

한국산 검정망둑(***Tridentiger obscurus***)과 민물검정망둑(***T. brevispinis***)의 분류학적 고찰

김종범 · 양서영

(인하대학교 이과대학 생물학과)

적 요

전국에서 채집된 검정망둑과 민물검정망둑의 지리적 변이를 조사한 결과 두 종은 반문형태상 뚜렷한 차이가 있었고 유전자 분석 결과에서도 두 종은 3개의 유전적 표식인자(Me-1, Gp-4, Aco)를 가지는 별개의 분류군으로 확인되었다. 그러나 유전적 근연치는 $S = 0.813$, 유전적 차이치는 $D = 0.192$ 로 종 수준 이하의 유전적 분화를 보였으며 두 종의 동서하천에서 미세분포 상황 및 생식적 격리 수준을 조사한 결과, 두 종은 서식처 분리가 뚜렷하여 검정망둑은 주로 염수역에, 민물검정망둑은 주로 담수역에 분포하며 이들 사이에 유전자 교환이 없는 것으로 확인되었으나 서식처 분리가 깨진 여천 방죽천 집단의 경우, 두 종간에는 유전자 교환이 일어나며 F_2 이상의 잡종개체를 포함하여 높은 비율(25.6%)의 자연잡종이 발생되는 것으로 보아 두 종은 교배전 격리기작(premating isolating mechanism)이 불완전한 것으로 확인되었다. 그러나, F-statistics 분석 결과 F_{IS} (inbreeding coefficient) 값은 두 종간에 자유교배가 일어나지 않음을 보여 검정망둑과 민물검정망둑은 현재 아종에서 종으로 분화중에 있는 반종(semispecies)으로 추정되며 따라서 학명은 *T. obscurus obscurus*(검정망둑)와 *T. obscurus brevispinis*(민물검정망둑)를 사용하는 것이 타당하다고 사료된다.

Key words: Taxonomy, gobiid fish, habitat segregation, genetic differentiation, hybridization

서 론

검정망둑은 세계적으로 1,600 여종이 보고되어 있는 망둑어과(Family Gobiidae) 어류의 일종으로(Nelson, 1984) 한반도, 중국, 일본 등 동아시아 하천의 담수 및 기수역에 흔히 서식하는 저서성 어류이다(Chyung, 1977). 본 종은 Temminck와 Shlegel(1845)이 일본의 나가사키에서 처음 채집하여 *Sicydium obscurus*로 명명하였고 Mori(1952)는 제주도, 부산 등지에서 표본을 채집하여 *Tridentiger obscurus*로 보고한 바 있다. 그 후 Katsuyama 등(1972)이 일본의 기수와 담수에 서식하는 본 종에 대하여 세파수, 제1등지느러미 연조의 길이 등을 분류형질로 사용하여 기수산(*Tridentiger obscurus obscurus*)과 담수산(*T. o. brevispinis*)의 두 아종으로 분류하였고 Akihito 등(1984)은 이들을 각각 별종인 *Tridentiger obscurus*와 *T. brevispinis*로 기재하였다. 국내의 경우 검정망둑(*T. obscurus*) 한 종이 보고되어 오던 중(Chyung, 1977), Kim과 Choi(1989)가 담수산 검정망둑을 국내 미기록종인 민물검정망둑(*T. brevispinis*)으로 보고하면서 외부 형태상으로는 검정망둑과 식별이 어려울 정도로 유사함을 밝힌 바 있어 이들의 분류학적 위치를 명확히 하기 위해서는 형태 및 유전자의 면밀한 지리적 조사 및 2종의 동서(同棲)하천에서의 생식적 격리 여부 확인이 필요하였다.

이에 본 연구는 Kim과 Choi(1989), Jeon(1994)의 보고를 기준으로 전국 하천의 기수역 및 담수역에서 채집한 표본들을 Akihito 등(1984)의 분류기준으로 검정망둑(*T. obscurus*)과 민물검정망둑(*T. brevispinis*)을 구분하고 이들 사이에 나타나는 외부 반문형태 차이와 유전적 분화 정도를 확인하는 한편 두 종이 함께 출현하는 동서하천에서 유전적 표식인자들(genetic markers)을 이용하여 각 종의 미세분포 상황 및 두 종간의 생식적 격리 수준을 구명하여 이들의 분류학적 위치를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

지리적 변이 조사를 위해 각각 1종만이 출현하는 이서(異棲)하천들(allopatric streams)에서 검정망둑 5개 집단 92개체, 민물검정망둑 12개 집단 237개체, 2종이 함께 출현하는 5개 동서하천들(sympatric streams)에서 120개체 그리고 비교종으로 선택된 동일속의 민물두줄망둑(*T. bifasciatus*) 1개 집단 20개체를 포함 총 24개 집단 469개체를 채집하였고 아울러 4개의 동서하천에서는 총 837개체를 추가 채집하여 이들의 미세분포 및 잡종분석을 실시 하였다(Fig. 1, Table 1). 채집 도구는 족대(망목 3×3 mm)와 투망(망목 5×5 mm)을 사용하였고 채집된 개체는 탈색 및 단백질변성을 막기 위하여 채집 즉시 드라이아이스(-70°C)에 급냉시켜 실험실로 운반한 후 반문형태 분석 및 전기영동용 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 지리적 변이 분석

냉동된 표본은 각 개체별로 Akihito 등(1984)의 분류 기준을 이용하여 동정하였고 반문의 추가분석을 위하여 각 개체별로 반문형태를 확인 기록하였다. 반문분석이 끝난 개체들은 체측에서 균육을 적출하거나 적출이 어려운 작은 개체는 두부, 표피, 내장을 제외한 전체 균육을 취하여

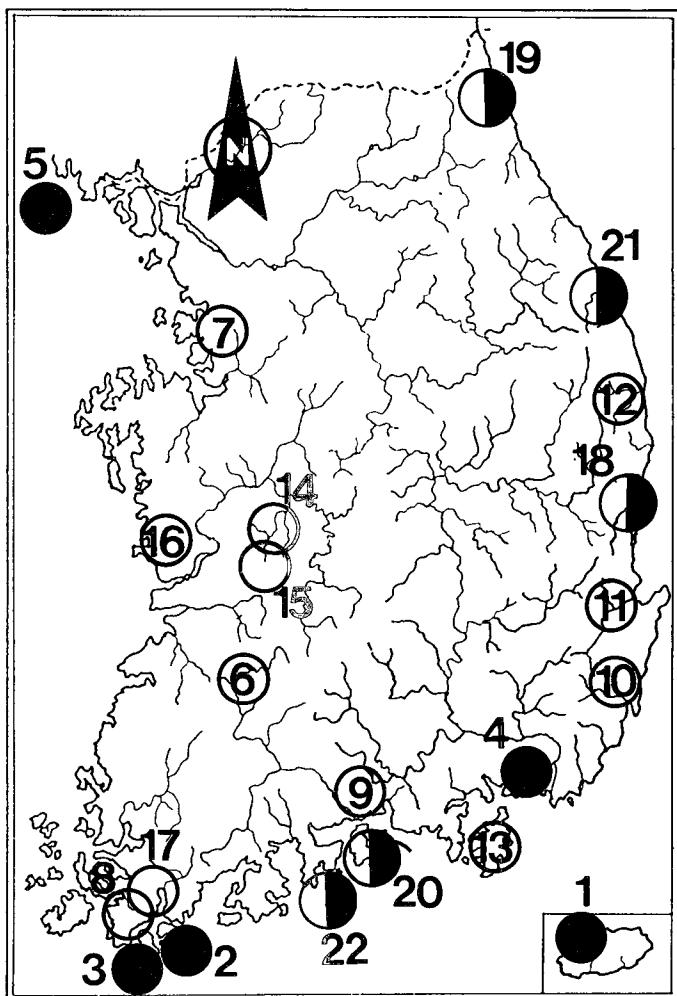


Fig. 1. A map showing the distribution of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis*. Numbers refer to collection localities listed in Table 1. Solid circle: *T. obscurus*, Open circle: *T. brevispinis*, Semi-solid circle: Sympatry of *T. obscurus* and *T. brevispinis*.

4°C에서 glass homogenizer(B. Brown Co.)로 마쇄하고 Sorvall RC-5B(Rotor SS-34)를 이용 18,000 rpm(39,000 g)으로 30분간 저온 원심분리하여 상층액을 전기영동 시료로 사용하였다. 근육을 적출한 표본은 10% formalin 용액에 고정시킨 후 인하대학교 생물학과 표본실에 보관하였다.

전기영동은 Yang 등(1991)과 Buth(1986)의 방법에 따라 수평전분전기영동법(horizontal starch gel electrophoresis)을 실시 하였고 gel은 Sigma starch(Lot 71H-0760)를 11.2% 농도로 사용하였다. 전기영동으로 분석한 효소 및 비효소 단백질의 종류와 buffer system은 Table 2와 같다. 전기영동 후 효소 및 비효소 단백질의 전기 영동상에서 각 개체별로 유전자형을 확인한 후 이를 이용 BIOSYS program(Swofford and Selander, 1981)으로 각 집단의 대립인자 빈도(allele frequency), 평균 다형형 빈도(% polymorphism) 및 이형 접합자 빈도(heterozygosity)를 구하여 각 집단의 유전적 변이정도를 조사하였다. 아울러 각 집단간의 유전

Table 1. Collecting localities, dates and number of specimens for genetic and morphometric analyses of 24 populations in the genus *Tridentiger* from Korea.

Collection locality	Collection date	No. of specimens	
		Morphology	Isozyme
<i>Tridentiger obscurus</i>			
1. Cheju Isl.: Cheju-do, Bukcheju-gun, Woido 2-ri, Woido Stream	July 30, 1992	20	20
2. Bogil Isl.: Chollanam-do, Wando-gun, Bogil-myon, Buhwang-ri, Bogil Stream	Mar. 28, 1992	20	20
3. Wando Isl.: Chollanam-do, Wando-gun, Wando-up; Yongso Stream	Mar. 28, 1992	20	20
4. Singi Stream: Kyungsangnam-do, Changwon-gun, Jinbuk-myon, Singi-ri	May 10, 1992	20	20
5. Baekryung Isl.: Kyungki-do, Ongjin-gun, Baekryung-myon, Jinchon 4-ri	Sep. 28, 1991	12	12
<i>T. brevispinis</i>			
6. Seomjin River: Chollabuk-do, Jeongeup-gun, Sannae-myon, Mejuk-ri	June 24, 1992	20	20
7. Anseong Stream: Kyungki-do, Ansan-shi, Sa-dong	Mar. 24, 1992	20	20
8. Kyekog Stream: Chollanam-do, Haenam-gun, Kyekog-myon, Kyekog-ri	June 25, 1992	20	20
9. Kwangyang Stream: Chollanam-do, Kwangyang-gun, Kwangyang-up, Doweol-ri	June 26, 1992	20	20
10. Taehwa River: Kyungsangnam-do, Ulsan-gun, Beomseo-myon	June 27, 1992	20	20
11. Hyungsan River: Kyungsangbuk-do, Yeongil-gun, Yeonil-up	June 27, 1992	20	20
12. Okpi Stream: Kyungsangbuk-do, Uljin-gun, Keunnam-myon, Noeum-ri	June 27, 1992	20	20
13. Kohyun Stream: Kyungsangnam-do, Keojae-gun, Sinhyeon-up	Oct. 13, 1993	19	19
14. Nonsan Stream A: Chungcheongnam-do, Nonsan-gun, Yangchon-myon, Sinheung-ri	Nov. 10, 1991	20	20
15. Nonsan Stream B: Chungcheongnam-do, Nonsan-gun, Yangchon-myon, Singi-ri	June 24, 1992	20	20
16. Ungcheon Stream: Chungcheongnam-do, Boryeong-gun, Ungcheon-myon, Nocheon-ri	Nov. 10, 1991	20	20
17. Masan Stream: Chollanam-do, Haenam-gun, Masan-myon, Maengjin-ri	June 25, 1992	18	18
Sympatric streams of <i>T. obscurus</i> and <i>T. brevispinis</i>			
18. Yeongdeogosib Stream: Kyeongsangbuk-do, Ganggu-myun, Ganggu-up, Soweol-ri	May 8, 1994	222	222
19. Songji Stream: Kangwon-do, Koseong-gun, Kanseong-up	July 22, 1993	20	—
20. Dongcheon Stream: Kyeongsangnam-do, Namhae-gun, Samdong-myon, Dongcheon-ri	June 26, 1992	122	122
21. Maeup Stream: Kangwon-do, Samcheok-gun, Keundeok-myon, Maengjin-ri, Keundeok-up	May 10, 1994	283	283
22. Bangjuk Stream: Chollanam-do, Yeocheon-gun, Dolsan-up	May 8, 1993	210	210
<i>T. bifasciatus</i>			
23. Yeonpyeong Isl.: Kyeonggi-do, Onjin-gun, Yeonpyeong-myon	Oct. 11, 1991	20	20

Table 2. Buffer systems and enzymes for electrophoresis.

Buffer system	E.C. No.*	Enzyme	Condition
T. C. II (pH 8.0)	2.6. 1. 2 1.1. 1.37 1.1. 1.42 1.1. 1.40 2.7. 5. 1 4.2. 1. 3 2.7. 4. 3 2.7. 3. 2 1.1. 1.49	Alanine aminotransferase (<i>Alat-1,2</i>) Malate dehydrogenase (<i>Mdh-1,2</i>) Isocitrate dehydrogenase (<i>Idh</i>) Malic enzyme (<i>Me-1,2</i>) Phosphoglucomutase (<i>Pgm</i>) Aconitate hydratase (<i>Aco</i>) Adenylate kinase (<i>Ak</i>) Creatine kinase (<i>Ck</i>) Glucose-6-phosphate dehydrogenase (<i>G6pdh</i>)	100V/3hrs
LiOH (pH 8.1)	5.3. 1. 9 N. S.** 2.6. 1. 1.	Phosphoglucose isomerase (<i>Pgi-1,2</i>) General protein (<i>Gp-1,2,3,4,5,6</i>) Glutamate oxaloacetate transaminase (<i>Got-1,2</i>)	300V/3hrs
T. M. (pH 7.4)	5.3. 1. 8 1.1. 1.43	Mannose phosphate isomerase (<i>Mpi</i>) 6-Phosphogluconate dehydrogenase (<i>6 Pgd</i>)	100V/5hrs

*E.C. No.: Enzyme commission number

**N.S.: Non specific

적 근연 관계를 알아보기 위하여 대립인자 빈도를 이용 Nei(1972)의 유전적 차이치(genetic distance coefficient)와 Rogers(1972)의 유전적 근연치(genetic similarity coefficient)를 구하였고 Sneath와 Sokal(1973)의 UPGMA 방법에 따라 dendrogram을 작성하였다.

2) 미세분포 및 잡종 분석

검정망둑과 민물검정망둑의 미세분포 상황 및 생식적 격리 수준을 면밀히 조사하기 위하여 지리적 변이 조사에서 밝혀진 동서하천들(Table 1, Fig. 1)에서는 Fig. 4와 같이 강 하구로부터 본 종들이 출현하는 최상류 사이를 각 하천의 분포상황을 고려하여 4-10개의 Site로 나누어 총 24개 Site에서 837개체를 채집하여 각 하천의 Site별 생태 및 분포상황을 조사하였다. 각 Site의 생태조건은 하구로부터의 거리, 염도 등을 측정하여 비교하였고, 분포상황은 지리적 변이 조사와 같은 방법으로 두 종의 유전적 표식인자들(*Me-1*, *Gp-4*, *Aco*)을 개체별로 검출하여 각 종 및 잡종개체의 동정에 이용하였다. 또한 잡종이 발생하는 하천에 대하여는 생식적 격리 수준을 알아보고자 각 Site 별로 유전적 표식인자들의 유전자형 빈도(genotype frequency)를 구하고 BIOSYS program(Swofford and Selander, 1981)을 이용 근친 교배치(inbreeding coefficient: F_{IS})를 조사하였다.

결과

1. 지리적 변이

1) 형태적 변이

전국의 17개 이서 하천에서 채집된 표본의 동정 및 반문형태 분석 결과는 Table 3과 같다. 제주도, 보길도, 완도, 백령도 등의 서, 남해안 도서지방 하천과 창원의 신기천 하구역에 서식하는 대부분의 검정망둑 개체들은 체측에 아가미 뒷쪽에서부터 꼬리지느러미 앞쪽까지 연속적으로 검정반문이 나타나 마치 체측에 굵은 가로줄이 있는 형상을 보여 Akihito(明仁親王)(1989)의 보고와 잘 일치하였으나 집단에 따라 몸 전체가 흑화되어 있는 개체(2%)나 체측반문이 뚜렷하지 않

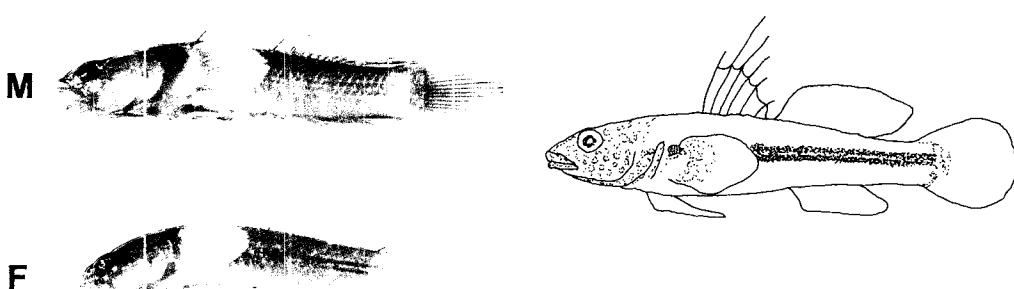
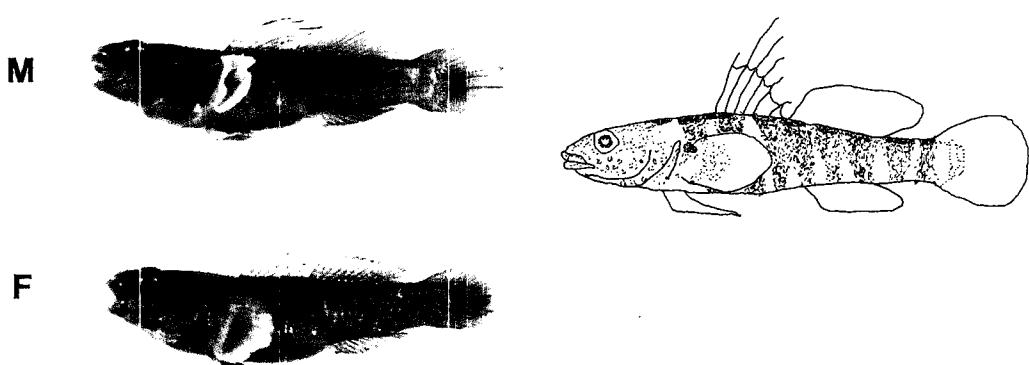
Tridentiger obscurus*T. brevispinis*

Fig. 2. The photograph and drawing showing difference of banding patterns on the body side and dorsal part between *T. obscurus* and *T. brevispinis*. M: male, F: female

Table 3. Phenotypic frequencies for diagnostic morphological characters in *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* from 17 allopatric streams.

Locality (No. of individuals)	All black color	The dark cross bands on the dorsal part		The dark bands on the body side	
		absent	present	stripe	absent
<i>T. obscurus</i>					
1. Cheju Isl. (20)	2	18		18	
2. Bogil Isl. (20)		20		19	1
3. Wando Isl. (20)		20		15	5
4. Singi Stream (20)		20		14	6
5. Baekryung Isl. (12)		12		12	
<i>T. brevispinis</i>					
6. Seomjin River (20)	2		18		18
7. Anseong Stream (20)			20	13	7
8. Kyekog Stream (20)	1		19		19
9. Kwangyang Stream (20)			20		20
10. Taehwa River (20)	2		18		18
11. Hyungsan River (20)	1		19		19
12. Okpi Stream (20)			20		20
13. Kohyun Stream (19)			19		19
14. Nonsan Stream A (20)			20		20
15. Nonsan Stream B (20)			20		20
16. Ungchon Stream (20)			20		20
17. Masan Stream (18)	2		16		16

은 개체들(13%)도 출현하였다. 그러나, 안산의 안성천, 정읍의 섬진강상류, 논산의 논산천, 용천의 웅천천, 해남의 계곡천, 마산천, 광양의 광양천, 거제도의 고현천, 울산의 태화강 하류, 영일의 형산강 하류, 울진 옥평천 등의 하천에 서식하는 한국산 민물검정망둑은 등면과 체측을 가로지르는 흑색 반문이 불규칙적으로 나타나는 특징이 있는 것이 본 조사에서 새롭게 확인되었다 (Fig. 2, Table 3). 이러한 반문 특징에 의한 두 종의 분류는 유전자 분석의 결과와도 잘 일치하여 반문 특징은 두 종의 주요 분류형질로 확인되었다. 또한 남해의 동천천, 삼척의 마읍천, 여천의 방죽포, 삼척의 오십천, 고성의 송지천 등에는 두 종이 동서하는 것으로 확인되었다(Fig. 1, Table 1).

2) 유전적 변이 및 분화

검정망둑과 민물검정망둑간의 유전적 차이를 알아보기 위하여 반문 분석을 한 전국 이서하천의 검정망둑 5개 집단 92개체, 민물검정망둑 12개 집단 237개체 및 비교종으로 선택된 동일속의 민물두줄망둑(*T. bifasciatus*) 1개 집단 20개체를 포함 총 18개 집단 349개체의 단백질 전기영동 결과 14개의 효소 및 비효소성 단백질에서 총 24개의 유전자를 검출하여 각 유전자별로 대립인자 빈도를 구한 결과는 Table 4와 같다. 총 24개의 유전자 중 *G6Pdh*를 포함한 16개 유전자

Table 4. Allele frequencies of 13 variable loci obtained from 1 / alopactic populations of *Iridomyrmex obscurus* and *I. brevispinis*. Numbers refer to collection localities listed in Table 1.

Table 4. (Continued).

Locus	Allele	T. obscurus										T. briespinis										T. bifasciatus		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	23					
<i>Me-2</i>	a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.025				
	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.975				
	c	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
<i>Pgi-2</i>	a	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.975				
	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.025				
<i>6pgd</i>	a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.050	.025	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.950	.975	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000				
<i>Got-1</i>	a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.125	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.875	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000				
<i>Mdh-1</i>	a	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.000				
<i>Mdh-2</i>	a	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000					
	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.000				

Table 5. Genotypic frequencies for three diagnostic loci in *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* from 17 allopatric streams. 'A' and 'P' of Gp-4 signifies 'absent' and 'present' of electromorph respectively.

Locality (No. of individuals)	Me-1	Gp-4	Aco
<i>T. obscurus</i>			
1. Cheju Isl. (20)	cc: 20	A: 20	aa: 20
2. Bogil Isl. (20)	cc: 20	A: 20	aa: 20
3. Wando Isl. (20)	cc: 20	A: 20	aa: 20
4. Singi Stream (20)	cc: 20	A: 20	aa: 20
5. Baekryung Isl. (12)	cc: 12	A: 12	aa: 12
<i>T. brevispinis</i>			
6. Seomjin River (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
7. Anseong Stream (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
8. Kyekog Stream (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
9. Kwangyang Stream (20)	bb: 20	P: 20	ac: 01 cc: 19
10. Taehwa River (20)	bb: 19 bc: 01	P: 20	cc: 20
11. Hyungsan River (20)	bb: 20	P: 20	aa: 01 ac: 02 bc: 01 cc: 16
12. Okpi Stream (20)	bb: 20	P: 20	aa: 01 ac: 04 bb: 01 bc: 03 cc: 11
13. Kohyun Stream (19)	bb: 19	P: 19	cc: 19
14. Nonsan Stream A (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
15. Nonsan Stream B (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
16. Ungchon Stream (20)	bb: 20	P: 20	cc: 20
17. Masan Stream (18)	bb: 18	P: 18	cc: 18

(67%)는 전 집단 공히 동일한 대립인자로 변이가 없었으나 Pgm을 포함한 8개 유전자(33%)는 변이가 있었다. 변이를 나타낸 8개 유전자 중 Pgi-1과 Got-2는 백령도 집단을 제외하고는 검정 망둑과 민물검정망둑간에 대립인자의 빈도 차이를 보였다. 또한 Gp-4는 민물검정망둑에서만 발현되는 유전자로 종간 차이가 뚜렷하였고 Me-1과 Aco도 두 종간에 대립인자의 일부가 중복되나 (Me-1^b: 0.2%, Aco^a: 1.6%) 그 빈도가 매우 낮아 이를 Gp-4, Me-1, Aco 등 3개 유전자(13%)는 두 종을 구별할 수 있는 표식인자(diagnostic loci)로 확인되었다(Table 5).

검정망둑 5개 집단은 유전자당 평균 대립인자수 $A = 1.1$ 평균 다형형빈도 $P = 5.8\%$ 이며 평균 이형접합자빈도는 $H_0 = 0.017$, $H_e = 0.020$ 으로 산출되었고, 민물검정망둑 12집단은 $A =$

Table 6. The degree of genic variation of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis*.

Population	No. of specimens	Mean no. of allele per locus (A)	Percentage of polymorphic loci (% P)	Heterozygosity	
				Observed (Ho)	Expected (He)
<i>Tridentiger obscurus</i>					
1. Cheju Isl.	20	1.1	4.2	.010	.013
2. Bogil Isl.	20	1.0	4.2	.008	.014
3. Wando Isl.	20	1.1	4.2	.027	.022
4. Singi Stream	20	1.1	8.3	.023	.026
5. Baekryung Isl.	12	1.1	8.3	.017	.026
Average		1.1	5.8	.017	.020
<i>T. brevispinis</i>					
6. Seomjin River	20	1.1	4.2	.004	.008
7. Anseong Stream	20	1.0	0.0	.000	.000
8. Kyekog Stream	20	1.1	8.3	.017	.015
9. Kwangyang Stream	20	1.1	4.2	.013	.012
10. Taehwa River	20	1.1	8.3	.019	.020
11. Hyungsan River	20	1.2	12.5	.033	.039
12. Okpi Stream	20	1.2	16.7	.035	.043
13. Kohyun Stream	19	1.1	4.2	.007	.006
14. Nonsan Stream A	20	1.1	4.2	.006	.006
15. Nonsan Stream B	20	1.1	4.2	.008	.008
16. Ungcheon Stream	20	1.1	8.3	.008	.008
17. Masan Stream	18	1.1	8.3	.019	.024
Average		1.1	7.0	.014	.016

1.1, P = 7.0%, H_o = 0.014, H_e = 0.016으로서(Table 6) 두 종 모두 타 망둑어류와 유사한 변이정도를 나타내었다 (Kim et al., 1992, Suk et al., 1993).

검정망둑 5개 집단간의 평균 유전적 근연치는 S = 0.973, 민물검정망둑 12개 집단간의 평균 유전적 근연치는 S = 0.989로 일반적인 척추동물의 종내 집단간 수준으로 나타났으며 2종간에는 유전적 근연치 S = 0.813, 유전적 차이치는 D = 0.192였다(Table 7). Table 7의 유전적 근연치를 이용 dendrogram을 작성한 결과 검정망둑과 민물검정망둑은 뚜렷히 구분되었다(Fig. 3).

2. 동서하천에서의 미세 분포 및 생식적 격리

남해 동천천, 삼척 마음천, 영덕 오십천, 여천 방죽천 등 2종이 모두 서식하는 4개의 동서 하천에서 Fig. 4, Table 8과 같이 총 24개 Site에서 채집된 837개체의 반문 분석 결과, 두 종의 특징을 모두 가진 중간 형태 개체는 여천 방죽천에서만(210개체 중 25개체) 발견되었고 남해 동천천을 포함한 나머지 3개 하천에서는 전혀 발견되지 않았다. 또한 각 개체들에 대하여 두 종의 표식인자(Me-1/Gp-4/Aco)의 유전자형을 확인한 결과(Fig. 5)에서도 여천 방죽천 집단을 제외한 나머지 3개 하천에서는 F₁ 잡종개체로 인정되는 bc/P/ac 또는 bc/P/ab의 유전자형 개체는

Table 7. Rogers'(1972) genetic similarity coefficients (above diagonal) and Nei's distance (1972) (below diagonal) based on allele frequencies of 24 genetic loci among 17 allopatric populations of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis*.

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	23
<i>T. obscurus</i>																		
1. Cheju Isl.	—	.997	.990	.988	.938	.796	.798	.803	.796	.789	.800	.802	.800	.799	.801	.794	.787	.670
2. Bogil Isl.	.000	—	.993	.991	.941	.798	.800	.804	.798	.791	.802	.804	.801	.801	.802	.796	.788	.667
3. Wando Isl.	.002	.001	—	.997	.948	.805	.807	.812	.805	.798	.809	.811	.808	.808	.809	.803	.796	.661
4. Singi Stream	.002	.001	.000	—	.949	.807	.809	.813	.807	.799	.810	.813	.810	.810	.811	.805	.797	.664
5. Baekryeung Isl.	.048	.045	.036	.033	—	.857	.859	.864	.857	.850	.860	.863	.860	.860	.861	.855	.848	.673
<i>T. brevispinis</i>																		
6. Seomjin River	.218	.216	.203	.199	.139	—	.996	.993	.998	.991	.982	.981	.997	.997	.996	.996	.988	.679
7. Anseong Stream	.219	.216	.203	.200	.139	.000	—	.992	.994	.989	.978	.976	.997	.997	.996	.996	.984	.677
8. Kyekog Stream	.209	.207	.196	.193	.139	.001	.001	—	.991	.984	.985	.984	.995	.995	.996	.991	.984	.684
9. Kwangyang Stream	.217	.214	.201	.198	.137	.000	.000	.001	—	.991	.984	.983	.995	.995	.994	.994	.988	.681
10. Taehwa River	.221	.218	.205	.202	.140	.001	.002	.002	.001	—	.985	.973	.987	.988	.986	.989	.989	.679
11. Hyungsan River	.202	.199	.189	.185	.132	.002	.004	.002	.002	.002	—	.986	.981	.981	.982	.978	.985	.691
12. Okpi Stream	.198	.196	.185	.182	.129	.003	.003	.002	.002	.004	.002	—	.980	.980	.981	.976	.973	.687
13. Kohyun Stream	.216	.213	.201	.197	.139	.000	.000	.000	.000	.002	.003	.003	—	1.000	.999	.995	.987	.679
14. Nonsan Stream A	.216	.213	.201	.197	.139	.000	.000	.000	.000	.002	.003	.003	.000	—	.999	.995	.987	.679
15. Nonsan Stream B	.214	.211	.200	.196	.138	.000	.000	.000	.000	.002	.003	.002	.000	.000	—	.994	.986	.680
16. Ulgchon Stream	.221	.218	.205	.201	.140	.000	.000	.001	.000	.001	.003	.003	.000	.000	.000	—	.984	.679
17. Masan Stream	.223	.221	.208	.205	.145	.003	.005	.004	.002	.001	.002	.005	.004	.004	.004	.004	—	.684
<i>T. bifasciatus</i>																		
23. Yeonpyeong Isl.	.391	.392	.395	.390	.373	.376	.381	.364	.372	.374	.347	.351	.375	.375	.373	.378	.366	—

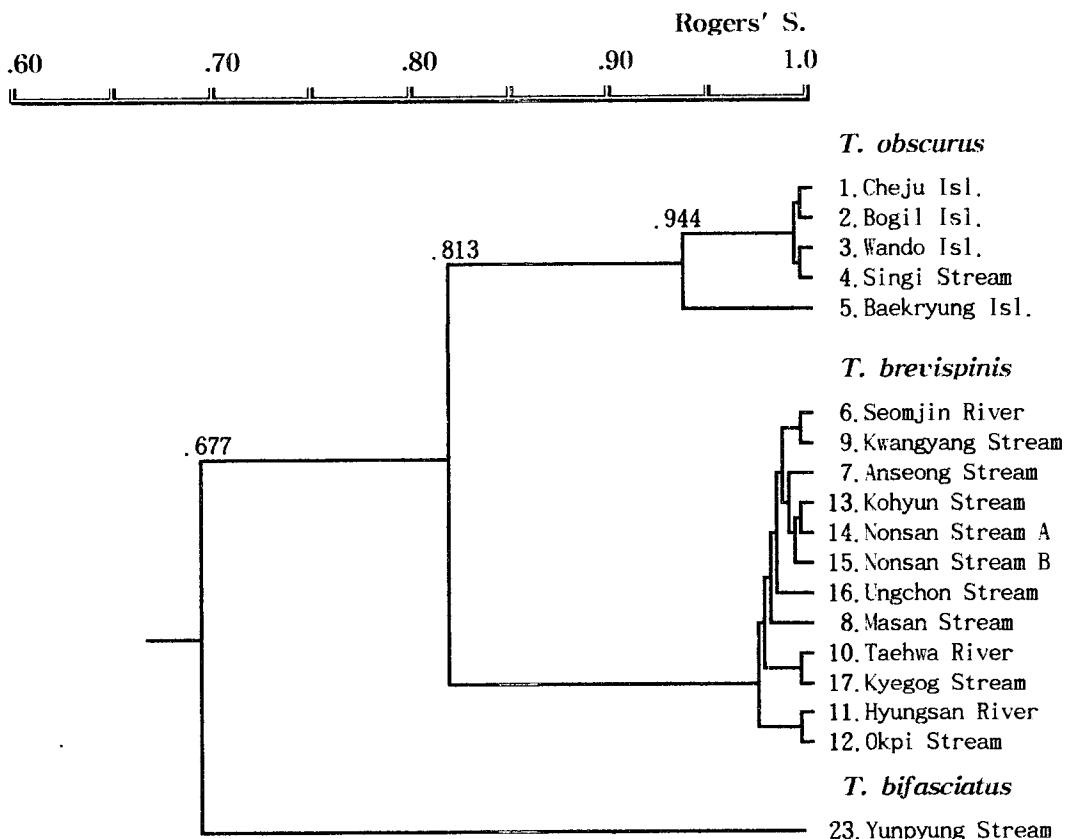


Fig. 3. Dendrogram of 17 allopatic populations of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* based on Rogers' genetic similarity coefficients.

물론 *Aco*의 대립인자 일부가 두 종간에 중복된다는 점을 고려하여 F_1 개체로 간주가 가능한 *bc/P/aa* 또는 *bc/P/cc*의 유전자형 개체들도 전혀 출현하지 않아(Table 8) 현재는 두 종간에 유전자 교환이 없는것으로 나타났다.

남해 동천천에서는 Site 2와 Site 3 사이의 약 2 m 높이 보를 경계로 하류에는 검정망둑이 주로 서식하고 염도가 거의 0%인 담수에는 민물검정망둑만이 독립 서식하였으며 비교적 대형 하천인 삼척 마읍천과 영덕 오십천의 Site들은 공히 두 종의 이서하천에 비하여 표식인자 중 *Me-1^{bc}*와 *Aco^{ac}* 또는 *Aco^{ab}*의 유전자형 빈도가 다소 높아 종간의 대립인자 중복 정도가 다소 크나 *Me-1*의 잡종 유전자형(*Me-1^{bc}*)은 검정망둑이 주로 서식하는 상류역에만 존재하고, *Aco*의 잡종 유전자형(*Aco^{ac}*와 *Aco^{ab}*)은 민물검정망둑이 주로 서식하는 하구역에서만 존재하는 특징을 보여 두 잡종 유전자형(*Me-1^{bc}*과 *Aco^{ac}* 또는 *Aco^{ab}*)을 모두 가지며 동시에 *Gp-4* 유전자도 잡종 유전자형(*Gp-4^P*)을 가지는 F_1 잡종개체는 없었다. 그 중 삼척 마읍천에서는 하구로 부터의 거리가 700 m 떨어진 염도 0.07%인 Site 4를 포함한 상류의 담수역에는 민물검정망둑이 주로 서식하고 그 하류에는 검정망둑이 주로 서식하였고 영덕 오십천의 경우에는 하구로 부터의 거리가 2.4-2.6 km 떨어진 염도 0.01-0.02%의 Site 3과 Site 4에서 두 종이 모두 공존할 뿐 그 상류에는 민물검정망둑만이 서식하고 그 하류에는 검정망둑만이 서식하는것으로 나타났다. 반면에, 수계가 1 km 내외의 짧은 소형 하천으로 비교적 해수의 침입이 심하여 만조시 측정된 최상류의 염도가

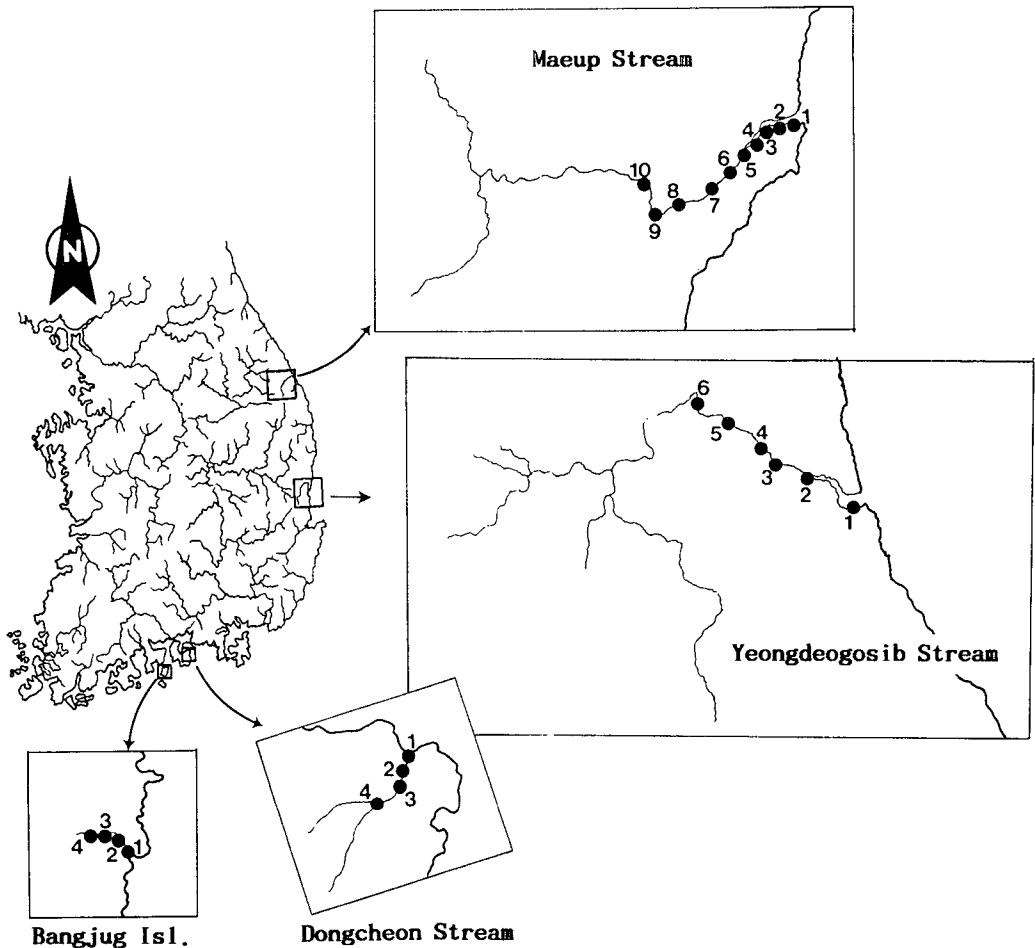


Fig. 4. Collection sites at four sympatric streams.

타 하천의 하구역보다 높은 방죽천에서는 조사된 모든 Site에서 두 종이 공존하며 두 종간에 유전자교환이 뚜렷하여 조사된 총 210개체 중에는 F_1 (22개체: 10.4%)과 역교배(backcross) 및 F_2 이상(32개체: 15.2%)으로 간주되는 유전자형의 개체들이 모든 Site에서 출현하였다. 이렇게 총 25.6%의 잡종개체가 출현하는 여천 방죽천 집단의 생식적 격리 수준을 조사하고자 각 Site 별로 이형 접합자의 분석이 가능한 유전적 표식인자들(*Me-1*과 *Aco*)의 유전자형 빈도를 이용하여 근친 교배치(inbreeding coefficient: F_{IS})를 구한 결과 Table 9와 같이 모든 Site에서 조사된 잡종 유전자형의 빈도가 완전한 자유교배시에 기대되는 빈도 보다 훨씬 낮아 근친 교배치는 $F_{IS} = 0.376 - 0.670$ 으로 나타났다.

고 찰

종전까지 한 종으로 보고되어오던 한국산 검정망둑을 최근 Kim과 Choi(1989)가 담수산인 민물검정망둑과 기수산인 검정망둑 2종으로 보고하였으나 외부형태상으로 식별이 어렵고 조사된 모든 형태형질들의 값이 2종간에 서로 중복되는 등 뚜렷한 분류형질이 밝혀지지 않아 분류학적으로

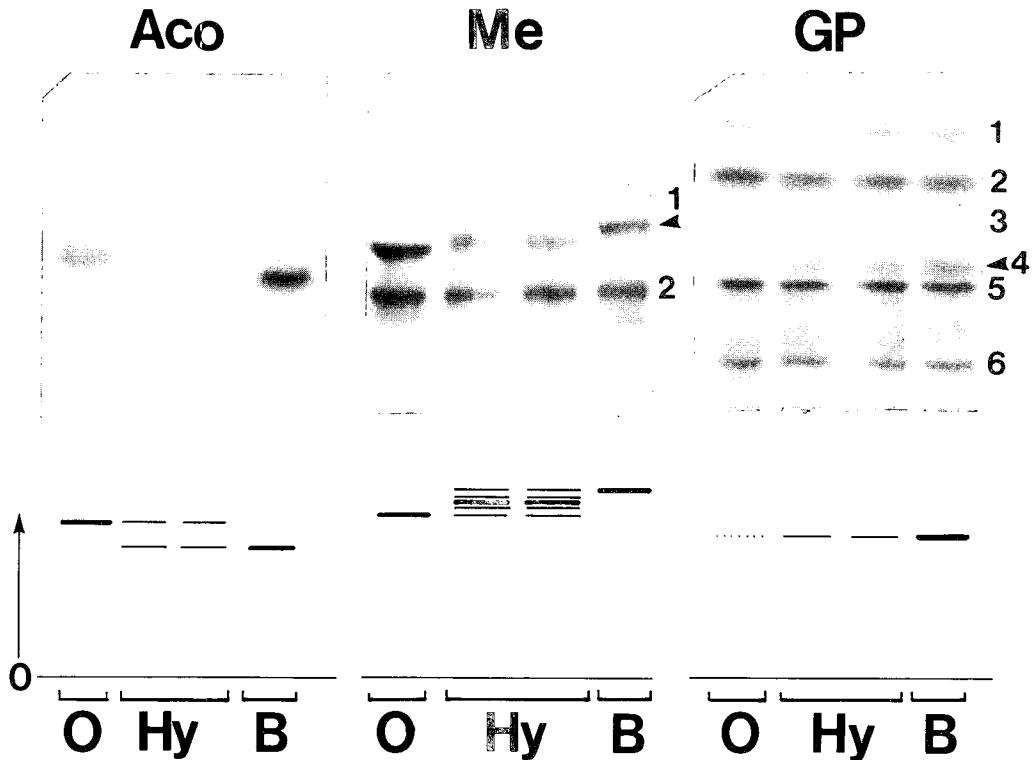


Fig. 5. Zymograms and diagrams of Aco, Me-1 and Gp-4 genotypes for *Tridemotus obscurus* (O), *T. brevispinis* (B) and their hybrids (Hy).

면밀한 검토가 요구되어 왔다. 이에 본 연구는 전국의 하천에서 검정망둑과 민물검정망둑을 채집하여 형태반문 분석 및 유전자 분석을 실시한 결과, 2종간에는 뚜렷한 체측반문의 차이와 유전적 차이가 있음을 확인하였다. 검정망둑은 체측에 연속되는 가로줄 반문을 가진 반면 담수산인 민물검정망둑은 등면과 체측에 흑색 반문이 불연속적으로 존재하는 차이를 보였고 유전적으로도 조사된 총 24개의 유전자 중 3개의 유전적 표식인자(Me-1, Aco, Gp-4)와 빈도 차이가 있는 Got-2, Pgi-1 유전자가 발견되어 2종은 잘 구분되었다. 그러나 유전적 균연치는 $S = 0.813$, 유전적 차이치는 $D = 0.192$ 로 일반적인 척추동물의 종간 수준 이하의 유전적 분화 수준을 보여 정확한 분류학적 위치를 확인하기 위해서는 생식적 격리 수준의 추가 분석이 요구되었다.

최근들어 이러한 생식적 격리 수준의 분석은 균연종 및 자매종간 잡종 발생시 잡종개체의 인식이 어려운 형태분석 방법을 극복할 수 있는 유전학적 분석 방법들이 도입되어 이루어지고 있으며 (Ferguson, 1980) 이를 통해 기존의 분류체계가 재정립 되고 있다(Whitt et al., 1973, 1977; Barrowclough, 1980; Dowling and Moore, 1984; Sakai and Hamada, 1985; Echelle and Connor, 1989; Borowsky, 1990; Arnold et al., 1990; Kim and Yang, 1993). 이에 민물검정망둑과 검정망둑이 동서하는 4개의 하천에서 총 837개체를 채집 두 종의 유전적 표식인자를 이용하여 잡종 분석을 실시한 결과 하천에 따라 차이가 있었다. 즉, 두 종의 중간형태 개체들이 존재하는 여천 방죽도 하천에서는 F_1 잡종 유전자형이 존재하나 그 하천 외의 타 동서하천에서는 두 종간의 F_1 잡종 개체는 없었고, 대체로 민물검정망둑이 검정망둑에 비하여 염도가 낮거나 완전 담수인 상류역에 서식하여 두 종은 염도에 따른 서식처 차이가 확인되었다. 한편, 여천 방죽천에서는 유일하게 자연잡종이 25.6% 확인되었는데 강 하구로부터 상류역까지

Table 8. Habitat segregation and genotypic frequencies in *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* from 25 sites within the four sympatric streams. Sequence within genotype is Me-1, Gp-4 and Aco. Asterisk signifies genotypes that could be interpreted as backcrosses, because *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* share alleles at a low frequency in two loci(Me-1 and Aco), and it is impossible to distinguish these individuals from parents or F1 hybrids.

Table 9. Inbreeding coefficients (F_{IS} : By measuring the deviation of genotypic frequencies from Hardy-Weinberg equilibrium) for 4 subpopulations at Bangjuk stream. $F_{IS} = (\text{heterozygotes expected} - \text{heterozygotes observed})/\text{heterozygotes expected}$ where '1' indicates perfect random mating and '0' indicates perfect inbreeding.

Site No.	Me-1			Aco		
	Observed heterozygotes	Expected heterozygotes	F_{IS}	Observed heterozygotes	Expected heterozygotes	F_{IS}
1	5	8.111	0.376	4	7.309	0.442
2	15	37.644	0.599	18	37.842	0.522
3	10	24.071	0.581	16	26.867	0.581
4	6	18.411	0.670	7	18.534	0.670

조사한 결과 전 Site에서 두 종이 함께 서식하여 뚜렷한 서식처 분리가 없었으며, 만조시 민물검정망둑이 주로 서식하는 최상류역(Site 4)까지 해수가 유입(염도 0.8%)될 정도로 하천이 협소하여 하천의 염도 변화가 매우 심한 것으로 생각되며 잡종 발생은 염도 선호도에 의한 서식처 격리의 유지가 되지 않기 때문으로 사료된다. 이러한 현상은 “생태적 선호도(ecological preference)에 의한 격리는 각 종의 차이를 유지시키기에는 매우 약한 격리기작이어서 약간의 환경파괴에도 깨어질 수 있다.”는 Mettler 등(1988)의 이론을 뒷받침하는 좋은 예로 사료된다. 그러나 잡종이 발생하는 여천 방죽천의 경우 전 Site에서 잡종개체의 빈도가 현저히 낮은데 이러한 현상은 일반적으로 선택적 교배(assortative mating)에 의한 교배전 격리기작(premating isolating mechanism) 또는 교배후 격리기작(postmating isolating mechanism)에 의한 잡종 열세(hybrid inferiority)에 의한 결과로 여겨진다. 본 집단의 경우 잡종개체의 대부분이 성체이고 F_1 보다 역교배 및 F_2 이상으로 사료되는 개체수가 많은것으로 보아 교배후 격리 기작이 작용하는 것으로 사료된다.

이러한 동서하천의 미세분포 및 유전자 분석의 결과로 보아 한국산 검정망둑과 민물검정망둑은 하천의 염도에 따라 parapatric하게 적응 분화되어 서식하는 별개의 분류군으로 사료되며 서식처 분리가 깨지는 경우 이들간에 자연잡종이 발생되는 점으로 미루어 보아 종수준의 분화는 되어 있지 않다고 여기며 잡종이 형성되는 지역에서 잡종개체의 빈도가 현저히 낮은 점으로 보아 이들은 아종(subspecies) 이상으로 분화되었음을 알 수 있어, 이들 검정망둑과 민물검정망둑은 현재 종분화 중인 반종(semispecies)으로 사료된다. 따라서 학명은 종분화가 완성되지 않은 상태이므로 검정망둑은 *T. obscurus obscurus*, 민물검정망둑은 *T. obscurus brevispinis*로 사용하는 것이 타당하리라 사료된다.

참고문헌

- Akihito(明仁親王), 1989. チチブ類: 日本の淡水魚類. 東海大學出版會, pp. 167-178.
 Akihito, M. Hayashi and T. Yoshino, 1984. Suborder Gobioidei. In: The fishes of the Japanese Archipelago, 2nd ed. (Eds., H. Masuda *et al.*), pp. 260-261. Tokai Univ. Press, Tokyo (in Japanese).
 Arnold M.L., B.D. Bennett and E.A. Zimmer, 1990. Natural hybridization between *Iris fulva* and *Iris hexagona*: Pattern of ribosomal DNA variation. Evolution 44(6): 1512-1521.

- Barrowclough, G.F., 1980. Genetic and phenotypic differentiation in a Wood Warbler (Genus *Dendroica*) hybrid zone. *The Auk*, **97**: 655-668.
- Borowsky R., 1990. Habitat choice by allelic variants in *Xiphophorus variatus* (Pisces; Poeciliidae) and implications for maintenance of genetic polymorphism. *Evolution*, **44**: 1338-1345.
- Butch, D.G., 1986. Locus nomenclature and enzyme staining procedures for teleost fishes (personal description).
- Chyung, M.K., 1977. The fishes of Korea. Il-Ji Sa, Seoul, pp. 490-492 (in Korean).
- Dowling T.E. and W.S. Moore, 1984. Level of reproductive isolation between two cyprinid fishes, *Notropis cornutus* and *N. chrysoccephalus*. *Copeia*, **1984**(3): 617-618.
- Echelle A.A. and P.J. Connor, 1989. Rapid, geographically extensive genetic introgression after secondary contact between two pupfish species (*Cyprinodon*, Cyprinodontidae). *Evolution*, **43**(4): 717-727.
- Ferguson, A., 1980. Biochemical systematics and evolution. Halsted Press, New York, pp. 1-187.
- Jeon S.R., 1994. Studies on the key and distribution of the genus *Tridentiger* (Pisces: Gobiidae) from Korea. *J. Nat. Sci., Sangmyung Woman's Univ.*, **1**: 1-25 (in Korean).
- Katsuyama, I., R. Arai and M. Nakamura, 1972. *Tridentiger obscurus brevispinis*, a new gobioid fish from Japan. *Bull. Natn Sci. Mus., Tokyo*, **15**(4): 593-606.
- Kim I.S. and Y. Choi, 1989. A taxonomic study of goby, the genus *Tridentiger* (Gobiidae, Pisces) from Korea. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **22**(2): 59-69 (in Korean).
- Kim, J.B., S.Y. Yang and H.J. Son, 1992. The taxonomic study on the freshwater goby (*Rhinogobius brunneus*, Family Gobiidae) in Korea. *Bull. I.B.S. Inha Univ.*, **13**: 49-61. (in Korean)
- Kim J.H., and Yang S.Y., 1993. Systematic studies of the genus *Cobitis* (Pisces: Cobitidae) in Korea. IV. Introgressive hybridization between two spined loach subspecies of the genus *Cobitis*. *Korean J. Zool.*, **36**: 535-544.
- Mettler, L.E., T.G. Gregg and H.E. Schaffer, 1988. Population genetics and Evolution (2nd ed.). 325 pp. Prentice Hall Inc., New Jersey.
- Mori, T., 1952. Check list of the fishes of Korea. *Hyogo Univ. Agr.*, **1**(3): 147-148 (in Japanese).
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, **6**: 283-292.
- Nelson, J.S., 1984. Fishes of the World (2nd ed.). 523 pp. John Wiley & Son., 523 pp.
- Rogers, J.S., 1972. Measure of genetic similarity and genetic distance. *Studies in genetics VII. Univ. Texas Publ.*, **7213**: 145-153.
- Sakai, H. and K. Hamada, 1985. Electrophoretic discrimination of *Tribolodon* species (Cyprinidae) and the occurrence of their hybrids. *Jap. J. Ichthyol.*, **32**(2): 216-224.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy, W.H. Freeman Co. San Francisco.
- Suk, H.Y., J.B. Kim and S.Y. Yang, 1993. Speciation and distribution of the floating goby (*Chaenogobius annularis*, Family Gobiidae) in Korea. *Bull. I.B.S. Inha Univ.*, **14**: 105-116 (in Korean).
- Swofford, D.L., and R.B. Selander, 1981. BIOSYS-1: FORTRAN Program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics. *J. Heredity*, **72**: 281-283.
- Temminck, C. and H. Schlegel, 1845. Fauna Japonica. Leiden. Pisces, **4**: 113-172.
- Whitt, G.S., W.F. Childers and P.L. Cho, 1973. Allelic expression at enzyme loci in an intertribal hybrid sunfishes. *J. Hered.*, **64**: 55-61.
- Whitt, G.S., D.P. Philipp and W.F. Childers, 1977. Aberrant gene expression during the development of hybrid sunfishes (Perciformes, Teleosteii). *Differentiation*, **9**: 97-109.
- Yang S.Y., B.S. Park, J.H. Kim and J.B. Kim, 1991. Systematic studies of the genus *Cobitis* (Pisces: cobitidae) in

Korea. I. Geographic variations and classification of *Cobitis koreensis*. Korean J. Zool., **32**: 242-251 (in Korean).

RECEIVED: 7 August 1995

ACCEPTED: 25 August 1995

Taxonomic Study on Two Species in the Genus *Tridentiger* (Pisces: Perciformes: Gobiidae).

Jong Bum Kim and Suh Yung Yang

(Department of Biology, Inha University, Inchon 402-751, Korea)

ABSTRACT

Morphological and isozyme analyses were used to examine closely related species of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis*, a pair of cryptic species which has intricate problem with regard to species boundary, and to clarify the taxonomic position. In this study, it was revealed from their 17 allopatric streams that there are differences of band ornamentation on the lateral side and three genetic markers between two species. However, genetic relationship between them ($S = 0.813$, $D = 0.192$) was within the intraspecific level of similarity. However, at the sympatry of two species no hybrid was found except at Bangjuk stream where the electrophoretic hybrids with slight deficiency of heterozygosity were observed. It is shown that at sympatry there is a finer microenvironmental subdivision between two species at all populations including Bangjuk stream. To manifest the extent of assortative mating, four sympatric subpopulations at Bangjuk stream were analyzed for departure from Hardy-Weinberg equilibrium by F-statistics. All subpopulations were deviated significantly from the expectation under random mating. The evidences presented here supports the recognition of *Tridentiger obscurus* and *T. brevispinis* as semispecies in the late stage of reproductive isolation.