

참복속(genus *Takifugu*) 어류 3종과 미동정 1종의 형태 및 유전학적 비교

백정익* · 한경호¹ · 이성훈¹ · 김진구²

국립수산과학원 수산자원연구센터, ¹전남대학교 해양기술학부, ²부경대학교 자원생물학과

Morphological and Molecular Comparison among Three Species and One Unidentified *Takifugu* Species

Jeong-Ik Baek*, Kyeong-Ho Han¹, Seong-Hoon Lee¹ and Jin-Koo Kim²

Fisheries Resources Research Center, National Institute of Fisheries Science, Tongyeong 56034, Korea

¹Department of Marine Technology, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea

²Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Takifugu rubripes, *T. chinensis*, *T. pseudommus* and an unidentified species were morphologically and genetically studied. Morphology was compared using external morphology and the genetic analysis was conducted using mitochondrial DNA cytochrome oxidase I (COI) and cytochrome *b* (Cyt *b*). The morphological characteristics of *T. rubripes*, *T. chinensis* and *T. pseudommus* were confirmed, as reported previously. The unidentified species was confirmed to have the characteristics of *T. rubripes* and *T. chinensis*. The COI sequences of the four species were 99-100% similar; genetic distance was $d=0.0000$ and Cyt *b* genetic distance was $d=0.0000-0.00834$. Species in the phylogenetic tree belonging to the same group could not be classified genetically. In conclusion, the unidentified species was considered to be a hybrid between *T. rubripes* and *T. chinensis*.

Key words: *Takifugu*, Unidentified species, Comparison study, Morphology, Genetics

서론

근연관계에 있는 종들은 자연상태에서 드물게 교잡현상이 일어나고, 이로 인하여 새로운 계통의 진화가 초래되기도 한다 (Grant and Grant, 1992; Lee et al., 2009). 그러나 자연상태에서 이들의 교잡유무를 정확히 파악하기란 쉽지 않으며, 따라서 최근에는 DNA에 의한 교잡유무 추정 연구가 수행되고 있다 (Brykov and Podlesnykh, 2001; Lee et al., 2009; Yun et al., 2009; Kwun and Kim, 2010).

참복과(Tetraodontidae) 어류는 19속 121종이 알려져 있으며 (Nelson, 2006), 국내에는 본 과에 10속 33종이 기재되어 있다 (Kim and Lee, 1990; Lee, 1993; Han, 1995; Han and Kim, 1998a, 1998b, Han et al., 2017). 복어류는 구형의 특이한 형태를 가지고, 외부형태가 유사한 종들이 많아 종 동정에 어려움이 많다(Baek, 2017).

우리나라는 수입(식용) 가능한 복어 21종을 법규로 정하고 있지만, 이것은 일본의 수산 법규를 그대로 가져와 사용한 것으로

우리나라와 맞지 않는 점이 있다(Baek, 2017). 그리고 복어류는 테트로도톡신(Tetrodotoxin)이라는 치명적인 독을 가진 어류로서, 잘못 판단하여 식용할 경우 중독을 일으킬 염려가 있어, 형태적으로 명확한 종의 분류가 필요하다(Han et al., 2017).

현재 참복속(*Takifugu*) 어류 중 별종이지만 형태적으로 유사한 복어류는 흰점복(*T. poecilonotus*)과 황해흰점복(*T. albopulmbeus*), 매리복(*T. snyderi*)과 국매리복(*T. vermicularis*), 황복(*T. obscurus*)과 황점복(*T. flavidus*), 밀복속(*Lagocephalus*) 어류 등이 있다(Baek, 2017). 또한, 동아시아 연안에 서식하는 종으로, 등, 뒷, 가슴지느러미의 줄기 수와 척추골의 수가 같은 범위 안에 있는 계수형질 상 매우 유사한 종인 자주복과 참복이 있다(Reza et al., 2008).

본 연구는 최근에 자주복(*Takifugu rubripes*)이나 참복(*Takifugu chinensis*)과 매우 유사한 개체가 출현하여 분류에 어려움을 야기하고 있다. 따라서 형태적으로 유사한 자주복, 참복, 흰점참복(*Takifugu pseudommus*)과 미동정 1종에 대하여 형태 및 유전학적 비교를 실시하여 유연관계를 확인하고자 하

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0404>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 51(4) 404-410, August 2018

Received 17 April 2018; Revised 15 May 2018; Accepted 2 August 2018

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 650. 2243 Fax: +82. 61. 659. 7169

E-mail address: tpqkzn13@naver.com

었다.

재료 및 방법

이 연구에서 사용된 표본은 2015년 12월부터 2016년 12월까지 자주복(*Takifugu rubripes*) 3개체는 통영, 참복(*T. chinensis*) 9개체와 흰점참복(*T. pseudommus*) 6개체는 목포, 미동정 어류(*Takifugu* sp.) 1종은 여수에서 채집하여 외부형태에 대하여 비교를 하였다. 유전분석을 위해 부경대학교 해양어류자원 기탁 등록보존기관(MFRBK, marine fish resource bank of Korea)에서 미동정 어류 6개체의 근육샘플을 추가로 분양 받았다. 표본의 형질을 조사하기 위하여 어체의 등쪽, 배쪽과 옆쪽을 사진 촬영하였고, 체형과 체색 및 피부극의 외부형태 특징을 관찰하였다.

구입한 종의 동정 및 학명은 Masuda et al. (1984)과 Han (1995)을 따랐으며, 분류체계는 Nelson (2006)을 따랐다. 표본의 계수형질로는 등, 가슴, 뒷지느러미 및 꼬리지느러미 줄기수이고, 계측형질은 Abe and Tabeta (1984)와 Han (1995)에 따라 18개 부위를 1/10mm vernier caliper를 사용하여 측정하였다.

어류의 분자 분석을 위하여 DNA를 추출하였고, 추출한 DNA는 cytochrome oxidase I (COI)와 Cytochrome b (Cyt b) 유전자 영역을 증폭하였으며, 염기서열 정보는 NCBI (national center for biotechnology information) GenBank에 등록하였다.

염기서열을 비교하기 위해 COI영역의 자주복(*T. rubripes*; CNU16007; KY514072), 참복(*T. chinensis*; CNU 16006; KY514073), 흰점참복(*T. pseudommus*; CNU16009; KY 514075), 미동정 어류(*Takifugu* sp.; CNU 17001-17008; MH 172368-172375)에서 얻은 염기서열과 NCBI에 등록된 자주복(*T. rubripes*; KP641572, JQ738474), 참복(*T. chinensis*; KP 641550, KP641557), 흰점참복(*T. pseudommus*; KP641558)의 Database를 이용하였다.

외집단으로는 참복과(Tetraodontidae) 꺼끌복속(*Arothron*)의 흑점꺼끌복(*Arothron nigropunctatus*; CNU 16012; KY 514078), 밀복속(*Lagocephalus*)의 은밀복(*Lagocephalus wheeleri*; CNU 16014; KY514080)과 첼로복속(*Chelonodon*)의 첼로복(*Chelonodon patoca*; KY553284)을 함께 비교하였다. Cytb 영역은 자주복(*T. rubripes*; CNU17011; MH477884), 참복(*T. chinensis*; CNU 17012; MH477885), 흰점참복(*T. pseudom-*



Fig. 1. Lateral (left), dorsal (middle) and ventral (right) views of *Takifugu* spp. A, *Takifugu rubripes*; B, *Takifugu chinensis*; C, *Takifugu pseudommus*; D, *Takifugu* sp.

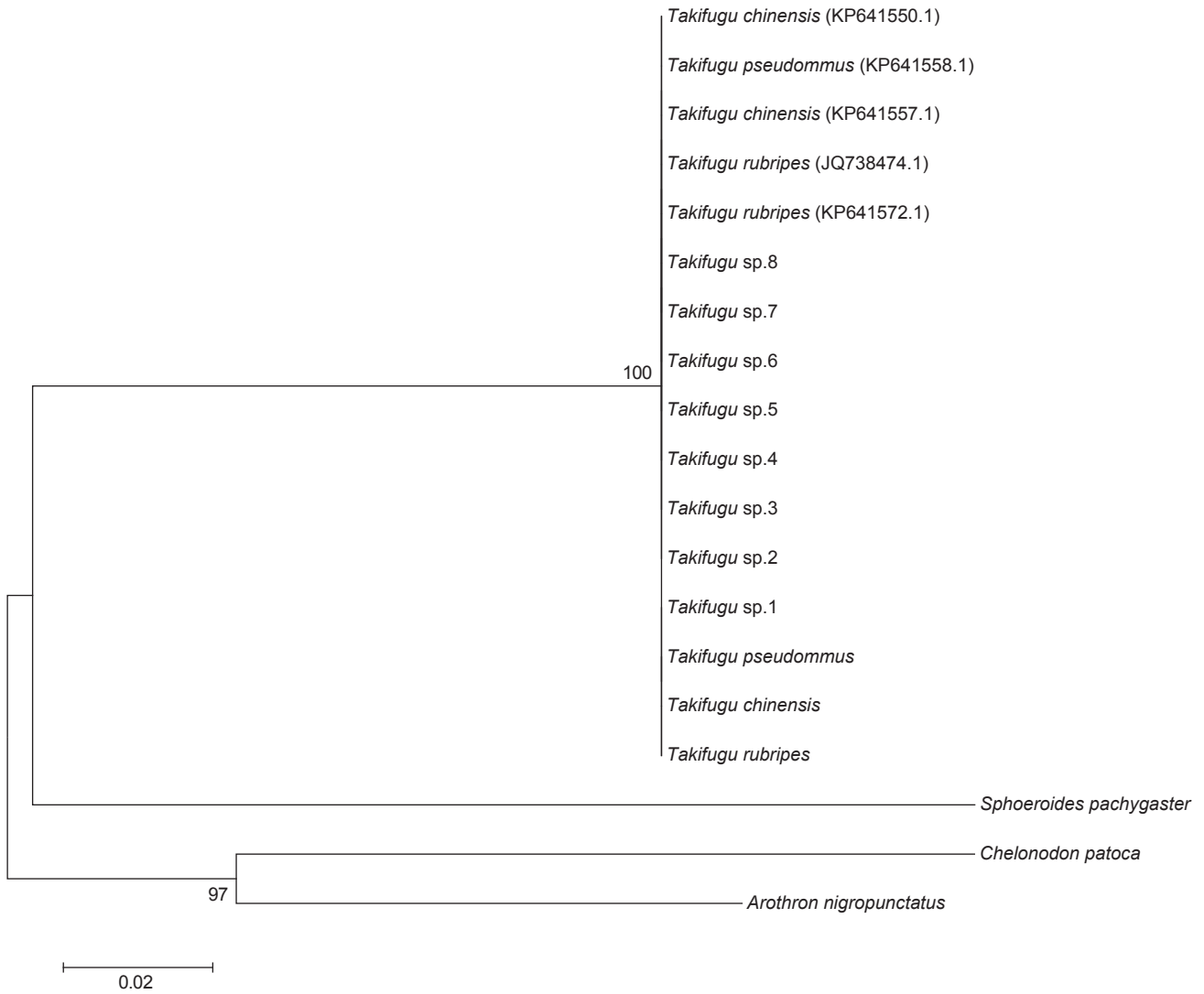


Fig. 2. Phylogenetic tree based on cytochrome oxidase I showing the relationships among Tetraodontid fishes. The Neighbor-Joining tree is constructed using the Kimura-2-parameter model (Kimura, 1980). 1,000 replication of bootstrap. Bar indicates genetic distance of 0.02

에 검은색 큰 반점 1개가 흰색으로 둘러 싸여 있지만 이어서 다른 어떠한 무늬도 없었다(Fig. 1).

흰점참복은 자주복, 참복과는 다르게 몸의 등쪽과 옆쪽에 검은색 바탕에 둥근모양의 희미한 흰색 반점이 흩어져 있고, 자주복은 뒷지느러미가 흰색이고, 참복은 검은색이며, 흰점참복은 흰색 또는 검은색이다. 또, 자주복과 참복의 중간형태를 가진 종으로 추정되는 미동정 어류는 자주복의 특징인 몸의 옆쪽에 불규칙하게 둥근모양의 검은색 반점과 흰색 무늬가 꼬리지느러미 앞까지 이어지고 있지만, 뒷지느러미는 참복의 특징인 검은색을 띠고 있어 외부형태적으로는 자주복과 참복의 잡종으로 보인다(Fig. 1).

참복속 4종의 계수, 계측형질은 Table 1과 같았고, 미동정 어류를 제외한 3종의 결과는 Lee (1993) 및 Han (1995)와도 유

사하였으며, 계수형질은 4종이 큰 차이를 나타내지 않았다. 계측형질에서는 4종이 같은 분류군으로서의 특징을 나타냈고, 미동정 어류는 체장에 대한 등지느러미 길이가 12.6-20.8%로 참복속 어류 3종과 차이를 나타냈지만, 전체적으로 큰 차이를 나타내지 않았다. 미동정 어류는 Lee (1993)과 Han (1995)의 연구 결과와도 차이를 나타내지 않아 계수, 계측형질로서 종을 구분하기에는 어려움이 있었다(Table 1). 이러한 결과는 Song et al. (2001)의 연구 결과인 자주복과 참복의 근연종은 형태적으로 항상 자주복의 특징을 보인다고 하는 결과에 대해서는 미동정 어류의 경우 자주복과 참복의 형태적 특징을 고루 갖추고 있어 다른 결과를 나타냈다(Song et al., 2001).

미토콘드리아 DNA cytochrome oxidase I (COI) 영역을 이용한 분자 분석에서는 자주복, 참복, 흰점참복의 염기서열이

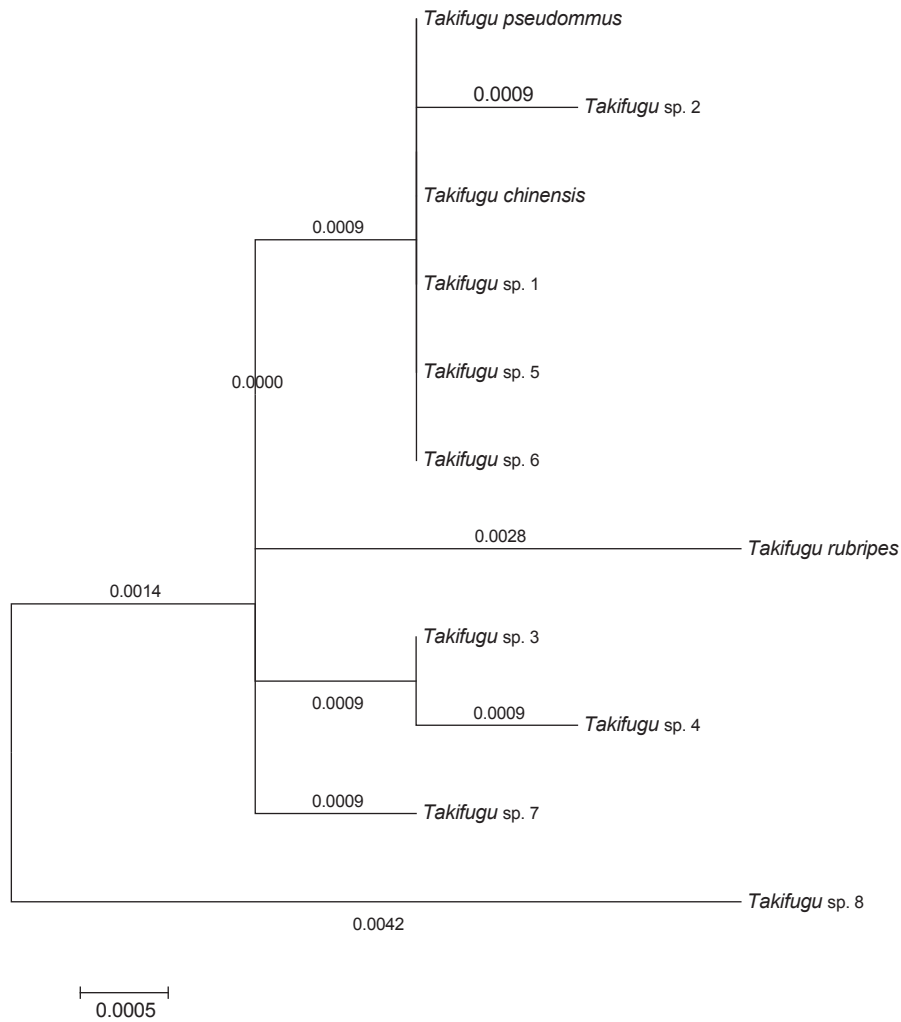


Fig. 3. Phylogenetic tree based on cytochrome b showing the relationships among *Takifugu* fishes. The Neighbor-Joining tree is constructed using the Kimura-2-parameter model (Kimura, 1980). 1,000 replication of bootstrap. Bar indicates genetic distance of 0.0005

Table 3. Genetic distance (Cyt b) among *Takifugu* spp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Takifugu chinensis</i>										
<i>Takifugu rubripes</i>	0.0037									
<i>Takifugu pseudommus</i>	0.0037	0.0000								
<i>Takifugu sp. 1</i>	0.0037	0.0000	0.0000							
<i>Takifugu sp. 2</i>	0.0046	0.0009	0.0009	0.0009						
<i>Takifugu sp. 3</i>	0.0037	0.0018	0.0018	0.0018	0.0028					
<i>Takifugu sp. 4</i>	0.0046	0.0028	0.0028	0.0028	0.0037	0.0009				
<i>Takifugu sp. 5</i>	0.0037	0.0000	0.0000	0.0000	0.0009	0.0018	0.0028			
<i>Takifugu sp. 6</i>	0.0037	0.0000	0.0000	0.0000	0.0009	0.0018	0.0028	0.0000		
<i>Takifugu sp. 7</i>	0.0037	0.0018	0.0018	0.0018	0.0028	0.0018	0.0028	0.0018	0.0018	
<i>Takifugu sp. 8</i>	0.0083	0.0065	0.0065	0.0065	0.0074	0.0065	0.0074	0.0065	0.0065	0.0065

99-100% 유사했고, 유전 거리는 $d=0.0000$ 이었다(Table 2). Neighbor-Joining tree에서는 4종이 같은 그룹에 속하였고, 근연종의 경우도 자주복, 참복, 흰점참복과 100% bootstrap 일치하는 유연관계를 나타내어, 유전적으로 4종을 구분할 수 없었다(Fig. 2). 외집단으로 설정한 첼로복(*Chelonodon patoca*)과 4종 사이의 유전거리는 $d=0.2182$, 볼록복(*Spherooides pachygaster*)은 $d=0.2104$, 흑점꺼끌복(*Arothron nigropuntatus*)은 $d=0.1850$ 으로 나타났고, 첼로복과 볼록복 사이의 유전거리는 $d=0.2420$, 첼로복과 흑점꺼끌복은 $d=0.1667$, 볼록복과 흑점꺼끌복은 $d=0.2451$ 로 나타났다.

Cyt b 영역의 결과는 유전거리는 4종이 $d=0.0000-0.0083$ 으로 약간의 차이는 있었지만 종을 구분하기에는 무리가 있는 결과를 나타내었고, 자주복과 흰점참복은 $d=0.0000$ 으로 COI와 같은 결과를 나타내어, 유전적으로는 자주복과 흰점참복은 같은 종이지만 형태적으로는 다른 표현형을 가진 종으로 보인다. 참복과 미동정 어류와의 유전거리는 $d=0.0037-0.0083$ 인데 반해, 자주복과 미동정 어류의 유전거리는 $d=0.0000-0.0065$ 로 참복보다는 자주복과 가까운 것으로 나타났으나 유의한 차이는 아니라고 판단된다(Table 3). Cyt b 영역의 NJ tree에서 자주복은 다른 종들과는 약간의 거리를 두고 있었고, 참복과 흰점참복은 미동정 어류와 같은 그룹을 이루고 있었다. 하지만 참복속 어류 4종이 크게는 같은 그룹에 속하며 작은 차이를 가지고 있어 유전적으로 종을 구분하기에는 어려움이 있으며 미동정 어류는 자주복과 참복의 잡종(Hybrid)으로 추정된다(Fig. 3)

분자 분석의 결과, 자주복, 참복, 미동정 어류는 DNA 염기서열에서 낮은 단계의 변화가 관찰되어, 종 내에서 이루어질 수 있는 분기라고 하였고, 종간의 유전거리가 다른 종과의 거리보다는 작아 자주복, 참복, 근연종을 다른 표현형을 가진 종이라고 하였다. 결론적으로 자주복과 참복은 같은 종이지만 각각 흰색과 검은색의 뒷지느러미를 가진 복어의 학명이라는 결과를 뒷받침 한다고 볼 수 있다는 Song et al. (2001)의 연구결과를 지지하여 준다. 그리고 Reza et al. (2008)의 연구결과인 자주복과 참복이 자연 상태에서 어느 정도의 유전물질을 교환하고, 그 결과 근연종이 출현한다고 하였다. 따라서 이 논문의 미동정 어류와 같은 자주복과 참복의 잡종(Hybrid)이 출현한 것과 같은 결과를 뒷받침하고 있다. 그리고 자주복과 참복에 대한 관련성 정도를 추정하는 연구가 더 필요하다는 연구결과도 지지하여 준다.

그러나 이 연구에서는 참복속 미동정 어류 2개체가 형태 비교를 위하여 사용되었기 때문에, 추후 더 많은 표본을 대상으로 한 분류학적 연구가 필요하다고 생각 되며, Song et al. (2001)과 Reza et al. (2008)의 연구결과로 볼 때 자주복, 참복, 흰점참복의 산란특성에 대한 연구와 잡종이 출현하여 그 F2와 F3의 출현 유무에 대한 연구도 필요하다고 판단된다.

사 사

이 논문은 2018년도 국립수산물과학원 수산시험연구사업 과제

명(R2018023)의 지원으로 수행된 연구입니다.

References

- Abe T and Tabeta O. 1984. Pufferfishes Available in Japan. An illustrated guide to their identification Central law publication, Tokyo, Japan, 85.
- Baek. 2017. Taxonomy and Molecular Phylogeny of the Tetraodontoidei (Teleostei: Tetraodontiformes). Ph. D Thesis, Chonnam National University, Yeosu, Korea.
- Brykov VIA and Podlesnykh AV. 2001. Comparative study of mitochondrial DNA in two greening species (Hexagrammidae: Pisces) and their hybrids from Peter the Great Bay (Sea of Japan). Anim Genet 12, 1663-1666.
- Grant PR and Grant BR. 1992. Hybridization of bird species. Science 256, 193-197.
- Han KH. 1995. Morphology, osteology and phylogeny of the fishes of the Family Tetraodontidae (Teleostei; Tetraodontiformes). Ph. D Thesis, National Fisheries University of Busan, Busan, Korea, 205.
- Han KH, Baek JI, Shin LS, Kim HJ, Yoon BI, Hwang JH and Lee SH. 2017. Morphological Description of Three Species of Pufferfishes (Tetraodontidae) from India. Korean J Fish Aquat Sci 50, 77-84. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0077>.
- Han KH and Kim YU. 1998a. Taxonomic Revision of the Genus *Takifugu* (Teleostei; Tetraodontidae) from Korea. Bull Yosu Nat'l Univ 12, 563-589.
- Han KH and Kim YU. 1998b. Taxonomic Revision of the Genera *Logocephalus* and *Pleurancanthus* (Teleostei; Tetraodontidae) from Korea. Bull Yosu Nat'l Univ 12, 591-604.
- Kim IS and Lee WO. 1990. Synopsis of the Suborder Tetraodontoidei (Pisces; Tetraodontiformes) from Korea. Korea J Ichthyol 2, 1-27.
- 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.
- Kwon HJ and Kin JK. 2010. Occurrence of Natural Hybrid between *Oplegnathus fasciatus* and *Oplegnathus punctatus* from the South Sea of Korea. Korea J Ichthyol 22, 201-205.
- Lee IR, Yang H, Kim JH, Kim KY and Bang IC. 2009. Identification of a natural hybrid between the striped spine loach *Cobitis tetralineata* and the king spine loach *Iksookimia longicorpa* by analyzing mitochondrial COI and Nuclear RAG1 sequences. Korea J Ichthyol 21, 287-290.
- Lee WO. 1993. A Systematic study of the family Tetraodontidae (Pisces: Tetraodontiformes) from Korea. Ph.D. Thesis, Chonbuk National University, Jeongju, Korea.
- Masuda H, Amaoka K, Araga C, Uyeno T and Yoshino T. 1984. The fishes of the Japanese archipelago. Tokai University, Tokyo, Japan, 437.
- Nelson JS. 2006. Fishes of the world (4th ed.). John Wiley and

Sons, New York, NY, U.S.A., 601.

- Reza MS, Furukawa S, Mochizuki T, Matsumura H and Watabe S. 2008. Genetic comparison between torafugu *Takifugu rubripes* and its closely related species karasu *Takifugu chinensis*. J Soc Fisheries Science 17, 743-754. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2008.01585.X>.
- Song L, Liu B, Xiang J and Qian PY. 2001. Molecular Phylogeny and Species Identification of Pufferfish of the Genus *Takifugu* (Tetraodontiformes, Tetraodontidae). Mar Biotechnol 3, 398-406. <https://doi.org/10.1007/S10126-001-0006-5>.
- Tamura K, Dudley J, Nei M and Kumar S. 2013. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 6.0. Mol Biol Evol 24, 1596-1599.
- Yun YE, Lee IR, Park SY, Kang EJ, Kim EO, Yang SK, Nam YK and Bang IC. 2009. Genetic identification of hybrids between *Rhodeus uyekii* and *R. notatus* by sequence analysis of RAG-1 gene. J Aquaculture 22, 79-82.