

## 참서대과 (Pisces: Cynoglossidae) 자어 2종의 미토콘드리아 DNA에 의한 형태동정의 타당성

권혁준·김진구\*  
부경대학교 자원생물학과

### Validation of Morphology-based Identification of Two Cynoglossidae Larvae using Mitochondrial DNA

Hyuck Joon Kwun and Jin Koo Kim\*  
Department of Marine Biology, Pukyong National University,  
Busan 608-737, Korea

Three specimens of Cynoglossidae larvae were collected from the southern Korean Sea in May and August of 2009, and were identified using morphological and molecular analysis. Specimens were divided into two groups based on the number of elongated dorsal fin rays on the top of the head: Cynoglossidae sp. A was defined as having two elongated dorsal fin rays, while Cynoglossidae sp. B possessed a single elongated dorsal fin ray. One specimen of Cynoglossidae sp. A, a post-larva with a notochord length (NL) of 5.8 mm was thought to be a *Cynoglossus joyneri* larva based on the presence of 115 dorsal pterogiophores, 85 anal pterogiophores, and 50 myomeres. Two specimens of Cynoglossidae sp. B, a 4.1 mm NL larva and a 11.3 mm NL juvenile, were thought to be *Cynoglossus abbreviatus* based on the presence of yolk in the former and 133 dorsal fin rays, 105 anal fin rays, and 63 myomeres in the latter. To test this morphology-based identification, molecular analysis was conducted using 419-422 bp of mitochondrial DNA 16S rRNA. Cynoglossidae sp. A was clearly matched to a *Cynoglossus joyneri* adult ( $d=0.000$ ) and Cynoglossidae sp. B clustered closely with *Cynoglossus abbreviatus* adults ( $d=0.002$ ). A neighbor-joining tree supported this robust relationship (bootstrap value=100%). Therefore, these molecular data validate the morphological identification of the two Cynoglossidae larval species.

Key words: *Cynoglossus abbreviatus*, *Cynoglossus joyneri*, Larvae, Identification, Validation

#### 서 론

자치어기에 대한 연구는 초기생활기에 매우 높은 사망률로 인해 탁월연급효과와 같은 수산자원변동을 이해하는데 있어 자원학적 연구에 중요한 기초자료를 제공한다 (Park et al., 2005). 초기생활기를 연구하기 위해서는 자치어의 종 동정이 필수적이며, 종 동정에는 체형, 체색 및 내부골격, 특히 흑색소포의 모양과 분포가 중요한 분류형질로 이용된다 (Blaxter, 1984).

가자미목 (Order Pleuronectiformes) 참서대과 (Family Cynoglossidae) 어류는 넙치과 (Family Paralichthyidae) 및 가자미과 (Family Pleuronectidae)와 마찬가지로 자치어기에 한쪽 눈이 반대쪽 눈으로 이동하는 변태기를 가진다 (Okiyama, 1988). 이들은 상업적으로 매우 유용하여 최근 성어를 대상으로 한 자원생태학적 연구가 활발히 진행 중이다 (Choi et al., 1995; Lee et al., 2000; Baeck et al., 2002; Baeck and Huh, 2004a, b, c; Seo et al., 2007). 또한, 서대류의 초기생활사를 이해하기 위하여 국외에서는 자치어의 형태에 대한 연구보고로 개서대 (Okiyama, 1988), 물서대 (Uyeda and Sasaki, 2000), 박대 (Wan et al., 2004), 용서대 (Fujita et al., 1986; Yagi et

al., 2009), 참서대 (Minami, 1983), 흑대기 (Minami, 1982), *Cynoglossus itinus* (Uyeda and Sasaki, 2000), *C. lighti* (Yagi et al., 2009) 등이 있다. 그러나 국내의 경우 참서대 자어의 형태에 관한 연구 (Gu et al., 2009)만 있을 뿐이다.

흑색소포의 형태와 분포는 자치어의 종 동정에 중요한 분류형질로 간주되고 있으나 (Russell, 1976; Okiyama, 1988; Matarese et al., 1989; Leis and Carson-Ewart, 2000), 어떤 분류군에서는 중간 자치어기 흑색소포 분포가 매우 유사하여 종 동정이 어렵다 (Taylor and Watson, 2004). 또한 척추골, 지느러미 기조수 등 계수형질은 환경조건에 따라 초기발생동안 일정하지 않다 (Blaxter, 1984). 용서대의 경우, 인공 사육된 자치어가 야생 자치어보다 흑색소포가 진하고 성장속도가 빨라 (Fujita et al., 1986; Yagi et al., 2009) 성숙환경에 따라 종내 집단간 개체발생에 차이가 있는 것 같다. 결국 야생에서 채집된 자치어를 흑색소포만으로 정확히 동정하기란 어려우며 (Kendall and Gray, 2001; Taylor and Watson, 2004), 따라서 최근에는 DNA에 의한 분자동정이 증가 추세에 있다 (Lindstrom, 1999; Aranishi et al., 2005; Pegg et al., 2006; Robertson et al., 2007; Vandersea et al., 2007; Kim et al., 2008; Paine et al., 2008; Victor et al., 2009; Viñas and Tudela, 2009).

본 연구에서는 2009년 5월 및 8월 남해 서부해역에서 채집

\*Corresponding author: taengko@pknu.ac.kr

Table 1. List of specimens of the present study

| Species                             | Date     | Locality                | Voucher no. | Accession no. |
|-------------------------------------|----------|-------------------------|-------------|---------------|
| Cynoglossidae sp. A (larva)         | Aug. '09 | Wando, Jeollanam-do     | Cj1         | HQ003899      |
| Cynoglossidae sp. B (larva)         | May '09  | Goheung, Jeollanam-do   | Ca1         | HQ003900      |
| Cynoglossidae sp. B (larva)         | May '09  | Yeosu, Jeollanam-do     | Ca2         | HQ003901      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Feb. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1549    | HQ003902      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Feb. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1552    | HQ003903      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Feb. '09 | Yeosu, Jeollanam-do     | PKU 1564    | HQ003904      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Mar. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1686    | HQ003905      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Mar. '09 | Yeosu, Jeollanam-do     | PKU 1732    | HQ003906      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Apr. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1833    | HQ003907      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Apr. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1838    | HQ003908      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Apr. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1839    | HQ003909      |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> (adult)  | Apr. '09 | Goheung, Jeollanam-do   | PKU 1870    | HQ003910      |
| <i>Cynoglossus robustus</i> (adult) | Apr. '07 | Jeju, Jeju-do           | PKU 921     | HQ003911      |
| <i>Cynoglossus robustus</i> (adult) | Jun. '09 | Geoje, Gyeongsangnam-do | PKU 2222    | HQ003912      |
| <i>Cynoglossus robustus</i> (adult) | Jun. '09 | Gwangyang, Jeollanam-do | PKU 2307    | HQ003913      |

된 참서대과에 속하는 자어 3개체를 대상으로 형태특징에 의거 종 수준까지 동정하였으며, 이 결과를 분자 수준에서 검증하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

참서대과 sp. A 자어 1개체는 2009년 8월, 참서대과 sp. B 자어 2개체는 2009년 5월에 각각 남해 서부해역에서 RN80 네트 (직경 80 cm, 망목 330 $\mu$ m)로 채집되었으며, 채집 즉시 99% 에탄올에 넣어 -20 $^{\circ}$ C에서 냉동보관 하였다 (Table 1). 분자비교를 위해 실험실에서 보관중인 참서대 성어 9개체와 개서대 3개체의 근육을 이용하였으며, 그 외 참서대과 어류의 DNA정보는 NCBI에서 수집하였다. 본 연구에 사용된 표본은 부경대학교 (Pukyong National University, PKU)에 등록·보관 하였다.

#### 형태분석

외부형태는 입체해부현미경 (Olympus SZX-16, Japan)하에서 관찰하였으며, 계수·계측은 Russell (1976) 및 Matarese et al. (1989)를 참고하여 현미경용 사진촬영장치 (Motic Moticam Pro 205A, China)로 몸의 각 부위를 0.1 mm 단위까지 측정하였다. 각 개체는 현미경에 부착된 Lucida를 이용하여 정밀 스케치 하였다.

#### 분자분석

Total DNA는 Chelex 100 resin (Bio-rad, USA)을 이용하여 자어의 오른쪽 눈과 성어의 근육에서 추출하였다. 미토콘드리아 DNA 16S rRNA 영역은 Ivanova et al. (2007)의 16Sar-5' (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3')과 16Sbr-3' (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') primer를 이용하여 증폭하였다. 10X PCR buffer 2 $\mu$ L, 2.5mM dNTP 1.6 $\mu$ L, 16Sar-5' primer 1 $\mu$ L, 16Sbr-3' primer 1 $\mu$ L, FR Taq polymerase 0.2 $\mu$ L (Biomedic, Korea)를 섞은 혼합물에 total DNA 5 $\mu$ L를 첨가한 후, 총 20 $\mu$ L가 될 때까지 3차 증류수를 넣고 Thermal cycler

(Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건에서 PCR을 수행하였다. Initial denaturation 95 $^{\circ}$ C에서 5분; PCR reaction 35cycles (denaturation 95 $^{\circ}$ C에서 1분, annealing 50 $^{\circ}$ C+0.2 $^{\circ}$ C/cycle에서 1분, extension 72 $^{\circ}$ C에서 1분); final extension 72 $^{\circ}$ C에서 5분. 정제는 Core-One<sup>TM</sup> PCR Purification Kit (Core Bio System Co. LTD., Korea)를 이용하였다. 염기서열은 ABI 3730XL sequencer (Applied Biosystems Inc., USA)에서 ABI Bigdye terminator cycle sequencing ready reaction kit v3.1 (Applied Biosystems Inc., USA)를 이용하여 얻었다. 염기서열 정보는 DDBJ/EMBL/GenBank Database에 등록하였다 (등록번호 HQ003899-HQ003913).

미토콘드리아 DNA 16S rRNA 염기서열의 정렬은 BioEdit version 7 (Hall, 1999)의 ClustalW (Thompson et al., 1994)를 이용하여 정렬하였으며, 염기서열을 비교하기 위하여 참서대 및 개서대 성어에서 얻은 염기서열과 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에 등록된 참서대과 어류 4종의 Database를 이용하였다. 외집단으로는 넙치과의 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)를 함께 비교하였다: *C. joyneri* (PKU 1549, 1552, 1564, 1686, 1732, 1833, 1838, 1839, 1870; HQ003902-HQ003910), *C. robustus* (PKU 921, 2222, 2307; HQ003911-HQ003913), *C. abbreviatus* (DQ112681), *C. lighti* (DQ112683), *C. semilaewis* (DQ112682), *Paraplagusia japonica* (DQ112685), *Paralichthys olivaceus* (AM182432). 유전적 거리는 Mega 4 (Tamura et al., 2007)의 Pairwise distance를 Kimura-2-parameter 모델 (Kimura, 1980)로 계산하였다. Neighbor joining tree는 Mega 4 (Tamura et al., 2007)에서 작성하였으며 bootstrap은 1000번 수행하였다.

### 결 과

#### 형태동정

참서대과 sp. A 자어 (Cj1)는 척색장 5.8 mm로 두장이 척색장의 22.4%, 근절고가 15.5% 이다 (Table 2). 두정부에는 길게 신장된 2개의 등지느러미 줄기가 관찰되었다. 윗턱의 후단은

눈의 뒷가장자리에 닿았다. 각 지느러미 줄기는 관찰되지 않았으나, 등지느러미 담기골이 115개, 뒷지느러미 담기골이 85개, 근절이 50개 관찰되었다. 나뭇가지형 흑색소포는 체측의 가장자리를 따라 선명하게 1열로 배열되어 있으며, 머리의 배쪽면에도 일부 나타났다. 두정부와 복부의 등쪽에도 흑색소포가 선명하게 나타났다 (Fig. 1).

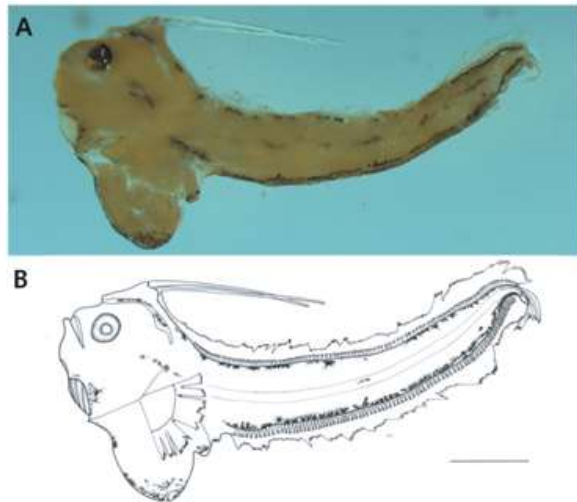


Fig. 1. Photo of *Cynoglossidae* sp. A, Cj1, 5.8 mm NL (A) and its illustration (B). Bar indicates 1 mm.

Table 2. Meristic and morphometric characters of two *Cynoglossidae* species

|                       | <i>Cynoglossus joyneri</i> |                  | <i>Cynoglossus abbreviatus</i> |                      |               |
|-----------------------|----------------------------|------------------|--------------------------------|----------------------|---------------|
|                       | Present study              | Gu et al. (2009) | Present study                  | Fujita et al. (1986) |               |
| Voucher number        | Cj1                        | PKU 1678-1681    | Ca1                            | Ca2                  | -             |
| Notochord length (mm) | 5.8                        | 3.2-7.3          | 4.1                            | 11.3                 | 3.2-19.5 (TL) |
| Counts                |                            |                  |                                |                      |               |
| Dorsal fin rays       | 115                        | 114-115          | -                              | 133                  | 125-132       |
| Anal fin rays         | 85                         | 85-89            | -                              | 105                  | 103-108       |
| Myomeres              | 50                         | 49-50            | -                              | 63                   | 61-64         |
| Measurements (% NL)   |                            |                  |                                |                      |               |
| Head length           | 22.4                       | 18.2-21.4        | 17.1                           | 18.6                 | -             |
| Myotome height        | 15.5                       | 6.3-16.4         | 4.9                            | 15.0                 | -             |
| Predorsal length      | 15.5                       | 13.7-15.9        | 9.8                            | 11.5                 | -             |
| Preal length          | 36.2                       | 34.1-37.1        | 29.3                           | 31.9                 | -             |
| Eye diameter          | 5.2                        | 4.1-6.3          | 4.9                            | 2.7                  | -             |

참서대과 sp. B 자어 (Ca1)는 척색장 4.1 mm로 몸이 매우 가늘고 길어 근절고가 척색장의 4.9%이며, 향문장은 척색장의 29.3%로 향문이 몸의 앞쪽에 위치하였다 (Table 2). 두정부에는 1개의 길게 신장된 등지느러미 줄기가 관찰되었다. 복부는 돌출되어 있으며, 난황이 소량 남아있었다. 흑색소포는 나뭇가지형으로 두정부, 뺨의 등쪽 및 복부의 배쪽에 불규칙적으로 흩어져 있으며, 체측의 등쪽과 배쪽 가장자리를 따라 불규칙적으로 작은 무리를 형성하였다. 신장된 등지느러미 줄기의 말단부에도 흑색소포가 조금 관찰되었다 (Fig. 2A, B). 참서대과 sp. B 치어 (Ca2)는 척색장 11.3 mm로 근절고 (척색장의 15.0%)는 이전보다 훨씬 커진 반면 안경은 척색장

의 2.7%로 줄어들었다 (Table 2). 머리의 앞 가장자리 중간부위가 약간 만입되어 있었다. 위턱의 후단은 눈의 앞 가장자리에 닿하였다. 소화관은 잘 발달되어있고, 복부가 아래로 팽창된 상태였다. 등지느러미 줄기는 두정부에 신장된 1개의 줄기를 포함하여 133개이고, 뒷지느러미 줄기는 105개, 근절수는 63개로 이미 정수에 달한 상태였다. 두정부에는 별형의, 복부의 배쪽에는 나뭇가지형의 흑색소포가 분포하였다. 또한 체측의 등쪽과 배쪽 가장자리를 따라 흑색소포가 이어지며, 불규칙적으로 별모양의 흑색소포가 분포하였다. 꼬리지느러미로 갈수록 가장자리의 흑색소포는 진해지며, 짧은 세로줄 형태로 분포하였다. 신장된 등지느러미 줄기에도 흑색소포가 관찰되었다 (Fig. 2C, D).

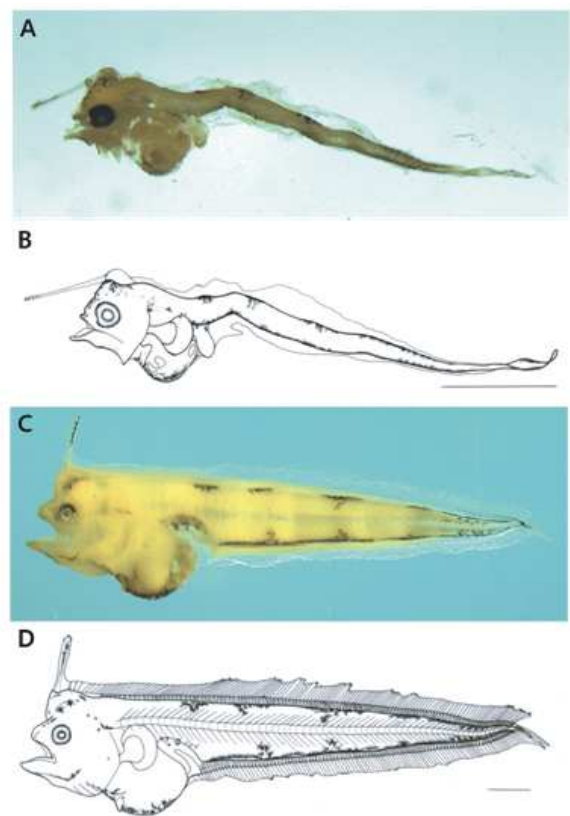


Fig. 2. Photo of *Cynoglossidae* sp. B, Ca1, 4.1 mm NL (A) and its illustration (B), and photo of Ca2, 11.3 mm NL (C) and its illustration (D). Bars indicate 1 mm.

분자동정

참서대과 sp. A 자어 1개체로부터 미토콘드리아 DNA 16S rRNA 422 base-pair의 염기서열을 얻을 수 있었다. 염기서열의 구성비율은 C가 22.7%, A가 33.4%, G가 19.0%, T가 24.9%이었다. 참서대과 sp. A 자어는 참서대 (*C. joyneri*)성어와  $d=0.000-0.002$  로 유전거리가 가장 작았고, 박대 (*C. semilaevis*)성어와는  $d=0.140$ , 용서대 (*C. abbreviatus*)성어와는  $d=0.158-0.161$ , 개서대 (*C. robustus*)성어와는  $d=0.178$ , 흑대기 (*Paraplagusia*

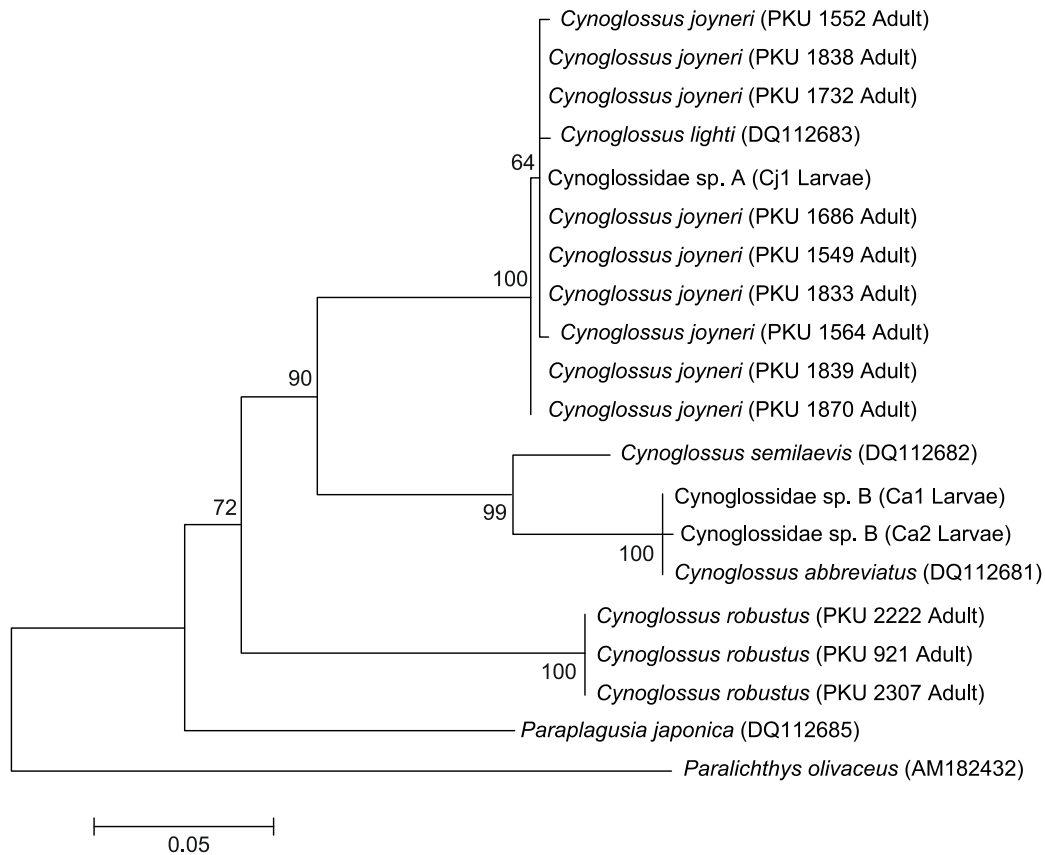


Fig. 3. Neighbor-joining tree showing the relationship between three specimens of Cynoglossidae larvae and Cynoglossidae adult species using mtDNA 16S rRNA sequences. Numbers at branches indicate bootstrap probabilities in 1000 bootstrap replications. Bar indicates genetic distance of 0.05.

*japonica*)성어와는  $d=0.189$ 로 다소 큰 차이를 보였다. NJ tree는 참서대과 어류 5종 (*C. abbreviatus*, *C. joyneri*, *C. robustus*, *C. semilaevis*, *P. japonica*)이 단계통군임을 보여주었고, 그 중 참서대과 sp. A 자어는 참서대 성어와 가장 가깝게 유집되었으며 100% bootstrap 값으로 지지되었다 (Fig. 3).

참서대과 sp. B 자치어 2개체로부터 미토콘드리아 DNA 16S rRNA 419 base-pair의 염기서열을 얻을 수 있었다. 염기서열의 구성비율은 C가 20.5%, A가 37.2-37.5%, G가 17.7-17.9%, T가 24.3%이었다. 참서대과 sp. B 자어는 용서대 (*C. abbreviatus*)성어와  $d=0.000-0.002$ 로 유전거리가 가장 작았고, 박대 (*C. semilaevis*)성어와는  $d=0.068-0.071$ , 참서대 (*C. joyneri*)성어와는  $d=0.158-0.164$ , 개서대 (*C. robustus*)성어와는  $d=0.196-0.199$ , 흑대기 (*P. japonica*)성어와는  $d=0.205-0.209$ 로 다소 큰 차이를 보였다. NJ tree는 참서대과 sp. B 자치어 2개체는 용서대와 가장 가깝게 유집되었으며 100% bootstrap 값으로 지지되었다 (Fig. 3).

### 고찰

#### 형태동정

참서대과 sp. A 자어 1개체는 두정부에 2개의 신장된 등지

느리미 줄기를 가지고 있어 국내 보고된 참서대과 어류 8종 중 참서대, 물서대 및 흑대기 3종과 가까웠다 (Minami, 1982; Uyeda and Sabaki, 2000; Gu et al., 2009), 또한 참서대과 sp. A는 등지느러미 담기골 115개, 뒷지느러미 담기골 85개, 근절 50개를 가지고 있어 참서대 (줄기 107-116개, 뒷지느러미 줄기 85-90개, 근절 50-54개) 및 흑대기 (등지느러미 줄기 106-117개, 뒷지느러미 줄기 84-92개, 근절 50-56개)와 가장 가까웠다 (Yamada, 2002). 그러나 본 연구개체는 등지느러미와 뒷지느러미 기부를 따라 흑색소포가 1열로 배열되어 있고, 복부의 배쪽, 두정부의 등쪽 및 옆쪽에 연속적으로 나타나는 점에서 참서대와 가까웠고 (Minami, 1983), 체측 중앙에 길게 나타나는 흑대기 (Minami, 1982)와는 잘 구분되었다 (Fig. 1).

참서대과 sp. B 자치어 2개체는 두정부에 1개의 신장된 등지느러미 줄기를 가지고 있어 국내 보고된 참서대과 어류 8종 중 개서대, 박대 및 용서대 3종에 가까웠다 (Fujita et al., 1986; Okiyama, 1988; Wan et al., 2004; Yagi et al., 2009). 이 중 본 연구개체는 5월에 채집되어 3종 중 용서대의 산란기 (3-6월)와 일치하였으며 개서대 (6-8월) 및 박대 (8-10월) (Yang et al., 1983; Okiyama, 1988)와는 시기적으로 약간 차이를 보였다. 척색장 4.1 mm 자어는 소량의 난황 및 신장된 1개의 등지느러미 줄기를 가지고 있어 3.7 mm 때 난황이 모두

흡수되는 개서대 및 전장 5.0 mm 때 두정부에 신장된 1개의 등지느러미 줄기를 가지는 박대 (Okiyama, 1988; Wan et al., 2004)와 잘 구분되었다. 척색장 11.3 mm 치어는 등지느러미 (133개) 및 뒷지느러미 (105개)에서 용서대 (등지느러미 127-132개; 뒷지느러미 102-106개) 및 개서대 (등지느러미 129-136개; 뒷지느러미 100-106개) (Yamada et al., 2007)와 유사하지만 몸의 등쪽 및 배쪽 가장자리를 따라 흑색소포가 무리지어 나타나는 점에서 용서대 (Fujita et al., 1986; Yagi et al., 2009)의 자어로 판단된다 (Fig. 2). 그러나 Fujita et al. (1986)의 인공 사육된 용서대 자치어의 경우, 전장 11.4 mm에서 한쪽 눈이 반대쪽으로 이동하고, 흑색소포는 머리와 몸 전체에 조밀하게 분포하여 우리 표본과 잘 구분되었으나, Yagi et al. (2009)의 야생에서 채집한 용서대 자치어의 흑색소포 분포와는 잘 일치하였다. 낚치의 경우, 수온변화에 따라 성장 및 변태시기가 달라진다고 보고되어 있어 (Seikai et al., 1986) 용서대 자어의 흑색소포가 다른 것 (Fujita et al., 1986; Yagi et al., 2009)도 성육환경의 차이에서 비롯된 것이 아닌가 생각된다. 나아가 최근 캐나다의 서식지역에 따른 자어기 형태차이가 보고되어 (Kim et al., 2010) 향후 서식지역별 자치어기의 형태차이가 가지는 분류학적 의미에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

#### 분자동정

참서대과 sp. A 자어 1개체는 참서대 성어 및 *C. lighti* 성어와 유전거리가  $d=0.000-0.002$ 로 가장 가까웠고, 참서대과 sp. B 자치어 2개체는 용서대 성어와 유전거리가  $d=0.000-0.002$ 로 가장 가까웠다 (Fig. 3). 따라서 분자분석을 통하여 형태를 이용한 참서대과 자어의 종 동정이 타당하다는 것을 확인할 수 있었다. Taylor and Watson (2004)는 불락속 자어를 아속 수준까지 형태적으로 동정하고 분자분석으로 종 수준까지 동정하여 95% 일치하는 결과를 나타내었다. 또한, Kim et al. (2008)은 여울멸속 열형유생을 속 수준까지 형태적으로 동정하고 분자분석으로 종 수준까지 동정하여 형태동정의 타당성을 주장한 바 있다. 그러나 불락속 자치어를 종 수준까지 형태적으로 동정한 Kendall and Gray (2001)의 경우, 65%만 분자결과와 일치하여 형태동정의 정확성이 다소 낮다는 것을 알 수 있다. 이처럼 형태동정의 오류를 줄이기 위해서는 분자분석을 병행 하는 것이 필요하다고 판단된다. 또한, Viñas and Tudela (2009)는 4개 영역을 이용한 참다랑어속 어류의 분자동정에서 2개 영역만 종 동정에 이용할 수 있다고 하여 분자동정 시 종 동정에 적합한 영역을 선택해서 이용하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 참서대의 16S rRNA는 NCBI에 등록된 *C. lighti* 와 100% 일치하여 흥미로웠다. *C. lighti*는 Menon (1977)에 의해 참서대의 동종이명으로 처리된 바 있으나, Yamada (2002)가 주둥이 형태, 체장에 대한 두장 비, 체장에 대한 체고 비에 의거 별종으로 구분하였으며, 이후 Yagi et al. (2009)은 *C. lighti* 자어가 변태기 때 크기가 참서대 자어보다 작고 (참서대는 16.3 mm vs. *C. lighti*는 8.2 mm) 체측 중앙에 긴 흑색소포 열이 없는 형태적 차이에 근거하여 *C. lighti*의 타당성을 주장

한 바 있다. 그러나 본 연구에서는 *C. lighti*와 참서대의 16S rRNA가 100% 일치하는 점에서 두 종은 비교적 최근에 분화되었을 가능성이 높지만, 두 종간의 유연관계를 명확히 하기 위하여 진화속도가 빠른 영역을 대상으로 추가적인 연구가 필요하다. 또한 Sharina and Kartavtsev (2010)는 NCBI에 등록된 흑대기 정보의 재검토의 필요성을 언급한 바 있어 향후 참서대와 어류의 분자계통학적 연구가 시급한 실정이다.

#### 사 사

본 연구는 2009년도 국립수산물과학원 해양생태계기초조사 유영동물 용역과제 (RP-2010-FR-039)의 지원으로 이루어졌으며, 지원에 감사드립니다. 또한, 자치어의 형태 스케치에 도움을 주신 구선옥씨께 감사드립니다.

#### 참고문헌

- Aranishi F, Okimoto T and Izumi S. 2005. Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP analysis. *J Appl Genet* 46, 69-73.
- Baeck GW, Huh SH and Hashimoto H. 2002. Feeding habits of tonguefish, *Cynoglossus joyneri* collected in the coastal waters of Yosu, Korea. *Korean J Ichthyol* 14, 234-239.
- Baeck GW and Huh SH. 2004a. Age and growth of red tongue sole (*Cynoglossus joyneri*) in the southern sea of Korea. *J Kor Fish Soc* 37, 307-311.
- Baeck GW and Huh SH. 2004b. Age and growth of three-lined tonguefish (*Cynoglossus abbreviatus*) (Soleidae; Teleostei). *J Kor Fish Soc* 37, 51-56.
- Baeck GW and Huh SH. 2004c. Feeding habits of robust tonguefish, *Cynoglossus robustus* collected in the coastal waters of Yosu, Korea. *Korean J Ichthyol* 16, 341-347.
- Blaxter JHS. 1984. Ontogeny, systematic and fisheries. In: *Ontogeny and systematic of fishes based on an international symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstrom*. Moser HG, Richards WJ, Cohen DM, Fahay MP, Kendall Jr AW and Richardson SL, eds. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, U.S.A. 1-6.
- Choi Y, Kim IS, Ryu BS, Chung EY and Park JY. 1995. Ecology of *Cynoglossus joyneri* Günther from the western coast of Korea. *Korean J Ichthyol* 7, 56-63.
- Fujita S, Kitajima C and Hayashida G. 1986. Induction of ovarian maturation and development of eggs, larvae and juveniles of the tonguefish, *Cynoglossus abbreviatus*, reared in the laboratory. *Jpn J Ichthyol* 33, 304-315.
- Gu SO, Hwang HJ and Kim JK. 2009. Morphological description of *Cynoglossus joyneri* larvae collected

- from the Yellow Sea. *Kor J Fish Aquat Sci* 42, 725-728.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41, 95-98.
- Ivanova NV, Zemlak TS, Hanner RH and Hebert PDN. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Mol Ecol Notes* 7, 544-548.
- Kendall Jr AW and Gray AK. 2001. A comparison of genetic identifications and pigment patterns of *Sebastes* larvae caught on NOAA ship John N. Cobberuise 9809. AFSC processed report 2001-02, 1-31.
- Kim BJ, Kim S, Seo HS and Oh J. 2008. Identification of *Albula* sp. (Albulidae: Albuliformes) leptocephalus collected from the southern coastal waters of Korea using cytochrome *b* DNA sequences. *Ocean Sci J* 43, 101-106.
- Kim IS, Choi Y, Lee CL, Lee YJ, Kim BJ and Kim JH. 2005. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Publishing Co., Seoul, Korea, 487-490.
- Kim JK, Watson W, Hyde J, Lo N, Kim JY, Kim S and Kim YS. 2010. Molecular identification of *Ammodytes* (PISCES, Ammodytidae) larvae, with ontogenetic evidence on separating populations. *Genes & Genomics* 32, 431-439.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16, 111-120.
- Lee JS, Kim SY, Ma KH and Huh SH. 2000. Ovarian development and reproductive cycle of the female red tongue sole, *Cynoglossus joyneri* (Teleostei: Cynoglossidae). *J Kor Fish Soc* 33, 554-558.
- Leis JM and Carson-Ewart BM. 2000. The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: an identification guide to marine fish larvae. Brill, Leiden, Netherlands, 9-24.
- Lindstrom DP. 1999. Molecular species identification of newly hatched Hawaiian amphidromous gobioid larvae. *Mar Biotechnol* 1, 167-174.
- Matarese AC, Kendall AW, Blood DM and Vinter BM. 1989. Laboratory guide to early life history stages of northeast Pacific fishes. NOAA Tech Rep NMFS 80, 13-27.
- Minami T. 1982. The early life history of a tongue fish *Paraplagusia japonica*. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 48, 1041-1046.
- Minami T. 1983. The early life history of a tongue fish *Cynoglossus joyneri*. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 49, 719-724.
- Nelson JS. 2006. Fishes of the world. 4th ed. John Wiley and Sons Inc., Hoboken, U.S.A. 450-451.
- Okiyama M. 1988. An atlas of the early stage fishes in Japan. Tokai University Press, Tokyo, Japan, 959-964.
- Paine MA, McDowell JR and Graves JE. 2008. Specific identification using COI sequence analysis of scombrid larvae collected off the Kona coast of Hawaii Island. *Ichthyol Res* 55, 7-16.
- Park KD, Myoung JG, Kang YJ and Kim YU. 2005. Seasonal variation of abundance and species composition ichthyoplankton in the coastal water off Tongyoung, Korea. *J Kor Fish Soc* 38, 385-392.
- Pegg GG, Sinclair B, Briskey L and Aspden WJ. 2006. MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef, Australia. *Sci Mar* 70S2, 7-12.
- Robertson MD, Ovenden JR and Barker SC. 2007. Identification of small juvenile scombrids from northwest tropical Australia using mitochondrial DNA cytochrome *b* sequences. *Ichthyol Res* 54, 246-252.
- Russell FS. 1976. The eggs and planktonic stages of British marine fishes. Academic Press, London, U.K. 22-29.
- Seikai T, Tanangona JB and Tanaka M. 1986. Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 52, 977-982.
- Seo YI, Kim JI, Oh TY, Lee SK, Kim ST and Joo H. 2007. Age and growth of the robust tonguefish, *Cynoglossus robustus* in the southern sea of Korea. *Korean J Ichthyol* 19, 324-331.
- Sharina SN and Kartavtsev YP. 2010. Phylogenetic and taxonomic analysis of flatfish species (Teleostei, Pleuronectiformes) inferred from the primary nucleotide sequence of cytochrome oxidase 1 gene (CO-1). *Russ J Genet* 46, 401-407.
- Tamura K, Dudley J, Nei M and Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Evol* 24, 1596-1599.
- Taylor CA and Watson W. 2004. Utility of larval pigmentation to identify nearshore rockfishes of the *Sebastes* subgenus *pteropodus* from southern California. *CalCOFI Rep* 45, 113-117.
- Thompson JD, Higgins DG and Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through

- sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl Acids Res* 22, 4673-4680.
- Uyeda S and Sasaki K. 2000. Larvae of two tonguefishes (Cynoglossidae; Pleuronectiformes) occurring off southern Japan. *Ichthyol Res* 47, 401-406.
- Vandersea MW, Litaker RW, Marancik KE, Hare JA, Walsh HJ, Lem S, West MA, Wyanski DM, Laban EH and Tester PA. 2008. Identification of larval sea basses (*Centropristis* spp.) using ribosomal DNA-specific molecular assays. *Fish Bull* 106, 183-193.
- Victor BC, Hanner R, Shivji M and Hyde J. 2009. Identification of the larval and juvenile stages of the cubera snapper, *Lutjanus cyanopterus*, using DNA barcoding. *Zootaxa* 2215, 24-36.
- Viñas J and Tudela S. 2009. A validated methodology for genetic identification of tuna species (genus *Thunnus*). *PLoS ONE* 4, e7606.
- Wan RJ, Jiang YW and Zhuang ZM. 2004. Morphological and developmental characters at the early stages of the tonguefish *Cynoglossus semilaevis*. *Acta Zool Sin* 50, 91-102.
- Yago Y, Kinoshita I, Fujita S, Ueda H and Aoyama D. 2009. Comparison of the early life histories of two *Cynoglossus* species in the inner estuary of Ariake Bay, Japan. *Ichthyol Res* 56, 363-371.
- Yamada U, Tokimura M, Horikawa H and Nakabo T. 2007. Fishes and fisheries of the East China and Yellow Sea. Tokai University Press, Hadano, Japan, 1136-1162.

---

2010년 8월 11일 접수

2010년 9월 9일 수정

2010년 10월 18일 수리