한국동물분류학회지 제12권 제4호
The Korean Journal of Systematic Zoology
Vol. 12, No. 4: 331-347 (December 1996)

밀어속(genus *Rhinogobius*, Gobiidae) 어류의 계통분류학적 연구 II. 한국산 밀어(*R. brunneus* complex) 3型의 분포 및 분류학적 고찰

김 종 범 · 양 서 영
(인하대학교 이과대학 생물학과)

적 요

한국산 밀어(*R. brunneus* complex)에 대한 지리적 변이 및 분포를 조사한 결과 반문 및 체색 등에 뚜렷한 차이가 있는 3 type이 채집되었다. 이들은 유전적으로도 type간에 총 genome의 26-30%(A-B type: 30%, A-C type: 30%, B-C type: 26%) 차이가 있어 유전적 근연치(Rogers' S)가 S=0.628-0.661(A-B type: 0.631, A-C type: 0.628, B-C type: 0.661)로 뚜렷한 유전적 차이를 나타냈다. 각 type의 유전적 변이 정도를 비교한 결과 A-type은 평균 $\bar{P}$=25.90%, $\bar{Ho}$=0.081, $\bar{He}$=0.092로 B-type($\bar{P}$=12.33%, $\bar{Ho}$=0.037, $\bar{He}$=0.044)과 C-type($\bar{P}$=11.10%, $\bar{Ho}$=0.032, $\bar{He}$=0.048)에 비하여 약 2배 이상 높은 특징을 보였다. 이들 3 type의 분류학적 위치를 명확히 구명하고자 3 type이 모두 서식하는 고성의 북천에서 유전적 표식인자를 이용하여 각 type간의 생식적격리 수준을 분석하였다. 이들 3 type은 동서(同棲)하천에서 하구로부터의 거리에따라 parapatric 하게 서식하면서 각 type간에 유전자 교환이 전혀없었다. 이러한 결과로부터 3 type은 이미 생식적 격리가 완성되고 미세분포역에 차이가 있는 별종으로 판단되었다.

Key words: Taxonomy, *Rhinogobius brunneus* complex, microhabitat segregation, isozyme, genetic differentiation, reproductive isolation

서 론

밀어는 담수에 흔히 서식하는 소형 저서성 어류로 형태적으로 주둥이 위에 1쌍의 붉은 띠가 있는 독특한 특징이 있으며 필리핀으로부터 시베리아까지 넓게 분포한다 (Mizuoka, 1978).

* 본 연구는 1994년도 인하대학교 교내연구비 지원에 의한 것임.

학명은 *Rhinogobius similis* Gill(1859)가 일반적으로 사용되어 오다가 Takagi(1962)가 Temminck와 Schlegel(1845)이 기재한 완모식표본(holotype)이 본 종과 일치함을 밝혀 *Rhinogobius brunneus* Temminck and Schlegel, 1845로 정정 되었다. 그 후 본 종은 반문 및 체색 등의 변이가 다양함이 밝혀져 일본에는 9 type의 서식이 보고되었고(Mizuno, 1976: Mizuoka, 1974, 1978: Akihito *et al.*, 1993), 대만에는 3 type이 보고되어있다(Tzeng, 1986). 국내에서는 본 연구자들(Kim *et al.*, 1992)이 종수준의 유전적 차이를 보이는 2가지 color type의 서식을 국명신칭과 함께 보고하였고, 그 후 Jeon과 Aonuma(1995)가 국명신칭과 함께 3 type의 서식을 보고한바 있다. 최근에 일본에서는 이들 각 type들의 분류학적 위치에 관한 많은 연구들이 진행되고 있으나 현재까지도 논란이 많다(Akihito *et al.*, 1988, Masuda *et al.*, 1989: Akihito *et al.*, 1993: Katoh and Nishida, 1994).

본 연구는 밀어 3 type을 전국에서 수계별로 채집하여 체색 및 반문형태를 추가 분석하고, 아울러 전기영동을 이용한 isozyme 분석을 통해 각 type간의 유전적 분화수준을 확인하는 한편, 3 type이 모두 출현하는 동서(同棲) 하천에서 각 type의 미세분포 상황과 유전적 표식 인자들(genetic markers)을 이용한 생식적 격리 수준의 구명을 통해 이들의 분류학적 위치를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

한국산 밀어 3 type의 형태적 변이 및 분포 조사를 위해 전국 하천에서 총 45개 집단을 채집하여 분석하였고 비교 집단으로 일본 아마미섬에서 2개 type 25개체를 채집하였다(Fig. 1). 이들 중 총 21집단 402개체를 각 type의 대표집단으로 선정하여 전기영동을 이용한 유전자 분석에 이용하였다(Table 1). 채집 도구는 족대(망목 3 × 3mm)와 투망(망목 5 × 5mm)을 사용하였고 채집된 개체는 탈색 및 단백질변성을 막기위하여 채집 즉시 Dry Ice에 급냉시켜 실험실로 운반 한 후 반문형태 분석 및 전기영동용 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 지리적 변이 분석

형태분석은 각 개체별로 Mizuno(1976)와 Mizuoka(1978)의 분류 기준에 따라 뺨, 가슴 지느러미 기부, 각 지느러미 등의 반문형태 및 각 부위에 나타나는 체색의 특징 등 총 4개 형질을 비교하였고 형질의 특징을 자연 상태와 10% formalin에 고정된 상태로 구분하여 분석하였다. 반문분석이 끝난 개체들은 체측에서 근육을 적출하거나 적출이 어려운 작은 개체는 두부, 표피, 내장을 제외한 전체 근육을 취하여 4°C에서 glass homogenizer(B. Brown co.)로 마쇄하고 Sorvall RC-5B(Rotor SS-34)를 이용 18,000 rpm(39,000g)으로 30분간 저온 원심분리 하여 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 수평 전분 전기영동법(horizontal starch gel eletrophoresis)을 실시하였고 gel은 Sigma starch(Lot 71H-0760)를 11.2% 농도로 사용하였다. 전기영동으로 분석한 효소 및 비효소 단백질의 종류와 buffer system은

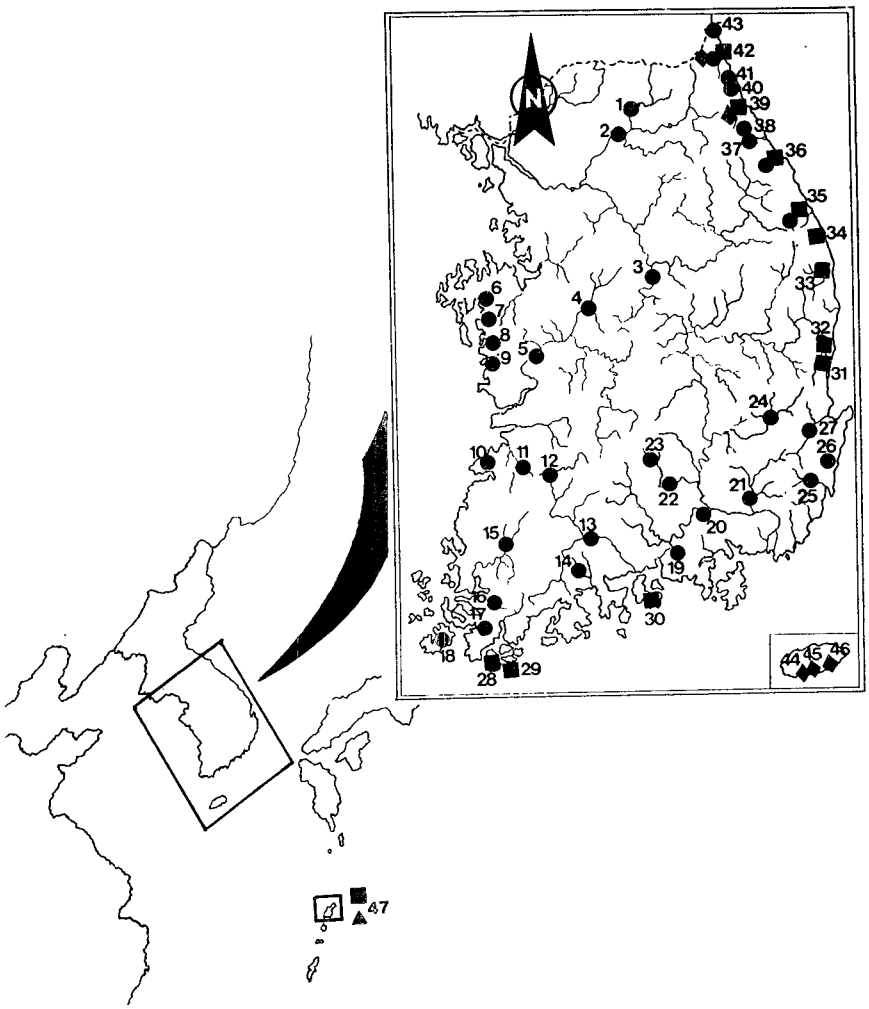


Fig. 1. A map showing the distribution of *Rhinogobius brunneus* complex in Korea and Amami Isl. of Japan. Circle: A type, square: B type, diamond: C type, triangle: X type of Japan.

1. Kapyeong, 2. Cheongpyeong, 3. Songgye, 4. Nonsan, 5. Cheongweon, 6. Ssangcheon, 7. Kwangcheon, 8. Jinjuk, 9. Ungcheon, 10. Baekcheon, 11. Chilbo, 12. Jeongeup, 13. Kurye, 14. Seungju, 15. Damyang, 16. Yeongam, 17. Haenam, 18. Jindo, 19. Jinyang, 20. Euiryung, 21. Milyang, 22. Sancheong, 23. Hamyang, 24. Yeongcheon, 25. Ulsan, 26. Ulju, 27. Yeongil, 28. Wando, 29. Bogildo, 30. Namhae, 31. Chooksan, 32. Byeongkok, 33. Uljin, 34. Hosan, 35. Samcheok, 36. Jusucheon, 37. Kyungpo, 38. Namdaecheon, 39. Yeonkokcheon, 40. Yangyang, 41. Sokcho, 42. Koseong, 43. Myeongpa, 44. Kangjeongcheon, 45. Akkeuncheon, 46. Cheonjeyeon, 47. Amami Isl. of Japan.

Table 1. Collecting localities, dates and number of specieimens for genic analysis of 21 populations in the *Rhinogobius brunneus* complex from Korea and Japan.

Collection locality	Collection date	No. of specimens
***Rhinogobius brunneus* A type**		
1. Kyeongki-do, Kapyeong-gun, Kapyeong-eup: Bukhan River(Kapyeong Stream)	1991. 5. 5	32
2. Kyeongki-do, Kapyeong-gun, Woiseo-myun, Cheongpyeong-ri: Bukhan River(Jojong Stream)	1991. 5. 18	20
3. Chungcheongbuk-do, Cheweon-gun, Hansu-myun, Songgye-ri: Namhan River	1991. 6. 30.	20
4. Jeollabuk-do, Jeongeup-gun, Chilbo-myun, Haengdan-ri: Dongjin River	1990. 7. 13.	20
5. Jeollabuk-do, Jeongeup-gun, Sannae-myeon, Mejuk-ri: Seomjin River	1992. 6. 24.	20
6. Kyungsangbuk-do, Yeongchun-gun, Jayang-myun: Keumho River(Jayang Stream)	1991. 4. 23.	20
7. Jeollanam-do, Yeongam-gun, Yeongam-myun, Chunyang-ri: Yeongam Stream	1993. 5. 5.	18
8. Kangwon-do, Samcheok-gun, Keundeok-myun, Keundeok-eup: Maeup Stream	1994. 5. 20.	19
9. Kangwon-do, Myeongju-gun, Oggye-myun, Jusu-ri: Jusu Stream	1993. 10. 14.	20
10. Kangwon-do, Myeongju-gun, Wangsan-myun, Doma-ri: Namdae Stream	1992. 10. 9	9
11. Kangwon-do, Koseong-gun, Kanseong-eup: Buk Stream	1993. 7. 21	8
***Rhinogobius brunneus* B type**		
12. Jeollanam-do, Wando-gun, Wando-eup: Wando Isl.	1991. 9. 1	20
13. Kyeongsangnam-do, Namhae-gun, Samdong-myun, Dongcheon-ri: Dongcheon Stream	1991. 10. 27	20
14. Kyeongsangbuk-do, Yeongdeog-gun, Chooksan-myun, Dogog-ri: Chooksan Stream	1991. 7. 6	20
15. Kyungsangbuk-do, Uljin-gun, Keunnam-myun, Noeum-ri: Pkpi Stream	1992. 6. 28	20
16. Kangwon-do, Samcheok-gun, Keundeok-myun, Keundeok-eup: Maeup Stream	1994. 5. 20	20
17. Kangwon-do, Koseong-gun, Kanseong-eup: Buk Stream	1993. 7. 21	40
18. Japan, Amami-Isl.: Choho Stream	1993. 6. 25	20
***Rhinogobius brunneus* C type**		
19. Cheju-do, Seogwipo-shi, Kangjeong-dong: Cheju Isl.(Akkeun Stream)	1992. 7. 31	20
20. Kangwon-do, Koseong-gun, Kanseong-eup: Buk Stream	1993. 7. 21	11
***Rhinogobius brunneus* Reference type(X type)**		
21. Japan, Amami-Isl.: Choho Stream	1993. 6. 25	5

Table 2와 같다. 전기영동 후 효소 및 비효소 단백질의 전기 영동상에서 각 개체별로 유전자형을 확인하였고 이를 이용 BIOSYS program(Swofford and Selander, 1981)으로 각 집단의 대립인자 빈도(allele frequency), 평균 다형형 빈도(% polymorphism)및 이형 접합자 빈도(heterozygosity)값을 구하여 각 집단의 유전적 변이정도를 조사하였다. 아울러 각 집단간의 유전적 근연 관계를 알아보고자 대립인자 빈도를 이용하여 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.

Table 2. Buffer systems and enzymes used for electrophoresis.

Buffer system	E. C. No.*	Enzyme	Condition
T. C. II (pH 8. 0)	2. 6. 1. 2	Alanine aminotransferase(*Alat-1, 2*)	100V/3hrs
	1. 1. 1. 37	Melate dehydrogenase(*Mdh-1, 2*)	
	1. 1. 1. 42	Isocitrate dehydrogenase(*Idh*)	
	1. 1. 1. 40	Malic enzyme(*Me-1, 2*)	
	2. 7. 5. 1	Phosphoglucomutase(*Pgm*)	
	4. 2. 1. 3	Aconitate hydratase(*Aco*)	
	2. 7. 3. 2	Creatine Kinase(*Ck-1, 2*)	
LiOH (pH 8. 1)	5. 3. 1. 9	Phosphoglucose isomerase(*Pgi-1, 2*)	300V/3hrs
	N. S.**	General protein(*Gp-1, 2, 3, 4, 5*)	
	2. 6. 1. 1	Glutamate oxaloacetate isomerase(*Got-1, 2*)	
	3. 4. 11. 11	Peptidase(*Pept-1*)	
	1. 1. 1. 27	Lactate dehydrogenase(*Ldh-1, 2*)	
	1. 1. 1. 29	Glycerate dehydrogenase(*Glydh*)	
T. M. (pH 7. 4)	5. 3. 1. 8	Mannose phosphate isomerase(*Mpi*)	100V/5hrs
	1. 1. 1. 43	6-Phosphogluconate dehydrogenase(*6Pgd-1*)	
	1. 1. 99. 5	*a*Glycerophosphate dephdrogenase(*aGpd*)	

* E. C. No.: Enzyme commission number
** N. S.: Non specific

2) 동서(同棲) 하천에서의 미세분포 및 잡종 분석

밀어 3 type이 모두 서식하는 고성의 북천에서 각 type의 미세분포 상황 및 type 간의 생식적 격리 수준을 면밀히 조사하였다. 강 하구로 부터 최상류까지 성체의 채집을 시도한 결과 폭 2-3m의 여울 4개 지점에서 총 3 type 62개체를 채집하였으며 각 지점별로 type빈도 및 생태 조건을 분석하였다. 각 지점의 생태조건은 하구로부터의 거리와 수온, 산소용존도 등을 야외용 수질분석기(Horiba U-10)로 측정하여 비교하였다. Type 빈도 조사시 각 type의 개체와 잡종개체의 동정은 지리적 변이 조사에서와 같이 각 type의 유전적 표식인자들을 분석하여 동정하였다.

결 과

1. 형태적 변이 및 분포

전국에서 채집된 한국산 밀어의 체색 및 반문의 조사 결과 자연상태에서의 체색은 수컷의 꼬리지느러미와 꼬리지느러미 기부에 노랑색 또는 주황색의 체색을 가진 A-type, 암 수 모두 복부 중앙에 진한 청색이 나타나는 B-type 그리고 뺨과 체측에 cobalt색 반점들이 산재하는 C-type 등 모두 3가지 체색형으로 구분되었다. 이러한 3 type의 면밀한 반문 분석 결과 A-type은 뺨, 가슴지느러미 기부 및 각 지느러미들에 특징적인 반문이 없었다. 그러나 B-type은 뺨에 무질서한 줄무늬 반문이 있고 가슴지느러미 기부에 3개의 뚜렷한 줄무늬가 있으며 각 지느러미에도 4-6개의 뚜렷한 줄무늬가 있는 특징이 있었다. 한편 C-type은 가슴지느러미의 반문이 부채살 형태로 나타나는 특징이 있는것이 확인되었다. Formalin 고정시 B-type의 복부 중앙에 있는 청색은 검은색으로 변하고 나머지 체색들은 모두 소실되나 반문의 특징들은 그대로 유지된다(Table 3, Fig. 2).

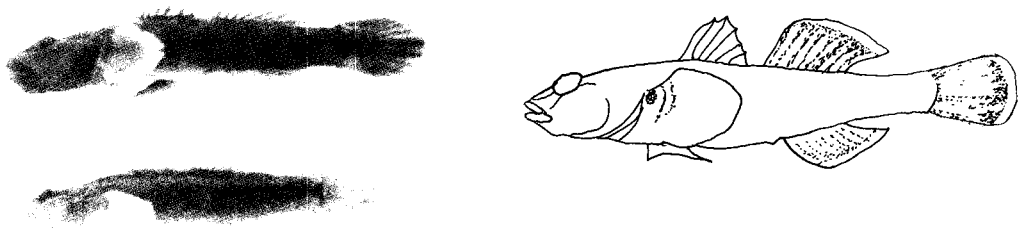
Table 3. The diagnostic characters among 3 types in the *Rhinogobius brunneus* complex.

Character	A type	B type	C type
1. The color patterns on the body	Yellow or orange color on the base of caudal fin	Blue color on the center of ventral part	Spots of cobalt color on body sides and cheeks
2. The banding patterns on cheeks	absent	Loose lines	Spots of cobalt color
3. The banding patterns on the base of pectoral fin	Loose lines	3 lines	Shape of the ribs of a fan
4. The bandind patterns on the fins	Only females have thin lines on 2nd dorsal fin and caudal fin	Clear lines on 2nd dorsal fin and caudal fin	absent

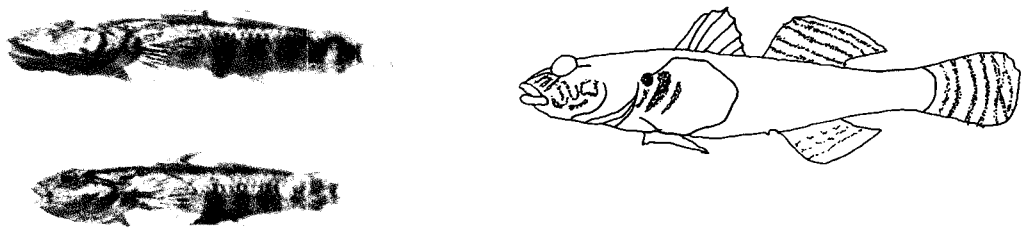
이러한 형태적 분류 기준에 따라 한국산 밀어 3 type의 분포를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 채집 조사된 총 45개 지역 중 A-type은 전국 하천에 넓게 서식 분포하는데 북한강(가평과 청평), 남한강(송계), 금강(논산), 섬진강(정읍), 낙동강(함양, 밀양, 의령, 산청, 영천 등), 동진강(칠보), 영산강(영암) 등 한국의 대형 하천들에서는 주로 상류역에서 채집되는 반면 동해안의 북천, 마읍천, 주수천을 포함한 전국의 소하천들에서는 주로 중류역에서 채집되는 특징을 보였다. B-type은 남해안의 도서지방인 남해(동천천), 완도 및 보길도 그리고 동해안의 소하천들인 고성의 명파천과 북천, 속초의 쌍천, 명주의 연곡천과 주수천, 삼척의 마읍천과 호산천, 울진의 왕피천, 영덕의 축산천과 송천 등의 중류역에서 채집되었으며, C-type은 제주도의 강정천, 악근천, 천제연 및 고성의 북천상류와 강릉의 연곡천상류역에서만 제한 서식하는 것이 확인되었다. 이로서 동해안의 일부 하천에서는 각 type들이 동서(同棲)하는 하천이 발견되었는데 삼척 마읍천과 명주 주수천에는 A-type과 B-type이, 명주 연곡천에는 B-type

과 C-type이 서식하였으며 특히 고성 북천에는 3 type이 모두 서식하는것이 확인되었다.

***R. brunneus* A type**



***R. brunneus* B type**



***R. brunneus* C type**

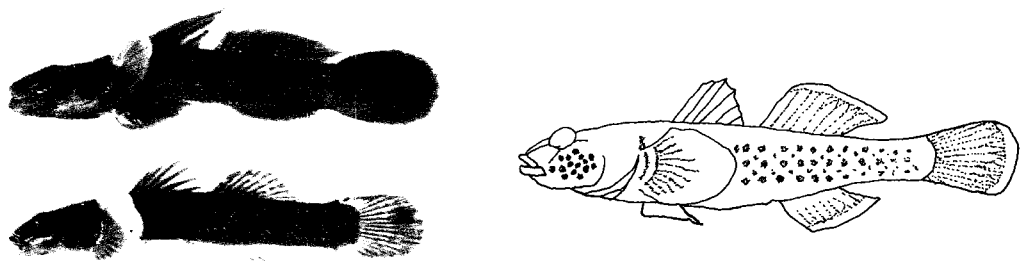


Fig. 2. Morphological diagnostic characters among 3 types of *Rhinogobius brunneus* complex.

2. 유전적 변이

형태적으로 분류된 밀어 3 type 간의 유전적 차이 및 유전적 변이 정도를 알아 보기 위하여 한국에서 채집한 A-type 11개집단 206개체, B-type 6개집단 140개체 및 C-type 2개집단 31개체와 비교 집단으로 일본의 아마미섬에서 채집한 밀어 B-type 1개집단 20개체와 X-type(일명 Dark type) 1개집단 5개체를 포함한 총 21집단 402개체(Table 1)를 전기영동하여 유전자 분석을 실시하였다. 분석결과 16개의 효소 및 비효소성 단백질에서 총 27개의 유전자를 검출하였으며 각 유전자별로 대립인자 빈도(allele frequency)를 산출한 결과는 Table 4와 같다.

총 27개의 유전자 중 *Mdh-1*을 포함한 6개 유전자(22%)는 전집단 공히 동일한 대립인자로 변이가 없었으나 *Alat-1*을 포함한 나머지 21개의 유전자(78%)는 집단간에 유전적 변이가 있었다. 변이를 나타낸 21개 유전자 중 *Alat-1, Gp-5, Ck-2* 등 3개 유전자(11%)는 밀어 3 type간에 대립인자의 중복없이 서로 뚜렷한 차이가 있는 유전적 표식인자(genetic marker)로 확인되었다. 이외에도 A-type과 B-type간에는 *Me-1, Me-2, Got-2, Glydh, Ldh-2* 등 5개의 유전적 표식인자들이 더 확인되어 총 게놈(genome)의 30% 차이를 보였고 A-type과 C-type간에도 *Idh, Me-1, Got-2, Pept-1, Ldh-2* 등 5개가 더 있어 총 게놈의 30% 차이가 있었으며 B-type과 C-type간에는 *Idh, Me-2, Glydh, Pept-1* 등 4개가 더 있어 총 게놈의 26% 차이가 확인되었다. 각 집단별로는 밀어 3 type의 19개 집단이 모두 *Gp-1* 유전자가 변이없이 'b' 대립인자로 나타났으나 A-type의 영천 집단은 'a' 대립인자로 고정되어 나타나는 특징을 나타내었으며 함께 조사된 아마미섬의 B-type은 *Aco* 와 *Ldh-2* 등 2개 유전자에서 한국산 B-type과 대립인자의 중복없이 뚜렷한 차이를 보이는 지리적 특성을 나타냈다. 또한 체색이 한국산 A-type과 유사하나 반문상 차이가 있는 아마미섬의 X-type은 한국산 A-type과 *Alat-1, Gp-5, Mpi, Ck-2* 등 4개의 유전자가 서로 다른 뚜렷한 차이를 보였다.

Table 4의 대립인자 빈도를 이용하여 한국산 밀어 3 type 각각의 유전적 변이를 조사한 결과는 Table 5와 같다. A-type 11개 집단의 유전자 당 평균대립인자수는 $\bar{A}$=1.36, 평균다형형빈도는 $\bar{P}$=25.90% 이었으며 평균 이형접합자빈도에 있어 관찰치는 $\bar{Ho}$=0.081, 유전자빈도에의한 예측치는 $\bar{He}$=0.092로 나타났고 B-type은 6개 집단 평균 $\bar{A}$=1.12, $\bar{P}$=12.33%, $\bar{Ho}$=0.037 및 $\bar{He}$=0.044로 나타났으며 C type은 전 집단 평균 $\bar{A}$=1.20, $\bar{P}$ =11.10%, $\bar{Ho}$=0.032 및 $\bar{He}$=0.048로 나타나 전체적으로 A-type이 B-type이나 C-type에 비해 유전적 변이가 2배 이상 높게 나타났다. 집단 별로는 A-type에 속하는 정읍(섬진강)과 칠보(동진강)집단이 모두 다형형빈도 P=40.7%로서 동일 type내 타 집단들의 P값 보다 약 2배 정도 높고 한강수계의 청평과 가평집단은 이형접합자 빈도가 일반적인 어류의 평균치 H=0.078(Selander, 1976: Yang *et al.*, 1989)에 비해 약 2배 정도 높은값(청평: Ho=0.139, He=0.143, 가평: Ho=0.118, He=0.119)으로 나타났다.

밀어 3 type의 집단간 및 종간의 유전적 근연관계를 알아보기 위하여 각 집단의 유전자별 대립인자빈도를 이용하여 Rogers(1972)의 유전적 근연치(S)와 Nei(1972)의 유전적 차이치(D)를 구한 결과는 Table 6과 같다. 각 type내 집단간 유전적으로 가장 가깝게 나타난 것은, A-type은 주수천과 북천 집단간(S=0.965)이고 B-type은 삼척과 북천 집단간(S=0.993)이며 C-type은 조사된 제주와 북천 집단간에 S=0.931의 근연치를 나타내었다. 또한 밀어 A-type의 송계 집단과 일본 아마미섬의 B-type간의 유전적 근연치는 $\bar{S}$=0.546으로 가장 멀게

Table 4. Allele frequencies of 20 variable loci obtained from 21 populations of the *Rhinogobius brunneus* complex. Numbers refer to collection localities listed in Table 1.

Locus	Allele	A type											B type							C type		Reference type*
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Idh	a	-	-	-	0.025	0.125	-	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	1.000	1.000	1.000	0.975	0.875	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	-
Ma-1	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.350	1.000	-
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.650	-	-
	c	1.000	1.000	1.000	0.875	0.750	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000
	d	-	-	-	0.125	0.250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Me-2	a	0.719	0.825	0.425	0.800	-	0.925	0.056	0.447	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	0.281	0.175	0.575	0.200	0.950	0.075	0.944	0.500	0.850	0.556	1.000	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000
	c	-	-	-	-	0.050	-	-	0.053	0.150	0.444	-	0.900	0.875	0.625	0.050	-	-	-	-	-	-
	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.100	0.125	0.375	0.950	1.000	1.000	1.000	-	-	-
Alat-1	a	0.984	0.975	0.975	0.950	0.925	1.000	0.972	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	-	-	-	0.013	-	-	-	-
	b	0.016	0.025	0.025	0.050	0.075	-	0.028	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.988	1.000	-	-	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	-
Pgm	a	0.547	0.700	0.125	1.000	1.000	1.000	0.722	0.789	0.875	0.444	0.813	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	0.955	1.000
	b	0.453	0.300	0.875	-	-	-	-	0.211	0.125	0.556	0.188	-	-	-	-	-	-	-	-	0.045	-
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	d	-	-	-	-	-	-	0.278	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-
Ck-2	a	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	-
Aco	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	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	1.000	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	-	-	-
Gp-1	a	-	-	-	-	-	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	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	1.000	1.000
Gp-3	a	-	-	-	0.050	-	-	-	-	0.100	-	-	-	-	-	0.100	-	-	-	-	-	-
	b	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	1.000	1.000	1.000	0.900	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.900	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Gp-5	a	0.984	0.975	0.975	0.950	0.875	1.000	0.972	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	0.016	0.025	0.025	0.050	0.125	-	0.028	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	-
Pgi-1	a	0.063	0.050	-	0.050	-	-	-	-	0.025	0.111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.045	-
	b	0.375	0.525	0.025	0.850	0.950	0.750	0.972	0.737	0.650	0.611	0.750	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.875	0.950	0.773	1.000
	c	0.563	0.425	0.975	0.100	0.050	0.250	0.028	0.263	0.325	0.278	0.250	-	-	-	-	-	-	0.125	0.050	0.182	-
Pgi-2	a	-	-	0.075	0.050	-	-	-	-	-	-	0.125	-	-	-	-	0.025	-	-	-	0.273	-
	b	1.000	1.000	0.925	0.900	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	1.000	0.875	0.800	0.300	0.250	0.500	0.600	0.600	0.350	1.000	0.727	1.000
	c	-	-	-	0.050	-	0.200	-	-	-	-	-	0.200	0.700	0.750	0.500	0.375	0.400	0.650	-	-	-
Got-1	a	0.219	0.475	-	0.175	0.150	-	0.028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-
	b	0.781	0.525	1.000	0.825	0.850	1.000	0.972	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.925	1.000	1.000	1.000
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-
Got-2	a	0.734	0.650	0.100	1.000	1.000	1.000	1.000	0.868	0.975	0.944	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-
	c	0.266	0.350	0.900	-	-	-	-	0.132	-	0.056	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pept-1	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	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
	c	-	-	-	-	0.200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	-
Ldh-2	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
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	1.000	1.000	-
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	-	-	-
Glydh	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
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	-
αGpd	a	-	0.025	-	-	-	-	-	0.028	0.050	0.111	0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	b	0.250	0.225	0.475	0.875	0.825	1.000	0.778	0.417	0.550	0.667	0.313	1.000	0.950	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	-
	c	0.750	0.725	0.500	0.100	0.175	-	0.222	0.444	0.400	0.167	0.562	-	0.050	-	-	-	-	-	0.025	-	1.000
	d	-	0.025	0.025	0.025	-	-	-	0.111	-	0.055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6Pgd-1	a	0.969	0.525	1.000	0.950	0.405	1.000	1.000	1.000	0.975	0.889	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	1.000	0.950	1.000	0.975	0.682	1.000
	b	0.031	0.475	-	0.050	0.524	-	-	-	-	0.111	-	-	-	-	-	-	0.050	-	-	0.318	-
	c	-	-	-	-	0.071	-	-	-	0.025	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	0.025	-	-
Mpi	a	0.469	0.550	0.575	0.250	0.250	0.875	0.833	0.500	0.325	0.444	0.375	0.575	0.400	0.500	0.325	0.375	0.475	-	0.550	0.955	-
	b	0.531	0.450	0.425	0.750	0.750	0.125	0.167	0.500	0.675	0.556	0.625	0.425	0.600	0.500	0.675	0.625	0.525	1.000	0.450	0.045	-
	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000

* From Amami Isl. (Japan).

Table 5. The degree of genic variation of each types in the *Rhinogobius brunneus* complex.

Population	No. of specimens	Mean no. of allele per locus (A)	Percentage of Polymorphic loci (%P)	Heterozygosity	
				Observed(Ho)	Expected(He)
***R. brunneus* A type**					
1. Kapyeong	32	1.4	25.9	.118	.119
2. Cheongpyeong	20	1.5	29.6	.139	.143
3. Songgye	20	1.4	22.2	.094	.083
4. Chilbo	20	1.6	40.7	.074	.088
5. Jeongeup	20	1.4	40.7	.085	.112
6. Yeongcheon	20	1.1	14.8	.037	.040
7. Yeongam	18	1.3	14.8	.049	.051
8. Samcheok	19	1.3	22.2	.111	.099
9. Oggye	20	1.4	29.6	.052	.091
10. Wangsan	9	1.4	25.9	.078	.111
11. Kanseong	8	1.2	18.5	.056	.077
Averge		1.4	25.9	.081	.092
***R. brunneus* B type**					
12. Wando	20	1.1	11.1	.043	.038
13. Namhae	20	1.2	14.8	.048	.048
14. Chooksan	20	1.1	14.8	.035	.055
15. Uljin	20	1.1	14.8	.031	.046
16. Samcheok	20	1.1	7.4	.030	.037
17. Kanseong	40	1.1	11.1	.036	.041
18. Japan	20	1.2	11.1	.039	.033
Average		1.1	12.3	.037	.044
***R. brunneus* C type**					
19. Cheju	20	1.2	11.1	.030	.043
20. Kanseong	11	1.2	11.1	.034	.053
Average		1.2	11.1	.032	.048

났다. 한국산 밀어 A-type 11개 집단간의 평균 유전적 근연치는 $\overline{S}$=0.899, 한국산 밀어 B-type 6개 집단간에는 $\overline{S}$=0.964 그리고 C-type 2개 집단간에는 $\overline{S}$=0.931로 나타나 모두 90% 내외의 근연치로 일반적인 어류의 종내 집단간 수준으로 나타났으나 한국산 밀어 B-type 6개 집단과 일본의 B-type간에는 $\overline{S}$=0.877, 한국산 밀어 A-type 11개 집단과 일본 아마미섬의 X-type 간에는 $\overline{S}$=0.775로 비교적 멀게 나타났다. 한편, A-type과 B-type간의 평균 유전적 근연치는 $\overline{S}$=0.631, A-type과 C-type간에는 $\overline{S}$=0.628 그리고 B-type과 C-type간에는 $\overline{S}$=0.661로 어류의 일반적인 종간 수준의 유전적 근연치를 나타냈다(Ayala, 1975). Table 6의 유전적 근연치(S)를 토대로 UPGMA 방법에 따라 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 3

Table 6. Rogers'(1972) genetic similarity coefficients among three types in the *Rhinogobius brunneus* complex. Number of each type refer to collection localities listed in Table 1.

No.	Locality	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
***Rhinogobius brunneus* A-type**																						
1.	Kapyeong	-	.950	.910	.906	.848	.855	.888	.943	.909	.923	.916	.627	.612	.613	.610	.619	.623	.566	.610	.577	.764
2.	Cheongpyeong	.014	-	.875	.888	.855	.842	.867	.919	.883	.892	.890	.615	.593	.597	.591	.600	.606	.547	.594	.583	.742
3.	Songgye	.039	.068	-	.843	.805	.813	.865	.908	.876	.893	.882	.620	.597	.599	.595	.604	.606	.546	.606	.579	.720
4.	Chilbo	.041	.047	.118	-	.921	.902	.913	.923	.921	.907	.913	.677	.669	.663	.675	.676	.674	.629	.652	.618	.773
5.	Jeongeup	.081	.074	.144	.040	-	.830	.912	.885	.909	.888	.902	.652	.643	.638	.645	.650	.648	.599	.681	.653	.781
6.	Yeongchun	.094	.102	.159	.061	.118	-	.892	.892	.870	.868	.873	.649	.622	.627	.624	.633	.635	.574	.608	.605	.729
7.	Yeongam	.059	.074	.109	.042	.036	.080	-	.935	.936	.927	.940	.671	.647	.649	.646	.655	.657	.592	.676	.651	.813
8.	Samcheok	.015	.031	.066	.020	.041	.070	.021	-	.955	.948	.961	.667	.649	.651	.647	.655	.657	.597	.656	.621	.798
9.	Oggye	.036	.058	.084	.032	.027	.095	.020	.011	-	.946	.965	.661	.651	.646	.659	.657	.653	.603	.664	.629	.807
10.	Wangsan	.036	.057	.065	.041	.042	.095	.028	.017	.015	-	.938	.663	.648	.646	.637	.645	.648	.587	.644	.617	.773
11.	Kanseong	.036	.058	.086	.043	.033	.106	.020	.012	.005	.022	-	.652	.642	.636	.643	.652	.646	.594	.659	.634	.821
***R. brunneus* B-type**																						
12.	Wando	.427	.440	.467	.358	.374	.425	.370	.376	.370	.371	.403	-	.971	.965	.944	.952	.953	.847	.717	.661	.740
13.	Namhae	.452	.468	.494	.376	.396	.450	.403	.402	.392	.397	.422	.011	- .	981	.953	.952	.949	.866	.695	.640	.723
14.	Chooksan	.455	.469	.495	.377	.397	.442	.398	.404	.397	.404	.425	.015	.003	-	.957	.957	.961	.871	.699	.647	.721
15.	Uljin	.446	.463	.489	.366	.388	.448	.398	.398	.390	.411	.417	.035	.029	.017	-	.988	.983	.895	.694	.640	.724
16.	Samcheok	.439	.454	.481	.362	.383	.442	.389	.391	.385	.405	.411	.035	.034	.021	.001	-	.993	.894	.703	.649	.731
17.	Kanseong	.439	.451	.480	.365	.382	.437	.385	.391	.387	.405	.412	.034	.034	.020	.002	.001	-	.889	.706	.654	.729
18.	Japan(Amami)	.523	.546	.566	.435	.461	.544	.493	.479	.463	.491	.492	.138	.121	.109	.087	.089	.093	-	.601	.554	.672
***R. brunneus* C-type**																						
19.	Cheju	.458	.481	.481	.400	.350	.476	.367	.396	.377	.409	.392	.319	.344	.343	.337	.331	.330	.477	-	.931	.637
20.	Kanseong	.491	.497	.497	.447	.381	.392	.390	.434	.422	.441	.432	.386	.413	.406	.413	.404	.398	.577	.031	-	.599
***R. brunneus* Reference type(X type)**																						
21.	Japan(Amami)	.215	.233	.294	.220	.196	.299	.184	.184	.176	.215	.168	.292	.310	.314	.308	.302	.303	.382	.444	.489	-

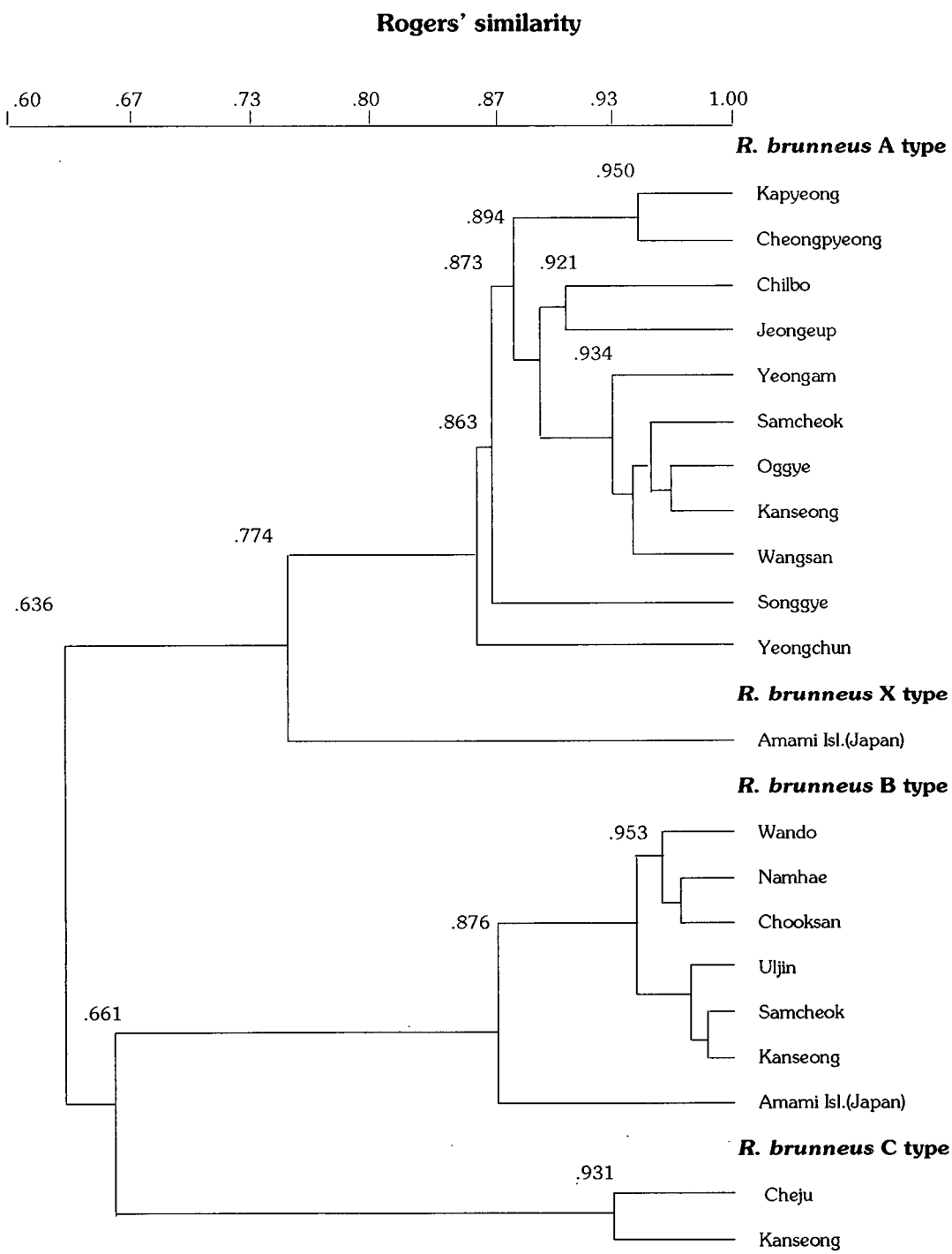


Fig. 3. A dendrogram of 21 populations in the *Rhinogobius brunneus* complex based on Rogers'(1972) genetic similarity coefficients.

과 같이 밀어 A-type, B-type 및 C-type이 각각 별도로 유집(clustering) 되어 나타났다.

3. 동서(同棲)하천에서의 잡종 분석과 미세 분포

조사된 고성 북천의 전 지점에서 각 type간의 잡종 개체는 전혀 발견되지 않았으며 각 지점의 생태 조건 및 분포 상황은 Table 7과 같다. 강 하구로 부터 약 2Km 상류역인 지점 1에서 본종의 성체들이 출현하기 시작하였다. 지점 1에서는 A-type과 B-type만이 출현하였고 하구로부터 약 6.8Km 상류역인 지점 2 에서는 3 type이 모두 출현하였으며 하구로 부터 약 15.1km 떨어진 지점 3과 본 하천의 최상류역에 속하는 지점 4(강하구로 부터 약 19.1Km지점) 에서는 C-type만이 출현하였다. 하구로 부터 상류까지 각 type의 출현 빈도는 A-type이 75%-25%-0%-0%, B-type은 93%-7%-0%-0% 그리고 C-type은 0%-55%-36%-9%로 나타나 C-type은 A-type이나 B-type에 비하여 수온이 낮고 산소용존도가 높은 상류역에 까지 서식하였다. 결과적으로 이들 3 type은 동일하천의 일부 수역에서 각 type간에 유전자 교환없이 공서(共棲)하며, 특히 C-type은 하구로 부터의 거리에따라 다른 2 type과 parapatric하게 서식하는 것이 확인되었다.

Table 7. Distance from river-mouth, water temperature, dissolved-oxygen and number of specimens on each sites in Bukcheon(a sympatric stream of 3 types).

No. of Site	1	2	3	4	Total Freq.
Distance from River-Mouth (Km)	2.0	6.8	15.1	19.1	
Water Temperature (°C)	19.8	18.8	17.8	17.4	
Dissolved-Oxygen (DO) (mg/ l)	7.93~ 8.01	8.65~ 8.74	8.95~ 9.02	8.98~ 9.04	
Total number of Specimens	46	11	4	1	62
%Freq./site of 'A type'	6(75%)	2(25%)	0	0	8(100%)
%Freq./site of 'B type'	40(93%)	3 (7%)	0	0	43(100%)
%Freq./site of 'C type'	0	6(55%)	4(36%)	1(9%)	11(100%)

고 찰

전국에서 45개 집단을 수계별로 채집하여 체색 및 반문형태를 분석한 결과 3가지 type의 밀어가 채집 확인되었다. 그러나 이러한 체색 및 반문형태와 같은 외부 형태적 특징만으로는 각 type간의 종분화 정도를 정확히 확인할 수 없고 특히 분류군에 따라서는 외부 형태적 차이가 유전적 차이와는 무관하게 서로 다른 환경적 요인에 의해 발생된 ecophenotype의 예도 다수 밝혀져있기 때문에(Clausen *et al.*, 1940: Yang *et al.*, 1989) 유전적 차이의 확인이

요구되었고, 아울러 각 type의 분류학적 위치를 명확히 하기 위해서는 이들의 생식적 격리 여부의 구명이 요구되었다.

밀어 각 type의 대표 집단으로 남한에서 채집된 19개 집단과 비교 종으로 일본에서 채집된 2개 집단을 포함 총 21개 집단을 대상으로 전기영동법을 이용하여 유전자 분석을 실시하였다. 각 type간의 유전적 분화 수준을 조사한 결과, A-type과 B-type간의 평균 유전적 근연치는 S=0.631, A-type과 C-type간에는 S=0.628 그리고 B-type과 C-type간에는 S=0.661로 어류의 일반적인 종간 수준의 유전적 근연치를 나타냈다. 이렇게 유전적으로 뚜렷한 차이를 보이는 3 type들간의 생식적 격리여부를 조사하고자 3 type이 모두 서식하는 강원도 고성 북천에서 유전적 표식인자를 이용한 잡종분석 결과, 잡종개체는 전혀 발견되지 않았다. 그리고 A, B 두 type이 동서하는 삼척 마읍천에서도 두 type간의 유전적 표식인자를 공유하는 개체는 전혀 없었다(Table 4). 이와 같은 결과는 이들 3 type간에 생식적 격리 기작(reproductive isolating mechanism)이 이미 완성되어 각 type간에 유전자교환이 없음을 의미한다.

상기의 북천에서 C-type은 A-type이나 B-type에 비하여 수온이 낮고 산소용존도가 높은 상류역에 주로 서식하는 미세분포구역(microhabitat)의 차이를 보였으며, A-type의 서식 빈도가 매우 낮아 본 하천에서는 A-type과 B-type간의 미세분포 차이를 확인하기 어려웠으나, A, B 두 type이 동서하는 삼척 마읍천에서는 B-type이 A-type에 비해 비교적 상류역까지 서식하는 특징을 나타냈다(Kim, 1995). 위의 결과들로 보아 이러한 미세분포 차이는 밀어 3 type 들간 생식적 격리의 한 요인으로 작용하는 것으로 추측된다. 한편, 이들 각 type간의 평균 유전적 차이치는 A-type과 B-type간에 D=0.432, A-type과 C-type간에는 D=0.432 그리고 B-type과 C-type간에는 D=0.391로서, Nei(1975)의 공식에 의한 분화연대 추산 결과, 3 type은 약 200-210만년 전에 각각 분화된 것으로 사료되었다.

상기의 결과들로 보아, 이들 밀어 3 type은 형태적으로 매우 유사하나 초기 홍적세(Pleistocene)에 동일 조상으로 부터 분화되어 각각 미세분포구역의 차이를 보이며 적응 분화된 독립된 별종으로 사료되었다. 밀어 3 type들이 각각 별종으로 확인 됨에따라 분류 체계를 위해서는 이들의 학명과 일반명의 명명이 요구된다. 그러나 현재 각 type간에는 체색과 반문을 제외하고는 뚜렷한 외부 형태형질의 차이가 확인되지 않고 있고 원기재(Temminck and Schlegel, 1845)의 완모식 표본이나 그 동안 동종이명(synonym)으로 정리되었던 기재들(*Rhinogobius similis* Gill, 1859: *Ctenogobius similis*, Jordan and Snyder, 1901: *Rhinogobius nagoyae* Jordan and Seale, 1906: *Ctenogobius kurodai* Tanaka, 1908)이 밀어의 주요 분류형질인 체색이나 반문을 명확히 표시하고 있지 않아(Mizuoka, 1978), 각 기재들과 일치되는 체색 및 반문 type의 식별이 실질적으로 어렵다. 그러므로, 본 연구의 한국산 밀어 3 type 은 모두 재기재가 필요하다고 사료된다.

한편 Akihito 등(1988)의 분류기준에 따르면 본 연구의 A-type은 일본의 orange type(OR), B-type은 cross band type(CB) 그리고 C-type은 cobalt type(CO)으로 각각 동정되며, Akihito 등(1993)은 '일본산 어류검색' 도감에서 이들을 별종 후보로서 일시적 단축 기호를 사용하여 각각 *Rhinogobius* sp. OR, *Rhinogobius* sp. CB 및 *Rhinogobius* sp. CO로 표기하고 있다. 이들의 국내 일반명은 본 연구자들(Kim *et al.*, 1992)이 A-type과 B-type간의 형태적 차이와 유전적 차이를 밝히면서 한국어도보(Chyung, 1977)에 소개된 내용과 비교하여 각각 밀어(A-type)와 줄밀어(B-type)로 명명 보고하였다. 그 후 Jeon과

Aonuma(1995)가 이들 3 type의 국내 분포를 보고하면서 Akihito 등(1993)의 분류기준에 따라 등황밀어(A-type), 무늬밀어(B-type) 그리고 파랑밀어(C-type)로 다시 명명한 바 있다.

따라서, 학명의 재기재는 추후 논의하고자 하나, 본 연구의 결과에서 3 type이 생식적 격리가 이루어진 별종으로 구명되었으므로 Akihito 등(1993), Jeon과 Aonuma(1995)에 따라 3 type을 국내에서도 *Rhinogobius* sp. OR, *Rhinogobius* sp. CB 및 *Rhinogobius* sp. CO로서 별종 후보임을 표기할 것을 제안하며, 일반명은 선취권에따라 밀어(A-type), 줄밀어(B-type), 파랑밀어(C-type)로 명명 사용하는 것이 타당하다고 사료된다.

감사의 글

채집 및 분포조사에 도움을 주신 상명여자대학교의 전상린 교수님, 인하대학교 유전진화학 연구실에서 함께 연구하며 채집에 많은 도움을 준 김재홉 박사님, 석호영 조교, 귀중한 문헌을 제공하여 주신 일본 Ehime Univ.의 水野信彦 박사님과 Hiroshima Univ.의 水岡繁登 박사님께 감사드립니다.

참고문헌

Akihito, A. Iwata, K. Sakamoto and Y. Ikebe, 1993. Suborder Gobioidei. In Fishes of Japan with pictorial keys to the species (Nakabo, T. eds.). Tokai Univ. Press, Tokyo, pp. 1079-1082. (in Japanese)

Akihito, M. Hayashi and T. Yoshino, 1988. Suborder Gobioidei. In The fishes of the Japanese Archipelago 2nd *ed*. (H. Masuda, K. Amaoka, C. Araga, T. Ueno and T. Yoshino *eds*.), Tokai Univ. Press, Tokyo, 259 pp., pls. 248-249.

Ayala, F. J., 1975. Genetic differentiation during the speciation process. In Evolutionary biology, Vol. 8, (Dovzhansky, T., Hecht, M. K. and Steere, W. C. eds.). Plenum Press, New York, pp. 1-78.

Buth, 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 (in Korean).

Clausen, J., D. D. Keck, and W. M. Hiesey, 1940. Experimental studies on the nature of species. I. Effect of varied environments on Western North American plants, Carnegie Institution of Washington Publ. No. 520, Washington, D. C., pp. 1-452.

Gill, T., 1859. Notes on a collection of Japanese fishes, made by Dr. J. Morrow. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, pp. 144-145.

Jeon, S. R. and Y. Aonuma, 1995. Studies on the key and distribution of the genus *Rhinogobius* (Pisces: Gobiidae) from Korea. J. Natural Sci. Sang Myung Women' s Univ., **2**: 1-32.

Jordan, D. S. and A. Seale, 1906. Descriptions of six new species of fishes from Japan. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, **30**: 147.

Jordan, D. S. and J. O. Snyder, 1901. A review of the gobioid fishes of Japan, with descriptions of twenty-one new species. Pro. U. S. Nat. Mus., **24**: 33-132.

Katoh, M. and M. Nishida, 1994. Biochemical and egg size evolution of freshwater fishes in the

Rhinogobius brunneus complex(Pisces, Gobiidae) in Okinawa, Japan. Biological J. of the Linnean Society, **51**: 325-335.

Kim, J. B, 1995. The studies of speciation and systematics on the fishes of the genera *Rhinogobius* and *Tridentiger*(Perciformes, Gobiidae) in Korea. Ph. D. Dissertation, Inha University.

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).

Masuda Y., Ozawa T., and S. Enami, 1989. Genetic differentiation among eight color types of the freshwater goby, *Rhinogobius brunneus*, from western Japan. Japan J. of Ichthyology, **36**: 30-41.

Mizuno, N., 1976. Studies on a freshwater fish, *Rhinogobius brunneus* (Pisces: Gobiidae) III. Distribution of four colour types in Shikoku and Kyushu Island. Physiol. Ecol. Japan, **17**: 373-381. (in Japanese).

Mizuoka, S., 1974. Studies on the variation of *Rhinogobius brunneus* (Temminck et Schlegel) III. On the six types of body color and color pattern in the Sanin district, the Hokiriku district, the Sanyo district, and the Goto Islands. Bull. Fac. Educ. Hiroshima Univ., **23**: 31-40 (in Japanese).

Mizuoka, S., 1978. Studies on the variation of "yoshinobori", *Rhinogobius similis* Gill. Bull. Fac. Educ. Hiroshima Univ., Part 2, **1**: 147-168

Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. Amer. Nat., **106**: 283-292.

Nei, M., 1975. Molecular population genetics and evolution. North-Holland publ. Co., Amsterdam. Rogers, J. S., 1972. Measure of genetic similarity and genetic distance. Studies in Genetics VII. Univ. Texas Publ., **7213**: 145-153.

Selander, R. K., 1976. Genic variation in natural populations. In Molecular Evolution (Ayala, F. J. ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 21-45.

Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman Co., San Francisco.

Swofford, D. L. and R. B. Selander, 1989. BIOSYS-1 : FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics. J. Heredity, **72**: 281-283.

Takagi, K., 1962. Nomenclatural status of *Gobius brunneus* Temmincki et Schlegel, 1845, a gobioid species from Japan. Zool. Mag., **71**: 295-300.

Tanaka, S., 1908. Descriptions of eight new species of fishes from Japan. Ann. Zool. Jap., 7: 31-38.

Temminck, C. J. and H. Schlegel, 1845. Fauna Japonica. Leiden. Pisces, **4**: 113-172.

Tzeng, C. S., 1986. The freshwater fishes of Taiwan. Taiwan Prov. Educ. Dept. Press, pp. 66-69 (in Chinese).

Yang, S. Y., B. S. Park, and J. H. Kim, 1989. 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).

Yang, S. Y., B. S. Park, J. H. Kim and J. B. Kim, 1991. Systematic studies of the genus *Cobitis* (Pisces: Cobitidae) in Korea. II. Geographic variations and classification of *Cobitis longicorpus*. Korean J. Zool., **34**: 585-593 (in Korean).

RECEIVED: 5 November 1996
ACCEPTED: 13 December 1996

Systematic studies on the freshwater goby, *Rhinogobius* species (Perciformes, Gobiidae). II. Geographic distribution and taxonomic status of three color types in the *Rhinogobius brunneus* complex from South Korea.

Jong Bum Kim and Suh Yung Yang
(Department of Biology, Inha University, Inchon 402-751, Korea)

ABSTRACRT

The geographic distribution and variation for *Rhinogobius brunneus* were surveyed by means of allozymic and morphological analyses and it was revealed that the Korean populations of *R. brunneus* comprise three distinct types, Type-A, Type-B, and Type-C, which show considerable differentiation to a degree of interspecific level(Rogers' S(1972): $S_{A\text{-}B}$=0.631, $S_{A\text{-}C}$=0.628, $S_{B\text{-}C}$=0.661). In addition, no evidence of gene flow among the types was found at sympatric area and it is assumed that reproductive isolation is completed. Moreover there is microhabitat segregation according to the distance from river mouth among each types and which segregation was regarded as a factor to facilitate reproductive isolating mechanism. Therefore, based on the evidence presented above, these three types of *R. brunneus are* considered as typical discrete species.