beta$ , Unicam Ltd. UK)를 이용하여 260 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였고, DNA의 순도는 분광광도계에서 260 nm와 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 확인하였다.

Table 1. List of species, common name and collection locality of Scorpaenidae fishes to be examined

Scientific name	Abbreviated	Family	Korean or English name	Collection locality
<i>Sebastes pachycephalus</i>	<i>S. pachycephalus</i>	Scorpaenidae	개불락	Jeju and Tong-young
<i>Sebastes hubbsi</i>	<i>S. hubbsi</i>	Scorpaenidae	우럭불락	Jeju
<i>Sebastes oblongus</i>	<i>S. oblongus</i>	Scorpaenidae	황정불락	Yeosu
<i>Sebastes schelegeli</i>	<i>S. schelegeli</i>	Scorpaenidae	조피불락	Jeju
<i>Sebastes inermis</i>	<i>S. inermis</i>	Scorpaenidae	불락	Busan
<i>Sebastes thompsoni</i>	<i>S. thompsoni</i>	Scorpaenidae	불불락	Jeju
<i>Sebastes joyneri</i>	<i>S. joyneri</i>	Scorpaenidae	도화불락	Jeju
<i>Sebastes longispinis</i>	<i>S. longispinis</i>	Scorpaenidae	흰꼬리불락	Pusan and Yeosu
<i>Sebastes koreanus</i>	<i>S. koreanus</i>	Scorpaenidae	황해불락	Yeosu
<i>Sebastes melanops</i>	<i>S. melanops</i>	Scorpaenidae	Stack rockfish	Oregon, USA
<i>Sebastes maliger</i>	<i>S. maliger</i>	Scorpaenidae	Quillback rockfish	Oregon, USA
<i>Sebastiscus marmoratus</i>	<i>S. marmoratus</i>	Scorpaenidae	솜뱅이	Jeju
<i>Sebastiscus tertius</i>	<i>S. tertius</i>	Scorpaenidae	붉은 솜뱅이	Jeju
<i>Sebastiscus albofasciatus</i>	<i>S. albofasciatus</i>	Scorpaenidae	붉감팽	Jeju
<i>Scorpaena onaria</i>	<i>S. onaria</i>	Scorpaenidae	정감팽	Jeju
<i>Scorpaena miostoma</i>	<i>S. miostoma</i>	Scorpaenidae	주굴감팽	Jeju
<i>Scorpaena izensis</i>	<i>S. izensis</i>	Scorpaenidae	살살치	Jeju
<i>Scorpaenodes littoralis</i>	<i>S. littoralis</i>	Scorpaenidae	주홍감팽	Jeju
<i>Scorpaenopsis cirrhosa</i>	<i>S. cirrhosa</i>	Scorpaenidae	씩감팽	Jeju
<i>Pterois lunulata</i>	<i>P. lunulata</i>	Scorpaenidae	술배감팽	Jeju
<i>Hellcolenus hilgendorfi</i>	<i>H. hilgendorfi</i>	Scorpaenidae	홍감팽	Jeju
<i>Dendrochirus branchypterus</i>	<i>D. branchypterus</i>	Scorpaenidae	Shortfin lionfish	Petshop,OR
<i>Dendrochirus biocellatus</i>	<i>D. biocellatus</i>	Scorpaenidae		Petshop,OR
<i>Hypodytes rubripinnis</i>	<i>H. rubripinnis</i>	Scorpaenidae	미역치	Jeju
<i>Inimicus japonicus</i>	<i>I. japonicus</i>	Scorpaenidae	쑤기미	Jeju
<i>Choridatylus multibarbus</i>	<i>C. multibarbus</i>	Scorpaenidae	Orangebanded stingfish	Petshop,OR
<i>Erisphex epottii</i>	<i>E. epottii</i>	Aploactinidae	풀미역치	Jeju
<i>Hexagrammos otakii</i> *	<i>H. otakii</i>	Hexagrammidae	취노래미	Jeju
<i>Agrammus agrammus</i> *	<i>A. agrammus</i>	Hexagrammidae	노래미	Jeju
<i>Pseudoblennius percoides</i> *	<i>P. percoides</i>	Cottidae	들딱망둑	Jeju

\* indicated outgroup species

### 3. PCR 증폭

Cytochrome *b* 유전자의 주변부 tRNA 서열에 기초하여 디자인된 forward primer (Glu-F, Glu-F1, Glu-F2, Glu-F3)와 reverse primer (Thr-R1, Pro-R)를 이용하여 PCR (Polymerase Chain Reaction)을 통해 전체 cytochrome *b* 유전자를 증폭하였다(Table 2).

PCR 반응은 약 0.1-0.3  $\mu\text{g}$ 의 genomic DNA 5  $\mu\text{l}$ , 10 $\mu\text{M}$ 의 forward primer 와 reverse primer 각각 5  $\mu\text{l}$ , 10 $\times$  reaction buffer 5 $\mu\text{l}$ , 2.5 mM의 각각의 5  $\mu\text{l}$ 와 1-2 unit의 Ex Taq polymerase (Takara Co.)와 멸균된 증류수를 포함하여 최종 volume이 50  $\mu\text{l}$ 가 되도록 한 후에 PCR 반응 시 반응물의 증발을 막기 위해 1-2 방울의 mineral oil을 첨가하여, Programmable Thermo Controller (RTC-100, MJ Research Inc.)에서 반응시켰다. PCR 반응 주기는 최초 denaturing step을 위하여 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2분 동안 1회 반응시키고, 이어서 반복주기로서 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 45초, primer annealing을 위해 43 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분, primer extension을 위하여 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분 30초씩 총 30회의 반복주기를 주었고, 최종적으로 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 7분 동안 마지막 extension을 실시하였다. 1  $\times$  TAE buffer에 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ethidium bromide가 첨가된 0.8% agarose (Agarose LE, Promega Co.) gel에 PCR 증폭 산물과 1-kb DNA ladder (Takara Co.)를 동시에 loading하여 밴드 크기를 비교한 후 유전자를 확인하였다.

Table 2. Primers used for PCR amplification and sequencing

Primer name	Sequence	Target	Direction
Glu-F <sup>a</sup>	5' -GTT GTH RTC CAA CTA CAA RAA- 3'	<i>cytb</i>	Forward
Glu-F1 <sup>a</sup>	5' -CCA CCG TTG TYR TTC AAC TAC A- 3'	<i>cytb</i>	Forward
Glu-F2 <sup>a</sup>	5' -GTT GTY RTT CAA CTA CAR AAA C- 3'	<i>cytb</i>	Forward
Glu-F3 <sup>a</sup>	5' -ACC ACC GTT GTH NTT CAA CTA- 3'	<i>cytb</i>	Forward
Thr-R1 <sup>a</sup>	5' -CCG RAG CTA CTA RKG C- 3'	<i>cytb</i>	Reverse
Pro-R <sup>a</sup>	5' -TAG ATT YYT RGC TTT GGC AG- 3'	<i>cytb</i>	Reverse
SK <sup>b</sup>	5' -CGC TCT AGA ACT AGT GGA TC- 3'		
T7 <sup>b</sup>	5' -GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG C- 3'		

a: Primer designed for PCR amplification.

b: Sequencing primer designed for the pBluescript phagemid vector.



## 4. PCR 산물의 Cloning

PCR 산물의 cloning을 위한 숙주와 벡터로서 각각 대장균의 XL1-blue 균주와 pBluescript II SK(-) (Stratagene Co.)를 사용하였다.

37°C에서 2시간 동안 제한효소 *Hinc*II를 이용하여 2.5  $\mu$ g의 pBluescript II SK(-) 벡터를 절단한 후에, High Pure Product Purification Kit (Roche Molecular Biochemicals Co.)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 벡터를 정제하였다.

정제된 벡터는 agarose gel 상에서 그 농도를 측정하였으며, ligation은 *Hinc* II로 절단된 1  $\mu$ l의 pBluescript II SK(-) 벡터, 3  $\mu$ l의 insert DNA, 1  $\mu$ l의 10 $\times$ ligation buffer와 1 unit의 T4 DNA ligase (Takara Co.)를 넣고 초순수 증류수를 사용하여 최종 volume 20  $\mu$ l가 되도록 한 후에 16°C에서 18시간 동안 반응시켰다. Ligation된 산물을 XL1-blue competent cell과 함께 새로운 eppendorf tube에 넣어서 42°C에서 1분 30초 동안 heat shock을 가한 후에, 항온수조에서 37°C, 30분 동안 그 혼합물을 배양하였다.

형질전환된 cell은 50 mg/ml ampicillin, 2% X-gal과 1M IPTG가 함유된 LB (Luria-Bertani) plate에 도말하여 37°C에서 16시간 배양하였다. 배지에서 white colony를 선별하여 ampicillin이 들어있는 LB broth 배지에서(37°C) 항온교반기(Shaking Incubator)를 이용하여 16시간 배양한 후 Standard Mini Plasmid Isolation Kit (Mobio Inc.)를 이용하여 plasmid DNA를 분리하였다. Plasmid DNA를 0.8% agarose gel에 loading하여 cloning과 형질전환이 성공적으로 이루어졌는지 확인하기 위해 1kb-ladder와 절단되지 않은 pBluescript II SK(-)의 밴드와 함께 비교하였다.

## 5. 염기서열 결정 및 자료 분석

Cloning을 통해 얻은 재조합 plasmid DNA를 시료의 sequencing을 위해 마크로젠에 의뢰하여 실시하였다. 염기서열 결정시 T3와 T7 primer를 사용하였으며, 이를 통해 얻은 자료는 DNAssist (version 2.2) 프로그램을 이용하여 다중 정렬하였다. 정렬된 자료는 육안으로 확인하여 보정하였다.

염기조성, 상호비교(pairwise comparison)를 위한 염기치환 양상, codon usage 및 각 개체 · 개체군의 유전자 차이는 MEGA 3.0 (Kumar et al., 2004) 프로그램으로 계산되었다. 각 codon 위치에서  $p$  distance value에 대한 transition과 transversion의 수를 plotting함으로써 포화도(level of saturation)를 추정하였으며, 이를 통해 포화된 자료로부터 유발되는 noise를 방지하기 위해, 모든 분석은 all codon 위치에 있어서의 transition과 transversion을 이용한 자료군으로 분석되었다(Song et al., 1998; Nei and Kumar 2000). Phylogenetic tree는 parsimony 방법으로 작성되었으며, PAUP (version 4.0b8, Swofford, 1998) 프로그램을 이용하였다.

PAUP 프로그램을 통한 parsimony 분석에서 분지도(phylogenetic tree)는 maximum parsimony (Fitch, 1971; MP)에 의하여 작성되었다. 가장 단순한 분지도를 찾기 위하여 parsimony algorithm의 heuristic search option이 사용되었으며, 모든 자료는 동등하게 weighting하여 분석하였다.

생성된 tree 각각의 internal node의 신뢰성을 통계적으로 계산하기 평가하기 위하여 1000회의 bootstrapping (Felsenstein, 1985)을 수행하였다.

## 6. 형태형질 측정

Scorpaenid 어류의 형태형질을 알아보기 위해 계수형질을 측정하였다. 계수형질로 등, 가슴, 배, 뒷지느러미 및 꼬리지느러미의 극조수와 연조수 및 새파수를 계수하였다. 형태형질 조사는 Hubbs and lagler (1964) 및 Nakabo (1993)의 방법을 따랐다.

### III. 결과

#### 1. Cytochrome *b* 유전자의 염기조성, 구성 편차 및 염기치환

양볼락과(Scorpaenidae)어류의 분자계통분석을 위해 사용된 30종 66개체에 대한 cytochrome *b* 유전자의 염기서열이 확인하였다.

그 결과 조사된 이들 미토콘드리아 DNA의 부분적인 순서는 일반적인 척추동물의 유전자 순서인 tRNA<sup>Glu</sup> - Cyt *b* - tRNA<sup>Thr</sup> - tRNA<sup>Pro</sup> 와 동일하였다.

Mitochondrial cytochrome *b* 유전자의 염기서열에 있어서 염기조성과 편차는 Table 3에 나타내었다. 조사결과 전체적으로 낮은 G(Guanine) 염기조성(16.1%)과 거의 균일한 나머지 T(Thymine), C(Cytosine), A(Adenine)의 염기조성(T: 29.6%, C: 29.9%, A: 24.4%)을 보여주고 있다. 그리고 지금까지 연구(Meyer, 1993; Song et al., 1998; Allegrucci et al., 1999)된 어류에서처럼 codon의 첫 번째 위치에서 균일한 염기들에 비하여 G 염기조성이 상대적으로 낮은 값을 보였다(first: 25.3%, second: 14.1%, third: 7.9%). 또한 codon의 첫 번째 위치에서 계산된 편차는 두 번째와 세 번째 위치에서의 편차보다 작았으며(all: 0.122, first: 0.032, second: 0.222, third: 0.283), 이러한 경향은 percid 어류들에서도 보고(all: 0.139, first: 0.045, second: 0.217, third: 0.227; Song et al., 1998)와 대체로 유사하였다. Codon의 두 번째 위치의 T 염기조성과 세 번째 위치의 C 염기조성이 다른 염기보다 높은 값을 나타냈고(T: 40.9%, C: 38.2%), 세 번째 코돈에서 G함량이 다른 염기보다 가장 낮은 값을 보였다(7.8%). 개볼락의 경우 체색 패턴이 다른 3종의 경우 일반 패턴의 경우 T: 29.2%, C: 30.1%, A: 24.7%, G: 16.1%로 나타났고, 붉은 패턴의 경우 T: 29.1%, C: 30.1%, A: 24.7%, G: 16.1%였고, 노란패턴의 경우 T: 29.2%, C: 30.1%, A: 24.7%, G: 16.1%로 일본에서 아종으로 분류하고 있는 체색패턴에 따른 염기조성 차이는 보이지 않았다.

Table 5는 transition과 transversion 변이를 나타낸 것으로써, 첫 번째 코돈 위치에서의 transversion에 대한 transition의 비율은 1.9, 두 번째 코돈 위치에서는 1.5, 세 번째 코돈 위치에서는 1.5가 나타났으며 전체적으로 평균 1.6을 나타냈다. 첫 번째와 두 번째 코돈의 위치보다 세 번째 코돈 위치에서

transition과 transversion이 많이 보였으며 세 번째 코돈 위치에서 transversion보다 transition이 많이 일어난 것을 확인 할 수 있었다.



Table 3. Base composition observed in the mitochondrial cytochrome *b* gene of scorpaenid fishes and out groups

Species	Codon composition															
	All				1st				2nd				3rd			
	T	C	A	G	T1	C1	A1	G1	T2	C2	A2	G2	T3	C3	A3	G3
<i>S. hubbsi</i>	30.9	27.9	25.3	15.9	24.7	26.2	23.0	26.1	40.8	25.0	19.7	14.5	27.2	32.5	33.2	7.0
<i>S. inermis</i>	29.3	29.6	25.8	15.3	24.4	26.5	22.6	26.5	40.8	25.3	19.7	14.2	22.6	37.1	35.0	5.3
<i>S. joyneri</i>	29.5	29.2	25.9	15.4	24.4	26.5	22.6	26.5	40.3	25.8	19.7	14.2	23.9	35.3	35.3	5.5
<i>S. malanops</i>	30.8	28.7	24.8	15.8	25.5	25.2	22.8	26.5	40.3	25.8	20.0	13.9	26.6	35.0	31.6	6.8
<i>S. maliger</i>	29.7	29.5	25.2	15.5	24.7	26.0	22.6	26.8	40.8	25.3	20.0	13.9	23.7	37.4	33.2	5.8
<i>S. oblongus</i>	29.5	29.7	25.4	15.3	24.1	26.8	27.8	21.3	34.5	25.8	21.8	17.9	30.0	36.6	26.6	6.8
<i>S. pachycephalus</i>	29.2	30.1	24.7	16.1	24.4	26.5	22.8	26.2	40.8	25.3	19.7	14.2	22.4	38.4	31.4	7.8
<i>S. pachycephalus</i> -red	29.1	30.1	24.7	16.1	24.4	26.5	22.8	26.3	40.6	25.4	19.7	14.3	22.4	38.3	31.6	7.7
<i>S. pachycephalus</i> -yellow	29.2	30.1	24.7	16.1	24.3	26.6	22.8	26.3	40.8	25.3	19.7	14.2	22.4	38.4	31.4	7.7
<i>S. schlegeli</i>	29.8	29.4	24.9	16.0	25.2	25.7	22.8	26.2	41.1	25.3	19.2	14.5	23.2	37.1	32.6	7.1
<i>S. thompsoni</i>	29.5	29.3	26.0	15.2	24.1	26.8	22.6	26.5	40.8	25.3	19.7	14.2	23.7	35.8	35.8	4.7
<i>S. longispinis</i>	30.8	28.0	25.3	15.9	24.7	26.2	23.1	26.0	40.8	25.0	19.7	14.5	26.8	32.8	33.2	7.2
<i>S. koreanus</i>	29.7	29.3	25.2	15.9	24.4	26.5	22.8	26.2	40.8	25.3	19.7	14.2	23.9	36.1	32.9	7.1
<i>S. marroatus</i>	30.7	29.0	24.8	15.5	24.4	26.2	23.1	26.2	40.8	25.3	19.7	14.2	27.0	35.6	31.5	5.9
<i>S. albofasciatus</i>	30.0	29.7	24.9	15.4	23.9	26.8	23.1	26.2	40.8	25.3	19.7	14.2	25.4	37.0	31.8	5.8
<i>S. tertius</i>	30.4	29.1	25.3	15.2	24.4	26.2	23.1	26.2	40.8	25.3	19.7	14.2	25.9	35.9	33.0	5.3
<i>S. izensis</i>	28.2	31.8	23.7	16.3	22.3	28.1	22.4	27.2	41.6	24.7	20.0	13.7	20.8	42.6	28.7	7.9
<i>S. cirrhosa</i>	29.8	29.4	23.7	17.2	24.7	25.5	23.6	26.2	41.1	25.5	19.5	13.9	23.7	37.1	27.9	11.3
<i>S. onaria</i>	30.1	29.7	23.6	16.7	24.7	25.5	23.6	26.2	41.6	25.0	19.4	14.0	23.9	38.7	27.6	9.8
<i>S. littoralis</i>	29.0	30.6	24.5	16.0	24.5	25.7	23.6	26.1	41.3	25.3	19.5	13.9	21.1	40.9	30.3	7.8
<i>S. miostoma</i>	29.0	30.6	24.5	15.9	24.3	26.0	23.7	25.9	41.4	25.2	19.5	13.9	21.4	40.6	30.3	7.7
<i>D. biocellatus</i>	27.3	31.6	22.7	18.3	23.9	26.8	22.3	27.0	40.3	26.1	20.0	13.7	17.9	42.1	25.8	14.2
<i>D. brachypterus</i>	26.7	32.7	22.2	18.4	22.8	27.8	22.3	27.0	40.5	25.8	20.0	13.7	16.8	44.5	24.2	14.5
<i>P. lunulata</i>	26.6	32.5	22.8	18.1	24.4	26.5	22.0	27.0	39.7	26.6	20.0	13.7	15.5	44.5	26.3	13.7
<i>C. multibarbus</i>	33.9	24.6	26.4	15.1	24.9	25.5	25.7	23.9	40.3	25.8	20.3	13.7	36.6	22.6	33.2	7.6
<i>I. japonicus</i>	31.7	26.6	25.7	16.0	25.5	24.4	24.7	25.5	38.7	27.4	20.3	13.7	31.1	28.2	32.1	8.7
<i>H. hilgendorfi</i>	31.3	28.7	23.7	16.3	25.7	26.5	22.0	25.7	41.1	24.5	20.0	14.5	27.1	35.3	28.9	8.7
<i>H. rubripinnis</i>	31.8	28.7	24.6	14.8	25.2	24.1	24.4	26.2	40.8	26.3	19.7	13.2	29.5	35.8	29.7	5.0
<i>E. pottii</i>	32.0	28.9	24.0	15.1	25.5	25.5	24.4	24.7	40.8	25.5	20.5	13.2	29.7	35.8	27.1	7.4
<i>A. agrammus</i>	28.1	32.6	23.4	15.9	25.7	24.7	23.1	26.5	40.5	25.8	19.2	14.5	18.2	47.4	27.9	6.6
<i>H. otaki</i>	28.0	32.5	23.4	16.0	25.5	24.9	23.1	26.5	40.5	25.8	19.5	14.2	18.2	46.8	27.6	7.4
<i>P. percoides</i>	27.3	34.2	22.1	16.5	23.6	27.8	22.6	26.0	40.5	25.8	19.2	14.5	17.6	48.9	24.5	8.9
Avg	29.6	29.9	24.4	16.1	24.4	26.2	23.1	26.2	40.9	25.3	19.7	14.1	23.5	38.2	30.5	7.8
Bias*		0.122				0.032				0.222				0.283		

The frequencies are shown as percentage. \*: Bias in base composition is calculated as  $C = (2/3) \sum_{i=1}^4 |C_i - 0.25|$ , where  $C$  is composition bias and  $C_i$  is the frequency of the  $i$ th base.

Table 4. The number of identical pairs, transitional pairs, transversional pairs, and the ratio of transition to transversion mutations

Codon position	Identical pairs					Transitional pairs			Transversional pairs					R*
	TT	CC	AA	GG	Total	TC	AG	Total	TA	TG	CA	CG	Total	
First	85	91	81	94	351	12	7	19	4	2	3	2	10	1.9
Second	152	93	74	52	370	5	1	6	1	1	1	1	4	1.5
Third	46	94	81	10	230	66	26	92	18	5	28	8	58	1.6
All	282	278	235	156	952	82	35	112	22	9	31	12	72	1.6

All frequencies are averages (rounded) over all taxa.

R\* indicates the ratio in the number of transitions to transversions.



## 2. 염기서열의 진화

연구에 사용된 30종 66개체의 cytochrome *b* 유전자들은 512군데의 conserved site와 629군데의 variable site로 이루어진 1141 bp의 nucleotide 들로 구성되었다. Variable site들 중 513개의 parsimony informative site를 포함하고 있었다.

Cytochrome *b* 유전자들로부터 추정되는 번역산물은 380개의 아미노산으로 이루어져 있으며, 이 유전자들의 번역은 ATG코돈으로 시작되어 TAA의 stop codon으로 종결되었다(data not shown). 번역의 종결을 위한 transcriptional processing과 polyadenylation 모델(Anderson et al., 1981)에 근거한 이러한 가설은 이들 cytochrome *b* 유전자들의 전사물이 U 혹은 AG로 끝나며, 이들은 전사후 polyadenylation 과정에 의하여 종결코돈(UAA 혹은 AGA)으로 가공되는 것으로 추정된다.



#### 4. 포화도 분석

염기서열을 이용한 계통학적 분석시 오류를 야기시킬 수 있는 염기서열의 포화여부를 확인하기 위하여 모든 코돈과 각 코돈을 대상으로 포화도 분석을 실시하였다(Fig.2 and 3). 그 결과, 분석된 코돈 위치에서의 transition(TS)이 transversion(TV)보다 빨리 축적되었으며 첫 번째 코돈과 두 번째의 코돈 위치에서의 transition과 transversion들은 Kimura 2-parameter가 증가함에 따라 거의 선형으로 축적되었지만 세 번째 코돈 위치에서 약간의 포화현상을 관찰할 수 있었다. 그러나 모든 코돈위치를 대상으로 분석 결과 세 번째 코돈 위치에서의 포화현상은 상쇄되었고 계통수에서도 별다른 차이가 관찰되지 않았다. 따라서 본 연구의 계통수 작성 시 모든 코돈을 이용하여 계통수를 작성하였다.



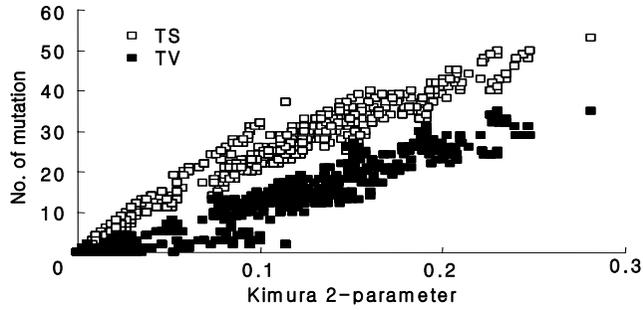
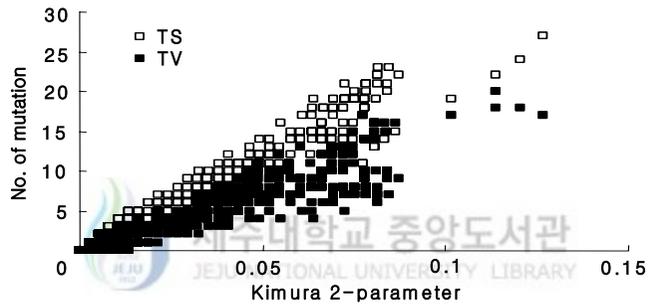
**A****B**

Fig. 1. Relationships between the observed mutations, transition (TS), transversion (TV), and Kimura 2-parameter observed either at first codon positions (A) or at second codon positions (B).

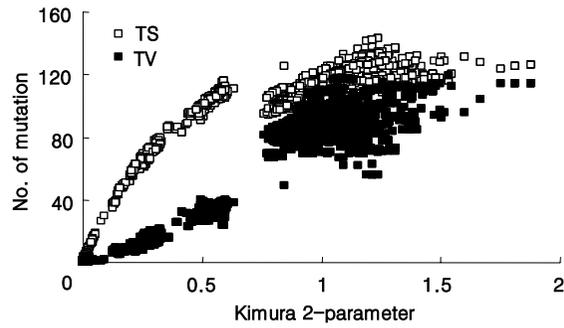
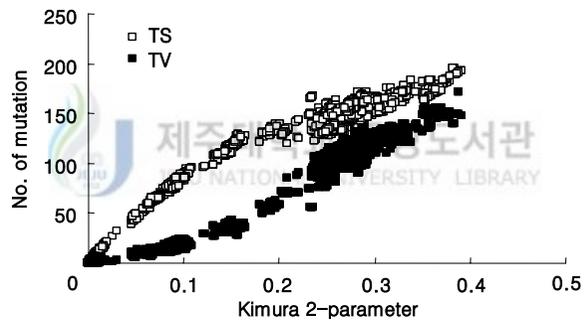
**A****B**

Fig. 2. Relationships between the observed mutations, transition (TS) and transversion (TV), and Kimura 2-parameter observed either at third codon positions (A) or at all codon positions (B).

## 5. 계통분석 및 형질측정

계통수(Phylogenetic tree)는 거리(distance)에 근거한 방법으로 작성되었다. 포화된 자료는 계통관계의 추론에 있어서 오류를 야기시킬 수 있으므로 (Meyer, 1993), 계통분류학적 분석은 포화 현상(단일 nucleotide 부위에서 숨겨진 다중 치환)을 고려해야 한다. 이 연구에서 포화 현상 분석 결과, 세 번째 코돈의 위치에서 transition이 축적되어 약간의 포화 현상을 보였지만 코돈 코돈 위치를 대상으로 한 분석결과 포화현상이 상쇄하여 뚜렷한 포화 현상이 관찰되지 않았기 때문에 모든 코돈 위치를 대상으로 하여 계통수를 작성하였다.

Fig. 4는 Scorpaenidae 어류의 30종 65미와 분류참조군 3종의 계통수를 나타낸 것으로써, 양볼락과 어류는 단진화군을 이루었다.

Scorpaenidae 어류 중 개볼락(*Sebastes pachycephalus*), 흰꼬리볼락(*Sebastes longispinis*) 우럭볼락(*Sebastes hubbsi*), 황해볼락(*Sebastes koreanus*), 황점볼락(*Sebastes oblongus*), 조피볼락(*Sebastes schlegeli*), 볼락(*Sebastes inermis*), 불볼락(*Sebastes thornpsoni*), 도화볼락(*Sebastes joyneri*)과 미국에서 채집한 *Sebastes malanops* 와 *Sebastes maliger*은 clade 1을 형성하였고, 솜뱅이(*Sebastiscus marmoratus*), 붉감괭(*Sebastiscus albofasciatus*), 붉은솜뱅이(*Sebastiscus tertius*)는 clade 2를 형성하였으며, *Dendrochirus biocellatus*, *Dendrochirus brachypterus*, 쓸배감괭은 clade3, 살살치(*Scorpaena izensis*), 쪽감괭(*Scorpaenopsis cirrhosa*), 주홍감괭(*Scorpaenodes littoralis*), 쭈굴감괭(*Scorpaena miostoma*), 점감괭(*Scorpaena onaria*)은 clade 4, 마지막으로 미역치(*Hypodytes bubripinnis*), 풀미역치(*Erisphex pottii*), 쭈기미(*Inimicus japonicus*), *Choridatylylus multibarbus*는 clade 5를 형성하였다. 각 clade를 상세히 살펴보면 먼저 clade 1에서는 계통수에서 볼 수 있듯이 불볼락과 도화볼락은 볼락으로부터 진화하였으며 조피볼락이 개볼락, 황점볼락, 우럭볼락보다 먼저 분화한 것으로 나타났다. 또한 일본에서 아종으로 분류하고 있는 채색 패턴이 다른 개볼락 3종을 최초 비교해 본 결과 3개체 사이에서는 염기서열 상에서는 별다른 차이를 보이지 않았다(Fig. 3). 하지만 아미노산 산물을 비교한 결과 N-terminal로부터 90th, 283th, 320th의 아미노산들이 차이가 있었다. 하지만 283th에서 일반패턴과 빨간패턴에서 uncharged polar side chain인 Serine이 그리고 320th에서는 빨간패턴에서는 positive charged인 Histidin이 위치하고 있었다. 여기에서 주목할 사실은 일반

적으로 3번째 codon에서 아미노산이 바뀔 확률이 높지만 여기에서는 2번째 codon에서 아미노산이 바뀔 확률은 높지 않다(Table 5). 특히 같은 계열이 아닌 다른 계열의 아미노산이 위치해 있는 것을 봐서 cytochrome *b* 내에 있는 mitochondria DNA의 기능에 차이가 있지 않나 의문점을 가지게 되어 보다 많은 개체를 가지고 p-distance와 형태형질을 조사를 한 결과 같은 체색 패턴 사이에서의 p-distance는 0.000-0.012였고, 다른 체색패턴간의 p-distance는 0.000-0.014로 나타나서 각 패턴 간에는 별다른 차이를 보이지 않았고, 형태형질 상에서도 별다른 차이점을 보이지 않았다(Table 6). 그리고 계통수에서 나타난 흰꼬리볼락과 우럭볼락사이에서 두 종이 섞여서 묶여 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 7). p-distance에서도 확인 결과 같은 종간에는 0.004-0.005였고, 다른 종간에는 0.001-0.007로 나타났다(Table 7). 하지만 형태형질 측정 결과 두 종 사이에서 흰꼬리볼락의 측선 위 비늘 수(13-14), 측선 밑 비늘 수(22-25), 측선 비늘 수(50-52)인 반면 우럭볼락은 측선 위 비늘 수(10-11), 측선 밑 비늘 수(19-21), 측선 비늘 수(57-59)가 나타났다. 이 사실로 미루어 두 종 사이에 잡종 가능성을 시사한다(Table 8). clade 2에서는 일반적으로 쏘뱅이와 붉은 쏘뱅이가 가까운 종으로 인식하고 있지만 본 실험 결과에서는 붉감괘와 붉은쏘뱅이가 가깝게 묶인 것이 나타났다(Fig. 8). 또한 p-distance에서 확인 결과 같은 종간에서는 0.000-0.004로 나타났고, 쏘뱅이와 붉은쏘뱅이는 0.059-0.060 쏘뱅이와 붉감괘는 0.061-0.063이었지만 붉감괘와 붉은쏘뱅이의 경우에는 0.045-0.047로 쏘뱅이와 붉은쏘뱅이보다 가까운 것을 확인할 수 있다(Table 9). 계측형질 결과 쏘뱅이는 꼬리지느러미 연조 수(16-17), 새파 수(16), 측선 위 비늘 수(12-15), 측선 밑 비늘 수(32-34), 측선 비늘 수(82-91)를 보였으며, 붉감괘의 경우 꼬리지느러미 연조 수(17-18), 새파 수(16-17), 측선 위 비늘 수(12-14), 측선 밑 비늘 수(33-34), 측선 비늘 수(78)를 나타냈으며, 붉은 쏘뱅이의 경우 꼬리지느러미 연조 수(17-19), 새파 수(14-15), 측선 위 비늘 수(12-14), 측선 밑 비늘 수(35), 측선 비늘 수(84-88)를 나타냈다(Table 10). 또한 붉은쏘뱅이 중 한 개체가 쏘뱅이와 같이 묶여 있는 것을 확인할 수 있었는데 이것은 아마도 두 종간의 잡종 가능성을 시사한다. clade 4에서는 *Scorpaena*속과 *Scorpaenodes*속(주홍감괘) 그리고 *Scorpaenopsis*속(쭈감괘)은 같이 묶여서 단진화군을 형성하였지만 이 중 *Scorpaena*속은 paraphyletic group를 형성하여 보다 자세한 검토가 필요하다고 생각된다. 특히 쭈감괘와 주홍감괘 사이에는 3 basepair 차이로 아주 가

깝게 묶였으며, 99%의 높은 bootstrap 값으로 확인되었다. 또한 ME에 의한 계통수(Fig. 4)는 NJ를 이용하여 작성된 계통수와 비교하여 큰 차이를 보이지 않았다. 그리고 MP에 의한 계통수를 확인하면(Fig. 6) NJ tree와는 별다른 차이를 보이고 있지는 않지만 lionfish group이 다른 계통수에서 보다 약간의 차이를 보였다.

NJ, ME, MP tree 모두에서 양볼락과 어류 중 가장 먼저 분화한 종은 쭈기미, 미역치, 풀미역치로 나타났다.



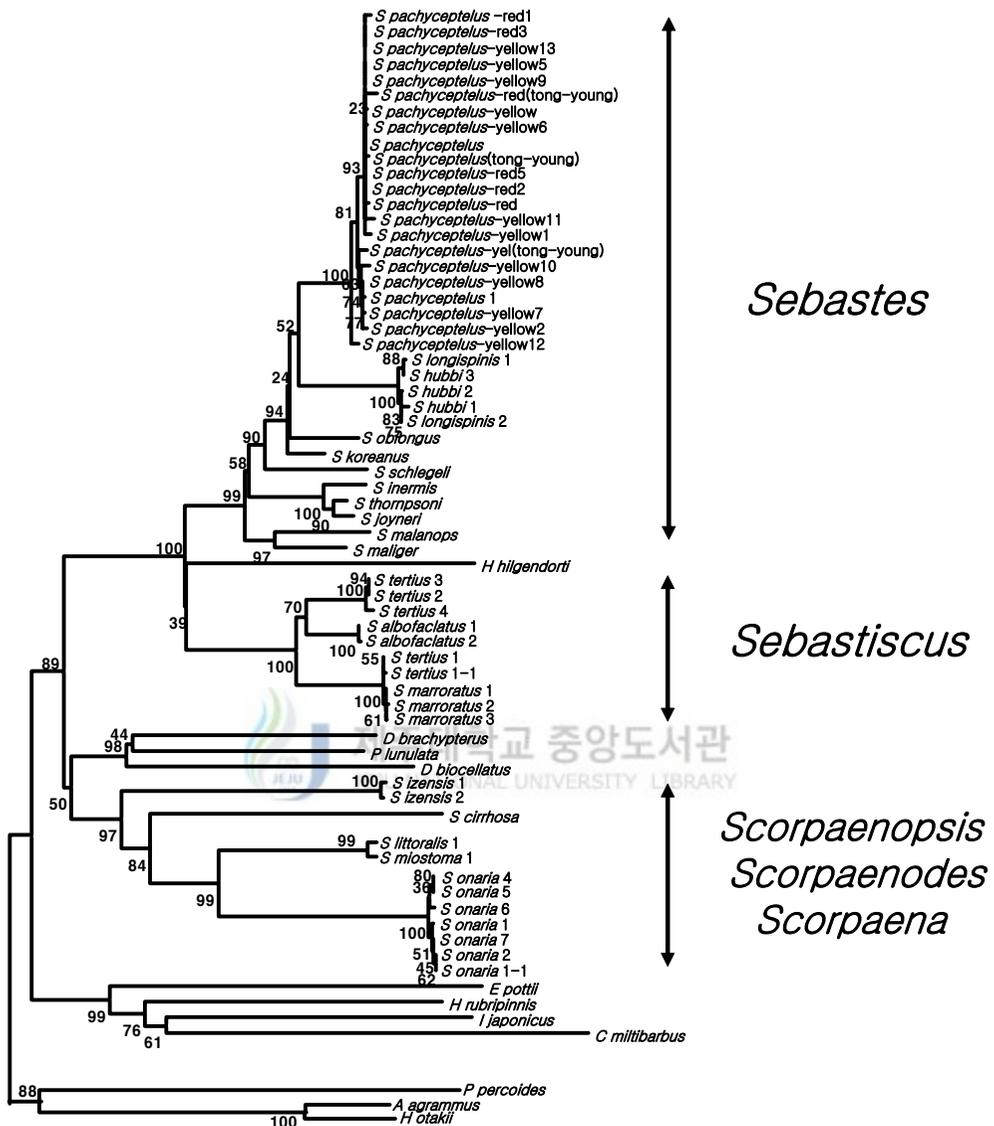


Fig. 3. Neighbor-joining (NJ) tree based on cytochrome *b* DNA sequences obtained from 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups species.

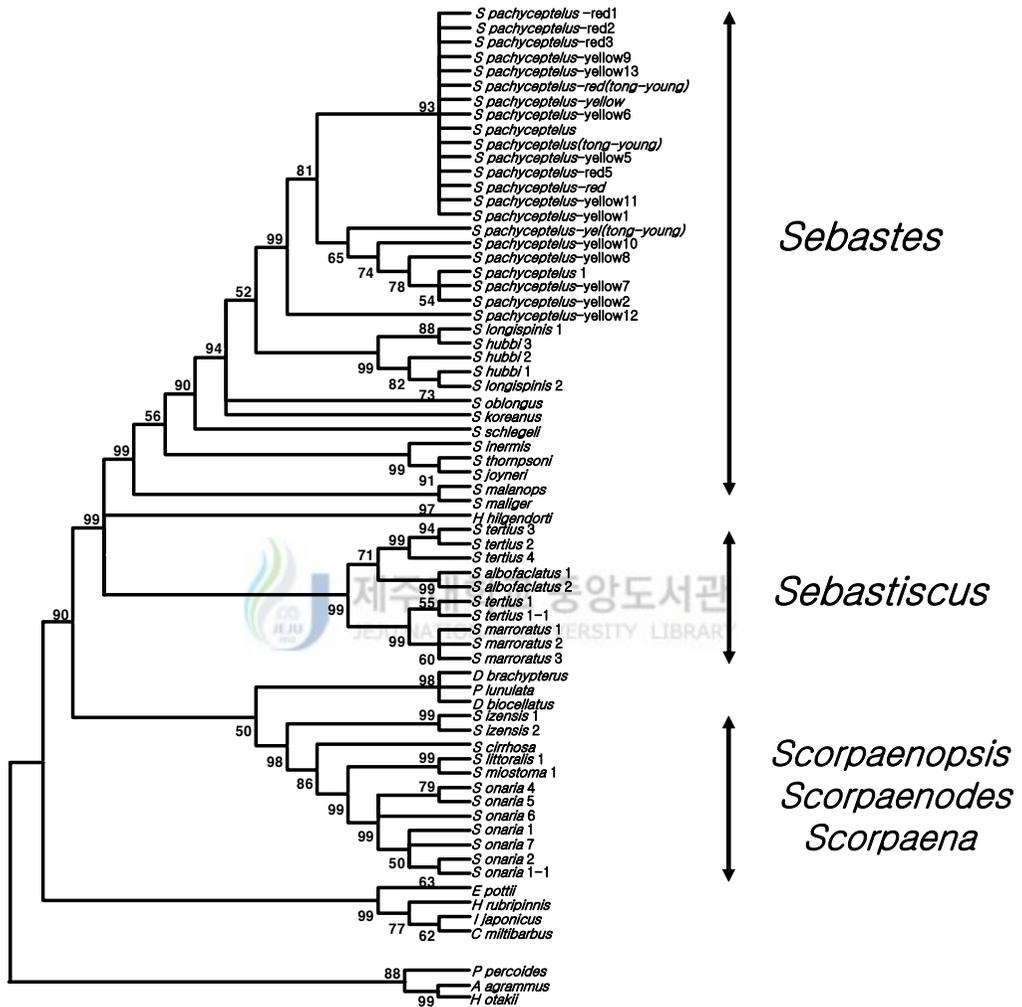


Fig. 4. 50% majority-rule consensus tree 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups, recovered from *cytb* sequences according to the neighbor-joining. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

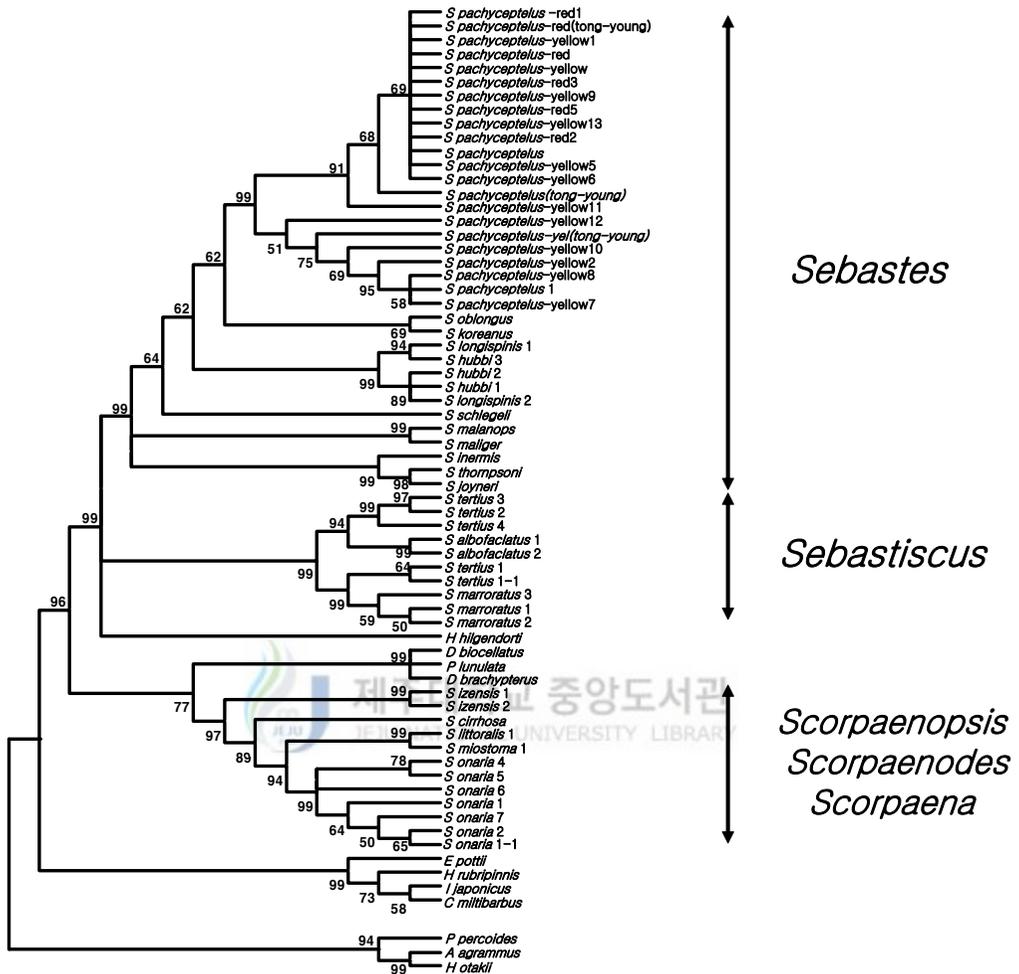


Fig. 5. 50% majority-rule consensus tree 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups, recovered from cytb sequences according to the minimum evolution. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

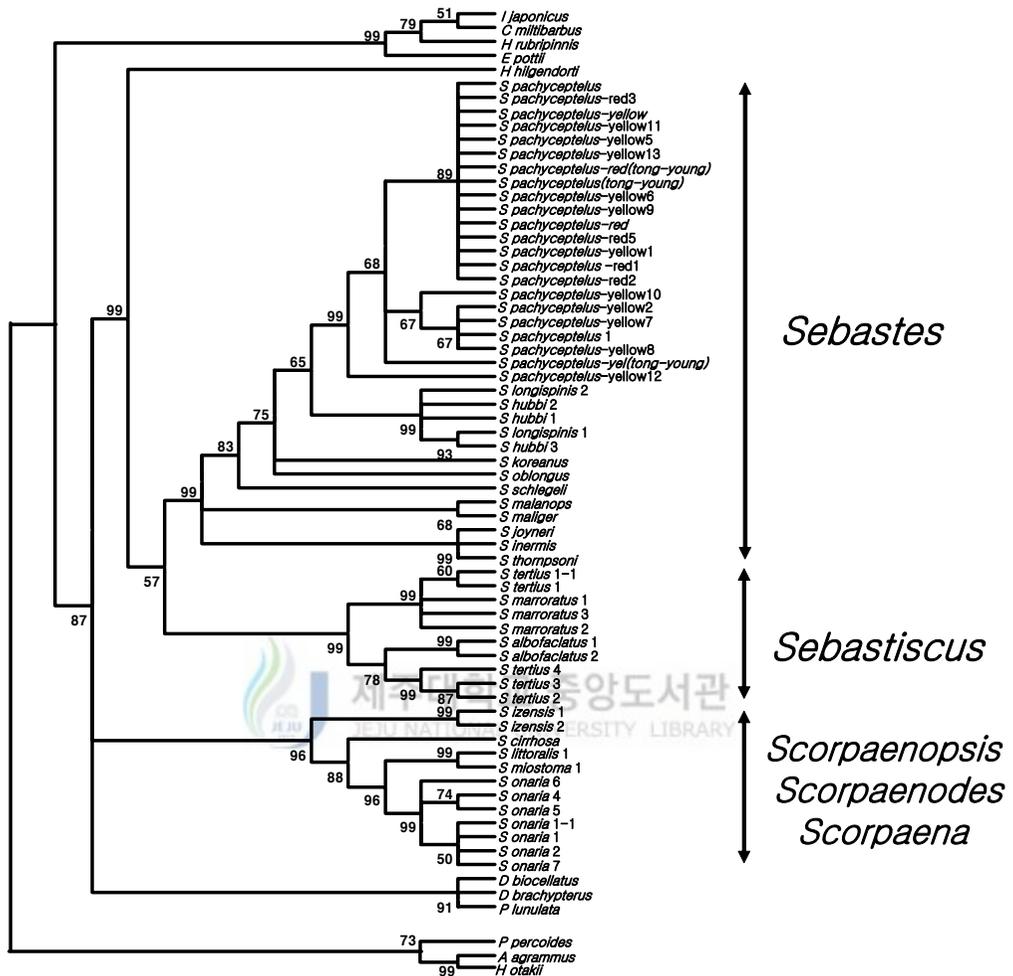


Fig. 6. 50% majority-rule consensus tree 27 species of scorpaenidae fishes and 3 outgroups, recovered from *cytb* sequences according to the maximum parsimony. Bootstrap values (1000 replications) are displayed over internal nodes.

Table 5. Amino acid differences among the cytochrome *b* proteins of *Sebastes pachyptelus* color variants.

Body color pattern	Position of amino acid from N-terminal		
	90th	283th	320th
Normal coloration	Phe	Ser	Leu
Yellow spotting	Phe	Ala	Leu
Red spotting	Val	Ser	His

Nonpolar side chain: Phe, Ala, Val, Leu

Uncharged polar side chain: Ser

Basic side chain having partly positive charge: His



Table 6. Genetic differences (p-distance) among the four types of *S. pachycephalus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1																					
2	0.006																				
3	0.002	0.008																			
4	0.001	0.007	0.003																		
5	0.003	0.009	0.004	0.004																	
6	0.007	0.003	0.009	0.008	0.010																
7	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007															
8	0.006	0.002	0.008	0.007	0.009	0.003	0.006														
9	0.005	0.001	0.007	0.006	0.008	0.002	0.005	0.001													
10	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007	0.000	0.006	0.005												
11	0.008	0.005	0.010	0.009	0.011	0.008	0.008	0.005	0.004	0.008											
12	0.004	0.011	0.006	0.005	0.007	0.011	0.004	0.011	0.010	0.004	0.012										
13	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007	0.000	0.006	0.005	0.000	0.008	0.004									
14	0.007	0.006	0.009	0.008	0.010	0.007	0.007	0.006	0.005	0.007	0.008	0.011	0.007								
15	0.002	0.008	0.004	0.003	0.004	0.009	0.002	0.008	0.007	0.002	0.009	0.008	0.002	0.009							
16	0.003	0.009	0.004	0.004	0.005	0.010	0.003	0.009	0.008	0.003	0.011	0.007	0.003	0.010	0.004						
17	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007	0.000	0.006	0.005	0.000	0.008	0.004	0.000	0.007	0.002	0.003					
18	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007	0.000	0.006	0.005	0.000	0.008	0.004	0.000	0.007	0.002	0.003	0.000				
19	0.005	0.011	0.007	0.006	0.008	0.012	0.005	0.011	0.011	0.005	0.013	0.010	0.005	0.012	0.007	0.008	0.005	0.005			
20	0.000	0.006	0.002	0.001	0.003	0.007	0.000	0.006	0.005	0.000	0.008	0.004	0.000	0.007	0.002	0.003	0.000	0.000	0.005		
21	0.001	0.007	0.003	0.002	0.004	0.008	0.001	0.007	0.008	0.001	0.009	0.005	0.001	0.008	0.003	0.004	0.001	0.001	0.006	0.001	
22	0.009	0.008	0.011	0.010	0.011	0.009	0.009	0.008	0.007	0.009	0.010	0.013	0.009	0.009	0.011	0.011	0.009	0.009	0.014	0.009	0.010

Note. 1-3: *S. pachycephalus* (Normal coloration), 4-8: *S. pachycephalus* (Red spotting), 9-19: *S. pachycephalus* (Yellow spotting), 20-22: *S. pachycephalus* (Yellow+ red spotting)

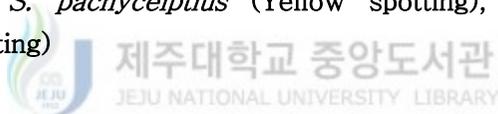


Table 7. Measurement of metric characters observed in *S. pachycephalus*.

Character	Color pattern			
	Normal	Yellow	Red	Yellow+Red
Number of specimen	3	11	5	3
Dorsal fin spines	13	13	13	13
Dorsal fin rays	12	11-13	12-13	11-12
Pectoral fin rays	17	16-18	16-18	16-17
Ventral fin spines	1	1	1	1
Ventral fin rays	5	5	5	5
Anal fin spines	3	3	3	3
Anal fin rays	5-6	5-6	5-6	5-6
Caudal fin rays	17	15-18	16-17	16-17
Gill rakers	16	15-17	16-17	16
Scales above lateral line	11-14	10-15	12-13	12-14
Scales below lateral line	23-26	22-25	24-25	23-24
Pored scales on lateral line	61-63	59-63	60-64	61-62

Table 8. Genetic differences between *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

	1	2	3	4	5
1					
2	0.004				
3	0.005	0.004			
4	0.007	0.005	0.002		
5	0.003	0.001	0.003	0.004	

Note. 1-3: *S. hubbsi*, 4-5: *S. longispinis*

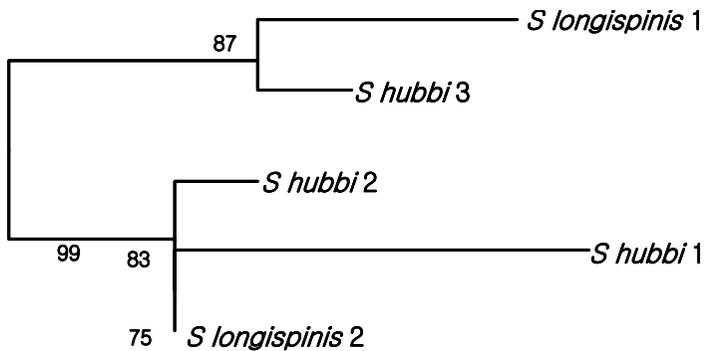


Fig 7. NJ tree with *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

Table 9. Measurement of meristic characters observed in *S. hubbsi* and *S. longispinis*.

Character	Species	
	<i>S. hubbsi</i>	<i>S. longispinis</i>
Number of specimen	3	2
Dorsal fin spines	14	14
Dorsal fin rays	12	12
Pectral fin rays	17	17
Ventral fin spines	1	1
Ventral fin rays	5	5
Anal fin spines	3	3
Anal fin rays	6	6
Caudal fin rays	17	18
Gill rakers	15	15
Scales above lateral line	10-11	13-14
Scales below lateral line	19-21	22-25
Pored scales on lateral line	57-59	50-52

Table 10. Genetic difference among *S. marroratus*, *S. albofasciatus* and *S. tertius*.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1								
2	0.001							
3	0.001	0.002						
4	0.061	0.062	0.062					
5	0.062	0.063	0.063	0.001				
6	0.059	0.060	0.060	0.046	0.047			
7	0.059	0.060	0.060	0.046	0.047	0.000		
8	0.059	0.060	0.060	0.045	0.046	0.004	0.004	

Note. 1-3: *S. marroratus*, 4-5: *S. albofasciatus*, 6-8: *S. tertius*

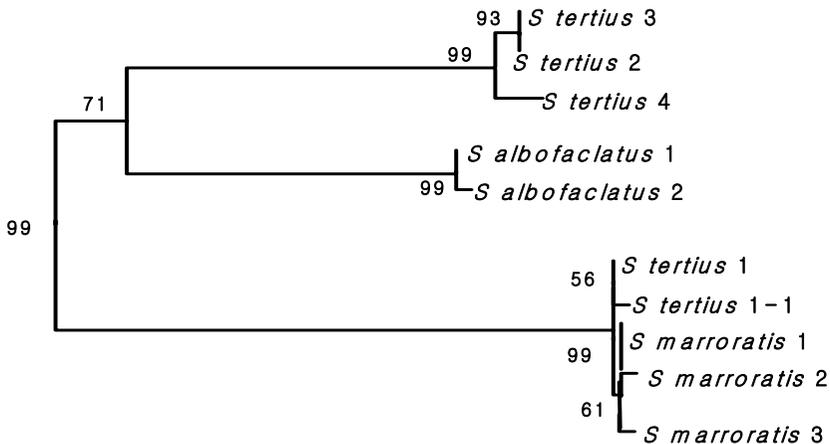


Fig. 8. NJ tree with *S. marroratus*, *S. albofasciatus* and *S. tertius*

Table 11. Measurement of meristic characters observed in *S. marmoratus*, *S. albofasciatus* and *S. tertius*.

Character	Species	<i>S. marmoratus</i>	<i>S. albofasciatus</i>	<i>S. tertius</i>
Number of specimen		3	2	2
Dorsal fin spines		12	12	12
Dorsal fin rays		12	12	12
Pectral fin rays		17-18	17-18	17-18
Ventral fin spines		1	1	1
Ventral fin rays		5	5	5
Anal fin spines		3	3	3
Anal fin rays		5-6	5	5
Caudal fin rays		16-17	17-18	17-19
Gill rakers		16	16-17	14-15
Scales above lateral line		12-15	12-14	12-14
Scales below lateral line		32-34	33-34	35
Pored scales on lateral line		82-91	78	84-88

## VI. 고찰

양볼락과 어류는 전세계적으로 약 56속 400종이 보고되고 있으며(Kim et al., 2005), 우리나라 양볼락과 어류는 1977년에 8속 27종이 보고 되었고(Chung, 1977), 이후 여러 미기록 종이 보고되면서 현재는 19속 43종이 보고되고 있다. 하지만 우리나라에서 양볼락과에 대한 연구는 1992년에 양볼락과에 대한 분포와 검색표만 제시(Kim et al., 1992)하였을 뿐 계통학적 연구는 아직까지 진행된 바 없다. 또한 일본에서는 2003년에 미기록종인 *Sebastes kiyomatsui* 가 보고(Kai and Nakobo., 2003)되었다. 더구나 양볼락과 어류들은 종간에 형태적 특징을 많이 갖고 있으며, 종내에서도 개체간 형태적 변이가 많아서 분류에 어려움이 많다(Kendall and Orr, 2001). 따라서 본 연구에서는 이러한 어려움을 극복하고자 양볼락과 어류에 관한 분자계통진화적 연구를 수행하였다.

미토콘드리아 DNA(mtDNA, mitochondrial DNA)는 핵 DNA와 비교하여 많은 서열 다양성을 포함하고 있으며, 그 진화 다양성이 더 직관적인 방법으로 진행하는 것으로 알려져 있다. 최근 염기서열 결정법의 개선과 더불어 이러한 이유들로 인하여, 동물 mtDNA는 다양한 수준의 계통분류학적 의문을 해결하는 연구에 많이 이용되고 있다. 특히 mitochondrial DNA는 핵 유전자에 비해 상대적으로 빠른 속도로 진화하고 모계 유전으로 인한 일반적으로 유전자 재조합이 일어나지 않기 때문에 계통분류학 연구에 많은 이점을 가지고 있다. 특히 cytochrome *b* 유전자는 보존적 영역과 변이영역을 동시에 보유하고 있어서 다양한 분류군의 계통진화에 관한 연구뿐만 아니라 개체군 연구에도 사용되고 있어 척추동물에서 가장 광범위하게 연구되어 왔다.

더욱이, cytochrome *b* 유전자는 어류에 있어서 개체군으로부터 더 높은 수준의 분류단계까지 분석하는데 이용되고 있다(Kocher and Stepien, 1997). Song et al (1998)은 cytochrome *b* 유전자의 염기서열을 이용하여 Percidae의 분류를 재검토 하였고, Etheostomatinae와 Leciopericinae내의 소형 저서어류의 독립적인 진화에 대한 계통분류학적 증거에 대하여 논하였다. 또한 cytochrome *b* 유전자 단편을 이용한 *Sebastes* 속내의 종간 진화적 유연관계에 대한 연구(Rocha-Olivares et al., 1999)와 *cytb* 단편을 이용한 분자진화 관한 연구(Kochizus et al., 2003)가 있었다.

한편, 많은 연구자(Song et al., 1998; Nei and Kimar, 2000)들이 정확한

계통수를 작성하기 위해서는 각 코돈의 위치들 간의 치환율 변이를 고려하는 것이 중요하다고 하였다. 따라서 일부 저자(Birolay et al., 1998)들은 첫 번째와 두 번째 코돈 위치에서의 transition과 transversion만을 이용하거나 모든 코돈 위치에서의 transversion만을 이용하여 계통수를 작성하였다. 그렇지만 여러 연구자(Song et al., 1988; Brito et al., 1997)들은 유연 관계가 다소 먼 분류 간의 계통수를 작성하는데 있어 3가지 코돈 위치에서의 모든 자료를 이용하였다. 이 연구결과 세 번째 코돈 위치에서 transition이 transversion보다 빨리 축적됨을 확인할 수 있었고, transition의 포화현상을 확인할 수 있었지만 모든 코돈 위치를 대상으로 포화도 조사에서는 transition이 상쇄로 되어서 뚜렷한 포화현상은 관찰할 수 없었기 때문에 본 연구에서는 모든 코돈위치에서의 염기서열 자료를 이용하여 계통수를 작성하였다.

본 연구의 계통도에서 확인한 결과 전반적으로 분자계통수상의 분류는 형태형질의 분류와 유사하게 나타났다. 본 실험의 계통수 상에서 최초 분화한 어류는 풀미역치, 미역치, 쭈기미, *C. miltibarbus*로 나타났다. 여기에서 특히 풀미역치의 경우는 풀미역치과이지만 양볼락과인 미역치와 아주 가깝게 묶인 것을 확인할 수 있었다. 이 결과로 미루어 풀미역치를 양볼락과에 들어가는 것이 옳지 않나 생각을 해본다. 각 clade간에는 단진화군으로 묶여있었다. 특히 clade 1에서는 볼락과 도화볼락은 볼락으로부터 진화하였으며, 조피볼락이 개볼락, 황점볼락, 우럭볼락보다 먼저 분화한 것으로 나타났다. 개볼락과 같은 양볼락과 어종인 채색 패턴이 다른 볼락(*Sebasets inermis*)의 경우 형태형질 측정결과 20가지 중 15개가 확연하게 차이가 나는 것을 확인할 수 있었지만(Kai and Nakabo., 2002), 일본에서 아종으로 분류하고 있는 채색패턴이 다른 개볼락 3종은 유전자 상에서나 형태형질 상에서는 별다른 차이를 보이지 않았다. 하지만 N-terminal로부터 아미노산의 차이 특히 세 번째 코돈이 아닌 첫 번째, 두 번째 코돈에서 같은 계열이 아닌 다른 계열의 아미노산이 들어가 있는 것은 진화적 측면이나 mitochondia DNA의 기능상의 문제적 측면에서 좀 더 연구할 필요가 있다고 생각한다. 흰꼬리볼락과 우럭볼락은 계통수상에서 서로 섞여 있는 것이 확인 되었고, 아주 가까운 유연관계를 보였다. 하지만 형태형질 상에서 차이를 보이고 있어 이들 관계에 잡종이 일어날 가능성을 시사한다. 특히 서식 장소와 생태형태등 아주 유사한 점(Kim et al., 2005)들이 두 종사이에 많아 이러한 가능성을 뒷받침한다. 하지만 두 종간에 개체수가 적어서 계통진화적인 유연관계에 관해서는 보다 많은 샘플을 대상으로 한 연구가 필요하다고 생각된다

다. clade 2에서는 조상종으로부터 솜뱅이가 먼저 분화하여 붉감쟁, 붉은솜뱅이 순으로 분화하였다. 일반적으로 솜뱅이와 붉은 솜뱅이가 가깝게 묶여있을 것이라고 생각하는데 본 실험에서는 솜뱅이가 먼저 분화한 후 붉감쟁과 붉은솜뱅이가 분화하였으며 두 종이 서로 가깝게 묶여있음을 확인할 수 있었다. 또한 솜뱅이와 붉은솜뱅이 한 개체가 아주 가깝게 묶여있는 것으로 보아 두 종간에 잡종가능성을 시사한다. 그리고 이들 사이에서도 서식장소나 생태형태도 유사한 점이 많아서 이러한 사실을 뒷받침한다. 다른 논문(Katoh M., and Tokimura M., 2001)상에서도 솜뱅이, 붉은솜뱅이, 붉감쟁의 유전적, 형태학적 분석을 이용한 실험을 하였는데 각 종류별 형태학적 분석을 이용한 실험에서 약 90%이상의 일치율을 나타내었으며, 유전적 차이에서도 0.057-0.133으로 매우 가까운 분석이 나왔다고 저자는 설명하고 있다. 계통도 상에서 확인할 수 있듯이 *Sebastes*속, *Helicolenus hilgendorfi*(홍감쟁), *Sebastes*속은 동시에 분화한 것이라고 확인할 수 있다. clade 3에서는 *Dendrochirus biocellatus*와 *Dendrochirus brachypterus* 사이에 쏘배감쟁(*Pterois lunulata*)이 들어가 있는 것을 확인할 수 있다. 특히 *D. biocellatus*와 쏘배감쟁 사이에는 낮은 bootstrap 값을 형성하고 있지만 *D. brachypterus*와 쏘배감쟁 사이에는 높은 bootstrap 값을 형성하고 있다. *D. biocellatus*와 *D. brachypterus*는 미국에서 채집한 종이지만 우리나라 어류인 쏘배감쟁과 관련이 있는 종이라고 사료된다. clade 4에서는 살살치가 먼저 분화하여 썩감쟁, 주홍감쟁, 쭈굴감쟁, 점감쟁 순으로 분화하였지만 이중 *Scorpaena*속인 살살치, 점감쟁은 paraphyletic group을 형성하여 보다 자세한 검토가 필요하다고 생각된다. 특히 쭈굴감쟁과 주홍감쟁은 개체간 염기서열 차이가 3bp 차이로 아주 가까웠으며 특히 bootstrap 값이 99로서 아주 높은 값이 나타났고, 이 두 종 역시 생태형태나 분포 지역에서도 유사한 점들이 많다. 하지만 개체수가 1종이기 때문에 개체수를 확장하여 좀 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

생식 형태는 *Sebastes*속과 *Sebastes*속은 홍감쟁은 난태생을 취하고 있고, lionfish 계열과 *Scorpaena*속, *Scorpaenodes*속, *Scorpaenopsis*속, 미역치, 풀미역치, 쭈기미는 난생의 생식 형태를 취하고 있다. 이 결과로 미루어 어떤 종류의 생식 형태가 발전된 형태인지는 자세히 알 수 없지만 각 속(Genus)마다 독특한 생식 형태를 취한다는 것을 알 수 있다.

양볼락과 어류의 일부 어종은 우리나라의 양식 산업에도 영향을 미치고 있다. 하지만 양볼락과 어류에 관한 연구는 매우 미진한 상태에 있다. 특히 본 실

힘에서 계통수 상에서도 관찰된 바와 같이 종간 혹은 종내에 잡종이 많이 나타난 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 종간 종내의 잡종에 관한 연구는 앞으로 좀 더 자세한 연구가 필요하고 생각되며, 이와 함께 이들의생식 형태에 관해서도 앞으로 많은 연구가 필요하다고 생각된다.



## V. 요약

양볼락과(Family Scorpaenidae) 어류는 쏨뱅이목(Order Scorpaeniformes)에 속하는 어류로 전세계적으로 약 56속(Genus) 400종(Species)이 알려져 있으며, 우리나라에는 19속(Genus) 43종(Species)이 분포하고 있다(Kim et al., 2005). 양볼락과 어류는 종내 중간 형태적 변이가 많아 분류하는데 많은 어려움을 겪고 있다. 따라서 본 연구에서는 cytochrome *b* 유전자 서열을 이용하여 30종 68미의 양볼락과 어류를 대상으로 이들 어류 사이에 분자계통진화적 관계에 대하여 조사하였다.

그 결과 cytochrome *b* 유전자 서열은 1141 bp이며 시작코돈 ATG으로 시작하여 종결코돈 TAA으로 종결됐다. 서열분석을 통해 1140 bp를 이용하여 cytochrome *bc1* complex를 암호화하고 있는 380개의 아미노산으로 이루어진 ORF (Open Reading Frame)를 가지고 있는 것으로 추정되었다.

연구에 사용된 30종 68개체의 cytochrome *b* 유전자들은 512군데의 conserved site와 629군데의 variable site로 이루어진 1141 bp의 nucleotide 들로 구성되었다. Variable site들 중 513개의 parsimony informative site를 포함하고 있었다. 그리고 codon composition은 A: 29.6%, C: 29.9%, A: 24.4%로 비슷한 양상을 나타내었고, G는 16.1%로 상대적으로 낮은 값이 나타났으며 이 결과는 지금까지 보고된 척추동물의 codon composition 양상과 비슷한 결과를 나타냈다.

유전적 거리(genetic distance)에 근거한 방법을 이용하여 30종 68미의 계통수를 작성한 결과 총 5개의 단진화군(clade)으로 구성되었으며 clade 1에는 *Sebastes* 어종인 개볼락, 흰꼬리볼락, 우럭볼락, 황해볼락, 황점볼락, 조피볼락, 볼락, 불볼락, 도화볼락과 미국에서 채집한 *Sebastes malanops* 와 *Sebastes maliger*은 clade 1을 형성하였고, 쏨뱅이, 붉감쟁, 붉은쏨뱅이는 clade 2를 형성하였으며, *Dendrochirus biocellatus*, *Dendrochirus brachypterus*, 쏨배감쟁은 clade3, 살살치, 썩감쟁, 주홍감쟁, 쭈굴감쟁, 점감쟁은 clade 4, 마지막으로 미역치, 풀미역치, 쭈기미, *Choridatylus multibarbus*는 clade 5를 형성하였다. clade 5의 미역치, 풀미역치, 쭈기미, *Choridatylus multibarbus*는 본 실험의 계통수 상에서 최초로 분화한 그룹으로 나타났다.

일본에서 아종으로 분류하고 있는 체색 패턴이 다른 개볼락은 염기서열과 형태형질 측정결과 이들 체색 패턴 사이에 별다른 차이가 없었다. 그리고 흰꼬리볼락과 우럭볼락 사이에 염기서열은 유사하지만 형태형질에서 차이가 있는 것으로 보아 두 종간에 잡종이 생긴 것이라고 사료된다. 또한 두 종의 계통진화적인 유연 관계에 관해서는 보다 많은 샘플을 대상으로 한 연구가 필요하다고 생각된다. 일반적으로 솜뱅이와 붉은솜뱅이를 가장 가까운 종으로 인식하고 있지만 본 실험에서는 붉은솜뱅이와 붉감팽이가 더 가깝게 묶였으며 솜뱅이와 거의 동일한 염기서열을 가지는 붉은솜뱅이가 출현하여 자연에서의 잡종가능성을 시사한다. *Scorpaenidae*속과 *Scorpaenodes*속 (주홍감팽) 그리고 *Scorpaenopsis*속 (썩감팽)은 같이 묶여 단진화군을 형성하였지만 이 중 *Scorpaena*속은 paraphyletic group을 형성하였다.



## VI. 참고문헌

- Alrcón, J.A., A. Magoulas, T. Georgakopoulos, E. Zouros and M.C. Alvaeez. (2004) Genetic comparison of wild and cultivated European of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 230: 65-80.
- Anderson, S., Bankier, B.G., de Bruijn, M.H.L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, C.D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J.H., Stadn, R., and Young, I.G (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290:457-465.
- Aposolidis, A.P., Z. Mamuris and C. Triantaphylidis. (2000) Phylogenetic relationships among four species of Mullidae (Perciformes) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome *b* and 16S rRNA genes. *Biochem. System. and Ecol.*, 29: 901-909.
- Barsokov, V.V. (1981). A brief review of the subfamily Sebastinae. *J. Ichthyol.* 21:1-26.
- Bibb, M.J., Van Etten, R.A., Wright, C.T., Walberg, M.W., and Clayton, D.A. (1981) Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell.* 26:167-180.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R. M., and Bouvet, Y., 1998. Molecular phylogeny of cyprinidae inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Mol. Phylogent. Evol.* 9(1):100-108.
- Briolay, J., N. Galtier, R.M. Brito and Y. Bouvet. (1998) Molecular

phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. *Mol. Phylo. Evol.*, 8(3): 435-442.

Brito, R.M., J. Briolay, N. Galtier, Y. Bouvet and M.M. Coelho. (1997) Phylogenetic relationships within genus *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) in Portuguese fresh waters. based on mitochondrial DNA cytochrome b sequences. *Mol. Phylogenetic. Evol.*, 8(3): 435-442.

Chung, M.K. 1977 The fishes of Korea. Iljinsa Publ. Co., Seoul. (in Korea)

Eschmeyer, W.N., and Herald, E.S. (1983). "A field Guide to Pacific Coast Fishes of North America," Houghton Mifflin, Boston.

Esposti, M.D., Veries, S.D., Crimi, M., Ghelli, A., Patarnello, T., and Meyer, A., (1993) Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of protein. *Biochim. Biophys. Acta.* 1143:243-271.

Felsenstein J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39(4):783-791.

Fitch, W. M. (1971) Toward defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. *Syst. Zool.* 20:406-416.

Hubbs, C.L., and K.F. Lagler. (1964) Fishes of the Great Lakes region. Univ. Michigan press, pp. 19-26.

Inoue, J.G., M. Miya, J. Aoyama, S. Ishikawa, K. Tsukamoto and M. Nishida. (2001) Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Science*, 67: 118-125.

- Irwin, D.M., Kocher, T.D., and Wilson, A.C., 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.* 32:128-144.
- John, G.C., and Avise, J.C., 1998. A comparative summary of genetic distsnces in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Mol. Biol. Evol.* 15(11):1481-1490.
- Kai, Y., Nakayama, K., and Nakabo, T. (2003) Molecular philogenetic perspective on speciation in the genus *Sebastes* (Scorpaenidae) from the Northwest Pacific and the position of *Sebastes* within the subfamily Sebastinae. *Ichthyol. Res.* 50:239-244.
- Kai, Y. and Nakabo, T. (2002) Morphological difference among three color morphotypes of *Sebastes inermis* (Scorpaenidae) *Ichthyol. Res.* 49:260-266.
- Kai, Y. and Nakabo, T. (2004) A new species of *Sebastes* (Scorpaeniformes: Scorpaenidae) from the Pacific coast of southern Japan. *Ichthyol. Res.* 51:5-9
- Katoh, M. and Tokimura, M. (2001) Genitic and morphological identification of *Sebastiscus tertius* in the East China Sea (Scorpaeniformes: Scorpaenidae). *Ichthyol. Res.* 48:247-255
- Kendall, A. and T. Orr. (2001) Identification and systematics of rockfishes (*Sebastes*) in the Northeast Pacific Ocean (Quarterly report). *NOAAfish.* pp. 1-11.
- Kim, I.C., and, Lee J.S. (2004) The complete mitochondrial genome of the rockfish *Sebastes schlegeli* (Scorpaeniformes, Scorpaenidae). *Mol. Cells*, 17(2):322-328.

- Kocher, T.D. and C.A. Stepien. (1997) Molecular systematics of fishes. Academic Press, New York, 314 pp.
- Kochzius, M., Söller, R., Khalaf, M.A., and Blohm, D. Molecular (2003) phylogeny of the lionfish genera *Dendrochirus* and *Pterois* (Scorpaenidae, Pteroinae) based on mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 28:396-403
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei. (2004) Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 5(2): 150-163
- Meyer, A. (1993) Evolution of mitochondrial DNA in fishes. pp. 1-38. In *Molecular biology frontiers, Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol. 2. P.W. Hochachka, and T.P. Mommsen (eds). Elsevier Science publishers AM. 470pp.
- Nakabo, T. 1993. *Fishes of Japan with pictorial keys to the species*. Tokai Univ. Press, Tokyo, 1162 pp. (in Japanese).
- Nei, M. and S. Kumar. (2000) *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford Univ. Press, New York, 333 pp.
- Rocha-Olivares, A., Kimbrell, C.A., Eitner, B.J., and Vetter, R.D., (1999) Evolution of a mitochondrial cytochrome *b* gene sequence in species-rich genus *Sebastes* (Teleostei, Scorpaenidae) and its utility in testing the monophyly of the subgenus *Sebastomus*. *Mol. Biol. Evol.* 4(4):406-425.

Song, C.B., T.N. Near and L.M. Page. (1998) Phylogenetic relations among percid fishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* DNA sequence data. *Mol. Phylo. Evol.*, 10(3): 343-353.

Swofford, D. L. 1998. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0 Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

김익수 · 이완옥 (1992) 연구발표요지: 한국산 양볼락과 어류의 분류학적 연구. 한국어류학회지. 4(1):pp. 86.

김익수 · 최윤 · 이충렬 · 이용주 · 김병직 · 김지현. (2005) 한국어류대도감. pp. 210-221.



## 감사의 글

대학원 생활에서의 마지막 결실이라고 하는 졸업논문을 마치면서 조금만 더 열심히 했으면 더 좋은 성과가 나왔을 것이라는 후회를 하면서 감사의 글을 남깁니다.

이 논문이 나오기까지 부족한 저를 옆에서 독려해 주신 송춘복 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 항상 바쁜 일정에서도 저의 논문에 수정을 도와주신 허문수 교수님과 전유진교수님을 비롯하여 학부때부터 저를 지도해 주신 정상철 교수님, 이제희 교수님, 여인규 교수님께 감사드립니다.

그리고 항상 저에게 때로는 친형 같이 대해주고 어려울때 항상 도움을 준 맹진이 형을 비롯한 어류유전육종실협실의 모든 학생들인 Reza, 송헌, 미란, 그리고 혜영이에게 고맙다는 말을 남기고 저에게 많은 조언을 해준 범석이형 그리고 윤철이 형에게도 감사의 말을 전합니다.

항상 같이 공부해온 우리동기들 철영이형, 만철, 길남, 태형, 경임이와 우리과 동기들에게도 감사의 마음을 전하며, 어려울 때 항상 친구처럼 대해 주신 문휴형, 영건이형, 수진이형, 철홍이형, 정환이형, 영빈이형 그리고 함덕연구소의 치훈이형, 창범이형에게도 감사의 마음을 전하며, 다른 실험실 학부생에게도 감사의 마음을 전합니다.

제가 태어나서 지금까지 저를 보살펴 주신 저희 부모님, 할머니 그리고 지금 서울에 있는 동생에게도 감사의 마음을 전하며, 마지막으로 제가 제일 좋아하는 친구들 경석, 원진, 명석, 상윤이에게도 감사의 마음을 전하며, 끝으로 이제까지 저에게 많은 도움을 주신 모든 분들께 감사의 마음을 전합니다.