

## 한국 고유 담수어종 참갈겨니(*Zacco koreanus*) 개체군의 계통지리학 및 집단유전학 연구

김유림, 장지은, 최희규, 이혁제\*

상지대학교 생명과학과 분자생태및진화학실험실

### Phylogeographic and population genetic study of a Korean endemic freshwater fish species, *Zacco koreanus*

Yu Rim Kim, Ji Eun Jang, Hee-kyu Choi and Hyuk Je Lee\*

Molecular Ecology and Evolution Laboratory, Department of Biological Science, College of Science & Engineering, Sangji University, Wonju 26339, Republic of Korea

**\*Corresponding author**

Hyuk Je Lee

Tel. 033-730-0436

E-mail. [hyukjelee@sangji.ac.kr](mailto:hyukjelee@sangji.ac.kr)

**Received:** 25 November 2020

**Revised:** 9 December 2020

**Revision accepted:** 10 December 2020

**Abstract:** We conducted a phylogeographic analysis of Korean endemic *Zacco koreanus* populations inhabiting the East-flowing river (Gangneung Yeongokcheon; GY, Yangyang Namdaechon; YN), the Han River (Seomgang; SG, Soksacheon; SS), and the Nakdong River (Gilancheon; GA) using the mitochondrial DNA cytochrome oxidase I (COI) gene (619 bp). Population genetic analysis was further performed to assess the population connectivity for the GY river where there is a large number of human-made artificial weirs with several fishways. The phylogeographic analysis revealed that while the populations of the East-flowing river and those of the Han River formed a monophyletic lineage, the Nakdong River individuals represented a distinct lineage with 3.7–4.2% (mean = 4.0%) genetic distance from the other lineages. The population genetic analysis of the GY showed that a mid-stream population harbored relatively higher mitochondrial diversity relative to up- and down-stream populations, and there was no genetic differentiation between these three populations. The latter findings might suggest high genetic connectivity between the populations via genetic flow along the fishways. However, an analysis using faster-evolving genetic markers, such as microsatellites, is needed to confirm the findings of high population connectivity. Our study suggests the possibility of the presence of cryptic species in *Z. koreanus* in the Nakdong River basin. However, further study with more individual samples as well as additional markers or even more advanced genomic tools is required to test our hypothesis. Ecological or phenotypic analyses should be conducted to test whether the observed Nakdong River lineage represents a different or cryptic species, or simply hidden, but excessive, intra-specific diversity.

**Keywords:** cryptic species, ecotype, Korean endemic freshwater fish, phylogeography, river connectivity

## 서 론

하천은 상·중·하류의 연속성을 나타내며 지점별 유속, 수심, 이화학적 특성, 하상구조 등의 차이로 인해 이질적인 비생물학적 수환경 특성을 가지고 있으며 이는 다양한 담수생물 종에게 서식처 제공을 가능케 한다(Son and Song 1998). 한반도의 하천은 빙하기의 영향으로 하천 수계의 지리적인 격리가 더욱 뚜렷해지게 되었고(NIBR 2011), 이는 서로 다른 환경에 대한 개체군 적응(adaptation) 과정 및 수계 간 제한된 유전자 확산(gene flow)으로 인해 종 분화(speciation)를 일으켰다(Kim et al. 2003). 각각의 하천별 지리적으로 격리된 어류는 북방종개(*Iksookimia pacifica*), 자가사리(*Liobagrus mediadiposalis*), 참갈겨니(*Zacco koreanus*; *Nipponocypris koreanus*) 등 다수의 한국 고유종(endemic species)으로 분화하였다(Kim et al. 2003). 국내에는 213종의 담수어류가 서식하고 있으며 그중 한국 고유종은 67종이 포함된다(NIBR 2013).

잉어과(Cyprinidae) 피라미속(genus *Zacco*)에 속하는 한국 고유종인 참갈겨니(*Z. koreanus*)는 한강, 금강, 섬진강, 낙동강 등 우리나라 대부분의 하천에 널리 분포하며, 개체수가 많아 국내 하천의 수환경 평가에 활용되고 있다(Seo 2005; Choi et al. 2006). 기존에는 갈겨니(*Zacco temminckii*; *Nipponocypris temminckii*)와 동일종으로 알려졌지만 지리적 분포와 형태 및 유전적 차이를 근거로 2005년부터 신종으로 분류되었다(Kim et al. 2005). 형태적으로 참갈겨니는 갈겨니와 달리 동공 상단에 붉은색 반점이 없고, 체측의 전반부는 노란색을 띠며, 갈겨니는 국내에서 남부지방에 분포하지만 참갈겨니는 영산강을 제외한 대부분의 하천에 분포한다(Kim et al. 2005). 참갈겨니는 지리적 분포에 따라 형태가 다르게 나타나 HK형(H: Han River; 한강, K: Kum River; 금강), NS형(N: Nakdong River; 낙동강, S: Sumjin River; 섬진강), NE형(N: Nakdong River; 낙동강, E: East-flowing river; 동해유입하천)과 같이 서로 다른 3가지 유형, 즉 생태형(ecotype)으로 구분되었다(Chae and Yoon 2006). 각 유형의 형태는 가슴지느러미와 등지느러미의 체색의 차이로 구분한다(Chae and Yoon 2006). HK형은 가슴지느러미 앞부분에 붉은색을 띠며 등지느러미의 상부는 투명하거나 흰색이며 하부에는 검은색, 앞부분에는 약간의 붉은색을 나타내거나 없다. NS형은 HK형과 마찬가지로 가슴지느러미에 붉은색을 띠지만, 등지느러미 상부가 노란색이며 중부에 붉은 띠가 있다. NE형은 HK형, NS형과는

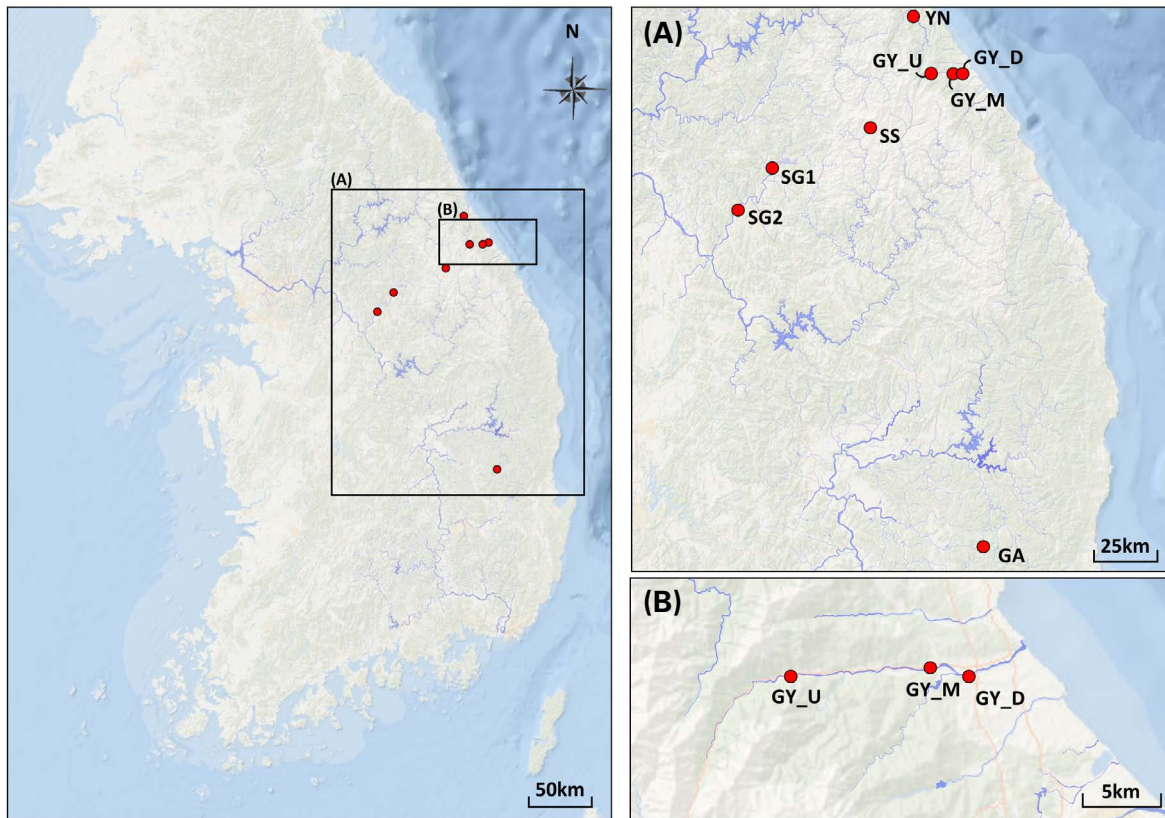
다르게 가슴지느러미 앞부분에 붉은색을 띠지 않으며 등지느러미에도 붉은색이 없다. 하지만 이러한 생태형의 구분은 지리적 분포와 형태적 차이에만 의존하고 있어 각각의 생태형 간 유전적 차이 정도를 파악하는 것이 필요하다. 국내에 서식하는 피라미속 3종(갈겨니, 참갈겨니, 피라미; *Zacco platypus*)의 어류를 대상으로 분자계통학(molecular phylogeny)적 연구는 수행된 바 있지만(Oh and Park 2009), 넓은 분포범위를 가지고 있는 우리나라 고유종인 참갈겨니를 대상으로 집단유전학적 연구는 거의 전무한 실정이며 분자계통 및 계통지리학(phylogeography)적 연구는 실시된 바 없다. 하지만, 최근 피라미속 *Zacco* 종간 자연교잡(natural hybridization) 개체를 분자유전학적 기법으로 탐지한 연구가 소개된 바 있다(Kim et al. 2020).

계통지리학은 진화적으로 가까운 근연종 간 및 종내 수준에서 유전적 계통의 지리적 분포를 연구하는 학문 분야로서, 미토콘드리아 DNA (mitochondrial DNA)가 분자마커(molecular marker)로서 보편적으로 널리 사용되어 왔다(Avise 2004). 미토콘드리아 DNA는 돌연변이율(mutation rate)이 높아 많은 유전적 변이를 가지며(Brown et al. 1979), 모계유전(maternal inheritance)의 특성을 갖기 때문에 변이가 유전적재조합(genetic recombination) 과정을 거치지 않고 조상에서 후손으로 수직적으로 유전되는 특성을 나타내어 유전적 다양성 및 유전적 구조, 진화역사, 계통발생 연구, 종 동정 등에 유용하다고 알려져 있다(Galtier et al. 2009; Choi and Lee 2018). 따라서, 본 연구에서는 국내에 서식하는 동해유입하천, 한강수계, 낙동강수계의 참갈겨니 자연개체군을 대상으로 미토콘드리아 DNA의 COI(cytochrome oxidase I) 유전자를 이용하여 계통지리학적 분석을 수행하여 지리적 분포에 따른 계통학적 차이를 파악하고자 하였다. 또한, 동해유입하천인 강릉 연곡천은 하천 내에 어류의 이동을 방해하는 11개의 보가 설치되어 있으며 36개의 어도가 설치되어 있어 강릉 연곡천을 대상으로 참갈겨니의 집단유전학(population genetics)적 분석을 수행하여 하천 내 어도 및 보가 개체군 내 유전적 연결성(genetic connectivity)에 영향을 미치는지 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구대상 지역

연구대상지는 각 수계에 서식하는 참갈겨니 개체군 간



**Fig. 1.** Eight sampling localities of *Zacco koreanus* from three river basins in South Korea. The East-flowing river: Gangneung Yeongokcheon (GY) and Yangyang Namdaechon (YN); the Han River basin: Seomgang (SG), Soksacheon (SS); and the Nakdong River basin: Gilancheon (GA).

계통지리학적 유연관계를 파악하기 위하여 동해유입하천, 한강수계와 낙동강수계를 선정하였다. 동해유입하천에는 강릉 연곡천 (Gangneung Yeongokcheon; GY)과 양양남대천 (Yangyang Namdaechon; YN), 한강수계는 섬강 (Seomgang; SG)과 속사천 (Soksacheon; SS), 낙동강수계는 길안천 (Gilancheon; GA)을 선정하여 참갈겨니 개체군을 대상으로 본 연구를 수행하였다(Fig. 1A). 동해유입하천인 강릉 연곡천은 강원도 강릉시 연곡면 오대산에서, 양양남대천은 평창군 오대산에서 발원하여 동해로 유입된다. 한강수계인 섬강은 한강의 지류이며 속사천은 평창강으로 유입되는 지류이다. 낙동강수계의 길안천은 낙동강의 제2지류이며 안동 반변천에 합쳐지는 하천이다. 연구대상지 중 강릉 연곡천은 상·중·하류 개체군 간 유전적 분화 정도 파악을 통한 서식지/개체군 연결성(connectivity) 평가를 위해 상류(GY\_U), 중류(GY\_M), 하류(GY\_D)로 나누어 지점을 선정하였다(Fig. 1B).

- Sampling Site 1 (GY\_U): 강원도 강릉시 연곡면 삼산리 연곡천 (N 37°50'43.59", E 128°40'56.53")
- Sampling Site 2 (GY\_M): 강원도 강릉시 연곡면 유등리 연곡천 (N 37°50'58.02", E 128°47'9.44")
- Sampling Site 3 (GY\_D): 강원도 강릉시 연곡면 송림리 연곡천 (N 37°50'47.38", E 128°48'15.32")
- Sampling Site 4 (YN): 강원도 양양군 서면 수리 남대천 (N 38°2'20.39", E 128°35'48.81")
- Sampling Site 5 (SG1): 강원도 횡성군 횡성읍 북천리 섬강 (N 37°30'3.74", E 127°59'38.31")
- Sampling Site 6 (SG2): 강원도 원주시 지정면 월송리 섬강 (N 37°22'54.03", E 127°51'30.08")
- Sampling Site 7 (SS): 강원도 평창군 용평면 노동리 속사천 (N 37°40'15.34", E 128°27'50.82")
- Sampling Site 8 (GA): 경북 청송군 현서면 모계리 길안천 (N 36°13'34.99", E 128°53'59.37")

## 2. 재료 및 방법

### 1) 시료 채취

유전자 분석을 위한 참갈겨니 시료는 8개 지점에서 2020년 3월~10월 기간에 채집하였으며, 투망(망목 7×7 mm)과 족대(망목 5×5 mm)를 이용하였다. 채집된 참갈겨니 개체들은 현장에서 사진 촬영 후, 재생된다고 알려진 꼬리지느러미 일부를 채취한 뒤 모두 방류하였다(Fu *et al.* 2013). 채취한 꼬리지느러미는 99.9% 알코올이 담긴 1.7 mL 튜브에 넣어 4°C에 냉장 보관하였으며 총 110개체[GY: N=87 (GY\_U: N=31, GY\_M: N=33, GY\_D: N=23), YN: N=5, SG: N=4 (SG1: N=2, SG2: N=2), SS: N=12, GA: N=2]의 유전자 분석을 위한 시료를 확보하였다(Table 1).

### 2) Genomic DNA 추출

참갈겨니 genomic DNA 추출을 위해 P&C Animal genomic DNA extraction kit (Biosolution, Korea)를 이용하였다. 꼬리지느러미를 대략 3 mm 크기로 절단한 후 10 µL의 Proteinase K (Biosolution)와 2 µL의 Rnase A (Biosolution)를 첨가한 후 Multitherm-shaker H5000-H-E (Benchmark, USA)를 이용하여 55°C에서 3시간 동안 용해시키고 DNA 추출 프로토콜에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA는 fluorometer (Invitrogen, USA)를 이용하여 농도를 측정하였으며 -20°C에 냉동 보관한 후 실험에 이용하였다.

### 3) 미토콘드리아 DNA COI (mitochondrial DNA cytochrome oxidase I) 유전자 PCR (polymerase chain reaction) 증폭

분자유전학적 기법을 이용한 계통지리학 및 집단유전학

적 분석을 위해 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자를 분자 마커로 사용하였으며, 이전 연구에서 어류를 대상으로 개발된 DNA 바코딩 (DNA barcoding) primers를 이용하였다(Ward *et al.* 2005). 사용된 primer-pairs의 염기서열은 다음과 같다.

COI -

FW (FishF1) (5'-TCAACCAACCACAAAGACATGGGCAC-3')

RV (FishR1) (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3')

PCR 반응은 sterilized distilled water 9.8 µL, 10X Green buffer (Thermo Scientific Inc., USA) 1.5 µL, forward/reverse primer 0.5 µL, 2.5 mM dNTPs (Bio Basic Inc., Canada) 1.5 µL, Taq Polymerase (Thermo Scientific Inc., USA) 0.2 µL 및 genomic DNA 1 µL (~43 ng µL<sup>-1</sup>)를 사용하여 총 15 µL로 2720 thermal cycler (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였다. PCR 증폭 조건은 95°C에서 2분간 초기 변성 (denaturation) 후 94°C에서 30초간 변성, 57°C에서 30초간 결합 (annealing), 72°C에서 1분간 신장 (extension) 반응을 35회 반복하였으며, 이후 72°C 10분 동안 최종 신장 반응을 수행하여 증폭을 완료하였다. 증폭된 PCR 산물은 RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON biotechnology, Korea)이 포함된 2% agarose gel에서 25분 동안 전기영동을 하여 증폭의 여부를 확인하였으며, 확인된 PCR 산물은 Exonuclease I (New England BioLabs, USA) 0.4 µL와 Shrimp Alkaline Phosphatase (rSAP) (New England BioLabs, USA) 1.6 µL, PCR 산물 8 µL를 혼합하여 37°C에서 15분, 85°C에서 15분 동안 정제 (purification)하였다. 정제된 산물은 마크로젠 (Macrogen, Korea)에 의뢰하였으며, ABI 3730xl automated DNA sequencer (Applied Biosystems)와

**Table 1.** Sample information and haplotype distribution of the mitochondrial DNA COI gene of *Zacco koreanus* populations from three river basins. See Figure 1 for the population abbreviations

River basin	Pop	N	Haplotype (number of individuals belonging to respective haplotypes)
The East-flowing river	GY_U	31	H04 (1), H05 (30)
	GY_M	33	H02 (1), H03 (1), H05 (31)
	GY_D	23	H01 (1), H05 (22)
	YN	5	H01 (2), H10 (2), H11 (1)
The Han River	SG	4	H01 (2), H09 (1), H11 (1)
	SS	12	H01 (7), H06 (1), H08 (2), H11 (1), H12 (1)
The Nakdong River	GA	2	H07 (2)

forward primer를 이용하여 염기서열 분석을 수행하였다.

#### 4) DNA 염기서열 정렬 및 데이터 분석

각 시료로부터 확보된 COI 유전자 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA)의 BLAST 프로그램을 이용하여 종 동정을 수행하였다. 참갈겨니로 확인된 염기서열은 CHROMAS ver. 2.1.1 프로그램을 통해 편집하였고, BIOEDIT ver. 7.2.5 (Hall 1999) 프로그램을 사용하여 정렬하였으며 Clustal W Multiple alignment (Thompson 1994)를 이용하여 단상형 (haplotype)을 결정하였다. 단상형의 진화적 유연관계 (phylogenetic relationships)는 HAPSTAR ver. 0.7 (Teacher and Griffiths 2011) 프로그램을 사용하여 단상형 네트워크 (haplotype network) 분석을 수행하여 파악하였다. 계통지리학적 분석을 위한 진화계통수 분석 (phylogenetic analysis)은 MEGA ver. 7.0 (Kumar et al. 2016) 프로그램을 사용하여 Maximum Likelihood (ML) 방법으로 1,000회 반복검증 (bootstrap)을 수행하였다. 외군 (outgroup)으로는 NCBI에 등록된 갈겨니 (*N. temminckii*; NC\_027664)와 일본갈겨니 (*Zacco sieboldii*; NC\_008653)의 염기서열을 사용하였다. 또한, 수계 간 유전적 거리 분석을 위해 MEGA 프로그램을 이용하여 Kimura-2-parameter (K2P) distance를 계산하였다 (Kimura 1980).

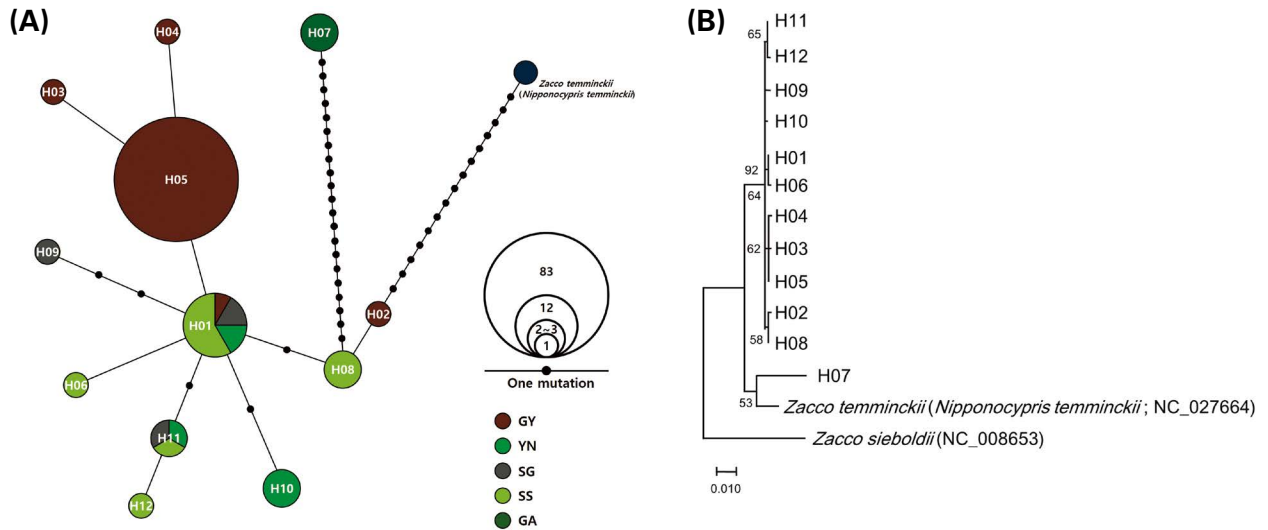
또한, 강릉 연곡천 상·중·하류 개체군 대상 집단유전학적 분석을 위해 개체군 내 단상형 수 (number of haplotypes;  $N_H$ ), 단상형 다양성 (haplotype diversity;  $h$ ) 및 뉴클레오티드 다양성 (nucleotide diversity;  $\pi$ )은 ARLEQUIN ver. 3.5 (Excoffier and Lischer 2010)를 사용하여 계산하였으며, 개체수 차이를 보정한 유전자 다양성 지수인 단상형 풍부도 (haplotype richness; HR) 수치는 CONTRIB ver. 1.02 (Petit et al. 1998)를 이용하여 계산하였다. 상·중·하류 개체군 간 분산에 의한 유전자 확산 (gene flow) 수준을 파악하기 위한 유전적 분화도 ( $F_{ST}$ ) 수치는 ARLEQUIN을 이용하였으며  $P$  값은 Bonferroni 보정을 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 계통지리학적 분석: 단상형 네트워크 및 계통유연관계

미토콘드리아 DNA의 COI 유전자를 이용하여 동해유입

하천, 한강수계, 낙동강수계에 서식하는 7개 개체군 (GY\_U, GY\_M, GY\_D, YN, SG, SS, GA)의 110개체를 대상으로 619 bp의 염기서열을 확보하였으며, 총 12개의 단상형이 확인되었다 (Table 1). 단상형 네트워크 분석 결과, H01은 낙동강수계의 길안천을 제외한 모든 수계의 하천 개체군이 공유하고 있었으며, 낙동강수계의 개체군은 한강수계의 속사천 개체군에서 관찰된 H08과는 22개의 돌연변이 차이 (mutational step)를 보이며 다른 분기된 계통 (H07)을 나타내었다 (Fig. 2A). 계통수 (phylogeny) 분석에서도 마찬가지로 낙동강수계는 상이한 계통을 나타냈으며 (Fig. 2B), 낙동강수계와 그 외의 수계에서 관찰된 단상형 간 유전적 거리 (K2P distance)는 평균 4.0% (3.7~4.2%)로 종 수준 이상의 차이를 보였다. 이전 연구에 의하면 유전적 거리가 >2~3% 수준인 경우 서로 다른 종으로 판단할 수 있으므로 (Hebert et al. 2003), 낙동강수계 계통의 평균 4.0% 수치는 다른 종 또는 잠재종 (cryptic species)일 가능성이 있다. 기존 연구에 따르면 참갈겨니는 지리적 분포에 따라 형태적 차이가 있다고 알려져 있으며, 동해유입하천 (NE형)과 한강수계 (HK형)에 서식하는 참갈겨니는 서로 지리적으로도 잘 구분된다고 보고하였다 (Chae and Yoon 2006). 본 연구에서 분석 결과 동해유입하천과 한강수계 개체군의 계통은 단계통을 형성하였으며 유전적 거리는 평균 0.4% (0.1~0.6%)로 낮게 나타나 유전적으로 매우 유사함을 의미하였다. 이는 최근 동해유입하천에 어족자원 증대와 하천복원을 위한 무분별한 도입이 일어나 쉬리 (*Coreoleuciscus splendidus*), 통가리 (*Liobagrus andersoni*) 등 많은 종들이 증가하고 있으며, 과거에 비해 참갈겨니 개체수 또한 급격히 증가하였다고 보고된 바 있다 (Byeon and Oh 2015; Yoon et al. 2018). 또한, 참갈겨니의 원서식지는 영동남부지역을 제외한 모든 하천이었으며 영동북부지역으로 이입되었다고 보고되었다 (Yoon et al. 2018). 이러한 결과를 토대로 동해유입하천의 참갈겨니 개체군은 과거 한강수계에 서식하던 참갈겨니의 유입 개체가 포함될 가능성이 있을 것으로 추정되고, 이는 서로 상이한 한강수계와 동해유입하천 유전적 계통이 인간에 의해 인위적으로 혼합되어 그 결과 유전적 거리가 예측보다 낮게 나타났을 것으로 추측된다. 하지만 보다 정확한 결론을 도출하기 위해서는 추가 시료확보를 통한 보다 면밀한 연구가 필요하며, 또한 낙동강수계의 개체군은 게놈 (genome) 수준의 연구와 생태학적 연구를 통합적으로 수행하여 분류학적 위치를 재점검



**Fig. 2.** Haplotype network (A) and phylogenetic relationships (B) of 12 haplotypes (H01-12) identified from five different river populations, based on mitochondrial COI sequences (619 bp). (A) Each line in the network represents a single mutational step between the haplotypes, irrespective of its length. Different colors denote the geographic regions. The area of the circle is proportional to individual numbers found for the respective haplotypes. The small, filled circles denote intermediate haplotypes that were not present in our samples but were necessary to connect all of the observed haplotypes to the network. GY: Gangneung Yeongokcheon, YN: Yangyang Namdaecheon, SG: Seomgang, SS: Soksacheon, GA: Gilancheon. (B) The numbers at the branches represent the bootstrap support values for the maximum likelihood method (ML).

할 필요가 있을 것으로 생각된다. 예를 들면, 집단유전체학 (population genomics) 및 형태학적 연구를 통하여 낙동강 수계 참갈겨니 개체군과 다른 수계에 서식하는 개체군 간의 유전체 수준에서의 차이 및 형태학적 분화 정도를 구명함으로써 종분화(speciation) 가능성에 대한 가설을 검증할 수 있을 것이다.

## 2. 동해유입하천 강릉 연곡천 내 개체군 간 유전적 연결성

집단유전학 분석 기반 유전적 연결성을 파악하기 위해 강릉 연곡천(상류; GY\_U, 중류; GY\_M, 하류; GY\_D) 87 개체로부터 미토콘드리아 DNA COI 유전자 (619 bp)를 이용하여 총 5개의 단상형이 확인되었다. 유전자 다양성 (gene diversity) 분석 결과, 강릉 연곡천 내 상·중·하류 전체 개체군의 단상형 다양성과 뉴클레오티드 다양성은 각각 0.0904, 0.0003 값이 나타났으며, 각 개체군의 단상형 다양성 값은 0.0645 (상류)~0.1193 (중류), 뉴클레오티드 다양성 값은 0.0001 (상류)~0.0004 (중류) 범위로 나타났다 (Table 2). 유전자 다양성의 지표인 개체군 간 개체수 불균형을 보정한 단상형 풍부도와 특정 개체군에서만 나타

**Table 2.** Summary of the levels of genetic diversity in *Zacco koreanus* populations from up- (GY\_U), mid- (GY\_M), and downstream (GY\_D) of the Gangneung Yeongokcheon (GY) using mitochondrial DNA COI (619 bp)

Pop ID	N	$N_H$	HR	$h$	$\pi$	PH
GY_U	31	2	0.74	0.0645	0.0001	1
GY_M	33	3	1.39	0.1193	0.0004	2
GY_D	23	2	1.00	0.0870	0.0003	1
Total	87	5		0.0904	0.0003	

N: sample size,  $N_H$ : number of haplotypes, HR: haplotype richness,  $h$ : haplotype diversity,  $\pi$ : nucleotide diversity, PH: number of private haplotypes.

나는 단상형인 고유 단상형은 중류가 각각 1.39와 2.00개로 중류의 개체군이 상대적으로 가장 높은 다양성을 보였다. Central-marginal hypothesis (center-periphery hypothesis)에 따르면 지리적인 분포에서 중앙에 위치한 개체군이 이주(migration)를 통해 주변 개체군으로부터 개체가 유입될 가능성이 크기 때문에, 즉 유전자 확산이 활발함으로써 유전적 다양성이 높은 경향이 있다고 알려져 있다(Gaston 2010). 이러한 양방향으로의 유전자 확산(multi-directional gene flow)으로 인해 중류 개체군이 상류와 하류 개체군보

**Table 3.** Pairwise genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) between three populations of *Zacco koreanus* in the Gangneung Yeongokcheon (GY) based on mitochondrial DNA COI. No  $F_{ST}$  values were statistically significant. GY\_U: upstream of GY; GY\_M: mid-stream of GY; GY\_D: downstream of GY

	GY_U	GY_M	GY_D
GY_U	-		
GY_M	-0.001	-	
GY_D	0.006	-0.015	-

다 유전적 다양성이 높게 나타났을 가능성이 있다. 또한, 참갈겨니는 주로 하천의 중상류에 유속이 빠른 서식처를 선호하기 때문에 하류에 개체수가 적게 분포하여 다양성이 낮게 나타났을 가능성도 있다(Lee et al. 2017; Moon et al. 2019).

강릉 연곡천의 상·중·하류 개체군 간 유전적 차이를 나타내는 유전적 분화도 ( $F_{ST}$ )는  $-0.015$  (중류와 하류)~ $0.006$  (상류와 하류) 범위로 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 3). 유전적 분화도의 음의 값은 유전적으로 동일한 집단임을 의미하며 개체군 간 유전적 차이가 없음을 시사한다. 해양수산부에서 제공하는 국가어도정보시스템(www.fishway.go.kr)의 정보에 따르면, 강릉 연곡천 내에는 11개의 보가 설치되어 있지만 36개의 어도가 설치되어 있어 어도를 이용한 이주를 통해 유전자 확산(gene flow)이 원활하게 이루어지고 있음을 의미한다. 또한, 강릉 연곡천 내에는 다양한 형태의 어도가 설치되어 있어 유영능력이 좋은 회귀성 어류인 황어, 은어의 이동이 활발히 일어나고 있으며, 본 연구 결과는 이러한 가설을 지지하는 근거가 될 수 있을 것이다(Kim et al. 2020). 하지만 이러한 결과는 본 연구에 이용한 미토콘드리아 DNA 보다 진화속도가 빠르고 상대적으로 개체 간 변이가 풍부하여 개체군의 유전적 다양성, 유전적 거리 파악, 병목 현상 등 현세진화(contemporary evolution)의 생태학적 연구에 보다 유용한 핵 DNA (nuclear DNA)의 마이크로세틀라이트(microsatellite) 마커를 이용하여 향후 추가연구가 필요할 것으로 사료된다(Putman and Carbone 2014).

## 적 요

본 연구는 동해유입하천(강릉 연곡천, 양양 남대천), 한강수계(섬강, 속사천), 낙동강수계(길안천)에 서식하는 참

갈겨니(*Zacco koreanus*) 개체군을 대상으로 채집된 110개 체로부터 미토콘드리아 DNA COI 유전자(mitochondrial DNA cytochrome oxidase I)를 분자마커로 이용하여 계통지리학적 분석을 수행하고, 추가적으로 강릉 연곡천 상·중·하류 개체군을 대상으로 집단유전학적 분석을 수행하였다. 계통지리학 분석 결과, 동해유입하천과 한강수계의 참갈겨니 개체군은 동일한 단일계통을 나타내었고, 낙동강수계의 개체군은 상이한 계통으로 분기됨을 나타내었으며, 다른 수계 계통과의 유전적 거리 수치 범위가 평균 4.0% (3.7~4.2%)로서 동일종 이상 수준을 보여 잠재종 가능성을 시사하였다. 참갈겨니가 서식하는 수계에 따른 형태학적 차이는 연구된 바 있으나 DNA 염기서열의 변이를 이용한 분자유전학적 연구는 부족한 실정이므로 본 연구 결과는 향후 낙동강수계 참갈겨니 개체군의 계통분류학적 연구에 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 추후 집단유전학 및 생태학적 분석을 통하여 관찰된 낙동강수계 계통이 다른 종, 잠재종 혹은 단순히 큰 수준의 종내 변이를 나타내는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다. 강릉 연곡천 상·중·하류에 서식하는 개체군의 집단유전학 분석을 통해 중류의 개체군이 상대적으로 높은 다양성을 나타냈으며 상·중·하류 개체군 간의 유전적 차이는 나타나지 않았다. 이는 상·중·하류 개체군 간 유전자 확산이 원활하게 이루어지고 있음을 의미하며 하천의 개체군 간 연결성을 판단할 수 있는 지표로 활용될 수 있다. 하지만 생태학적 시간 스케일의 연구에 더 적합한 분자마커를 이용한 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 사 사

본 결과물은 환경부의 재원으로 한국환경산업기술원 수생태계 건강성 확보 기술개발사업의 지원을 받아 연구되었습니다(2020003050004).

## REFERENCES

Awise JC. 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Sinauer Associates. Sunderland, MA.  
 Brown WM, M George and AC Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:1967-1971.

- Byeon HK and JK Oh. 2015. Fluctuation of fish community and inhabiting status of introduced fish in Gangeungnamdae stream, Korea. *Korean J. Environ. Ecol.* 29:718–728.
- Chae BS and HN Yoon. 2006. Geographic variation and distribution of nuptial color patterns in Korean chub, *Zacco koreanus* (Cyprinidae, Pisces). *Korean J. Ichthyol.* 18:97–106.
- Choi HK and HJ Lee. 2018. Development of a species identification method for the egg and fry of the three Korean bitterling fishes (Pisces: Acheilognathinae) using RFLP (restriction fragment length polymorphism) markers. *Korean J. Environ. Biol.* 36:352–358.
- Choi JS, SC Park, YS Jang, KY Lee and JK Choi. 2006. Population dynamics of Korean chub (*Zacco koreanus*, Cyprinidae) in the upstream and downstream of Lake Hoengseong. *Korean J. Environ. Ecol.* 20:391–399.
- Excoffier L and HE Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10:564–567.
- Fu C, ZD Cao and SJ Fu. 2013. The effects of caudal fin loss and regeneration on the swimming performance of three cyprinid fish species with different swimming capacities. *J. Exp. Biol.* 216:3164–3174.
- Galtier N, B Nabholz, S Glémin and GDD Hurst. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol. Ecol.* 18:4541–4550.
- Gaston KJ. 2010. Biodiversity. pp. 27–44. *Conservation Biology for All* (Sodhi NS and PR Ehrlich, eds.). Oxford University Press. Oxford, UK.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Res.* 41:95–98.
- Hebert PD, A Cywinska, SL Ball and JR Dewaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.-Biol. Sci.* 270:313–321.
- Kim DO, JC Park, JS Hwang, DS Kim, WO Lee and G Hwang. 2020. Fish fauna using fishway on six river in Korea. *Korean J. Ecol. Environ.* 53:255–264.
- Kim IS, MK Oh and K Hosoya. 2005. A new species of cyprinid fish, *Zacco koreanus* with redescription of *Z. temminckii* (Cyprinidae) from Korea. *Korean J. Ichthyol.* 17:1–7.
- Kim P, JH Han and SL An. 2020. Genetic identification of species and natural hybridization determination based on mitochondrial DNA and nuclear DNA of genus *Zacco* in Korea. *Mitochondrial DNA A* 31:221–227.
- Kim YJ, IC Kim, SY Lee, WO Lee, YC Cho and JS Lee. 2003. The use and conservation in molecular phylogeny of fish mitochondrial DNAs in Korean waters. *Korean J. Env. Eco.* 36:221–234.
- 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.
- Kumar S, G Stecher and K Tamura. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33:1870–1874.
- Lee SH, HG Jeong, HS Shin, Y Shin, SW Lee and JK Lee. 2017. Comparison on ecological index characteristics between *Zacco platypus* and *Zacco koreanus* by stream order in Korea. *Korean J. Ecol. Environ.* 50:403–410.
- Moon WK, DY Bae, DH Kim, HB Shin, JB Suh, KH Lim, EH Lee, JS Yoo, KG An and JK Kim. 2019. Assessment of fish fineness ratios passing through a fishway. *Korean J. Environ. Biol.* 37:726–734.
- NIBR. 2011. Red Data Book of Endangered Fishes in Korea. National Institute of Biological Resources. Ministry of Environment, Korea.
- NIBR. 2013. Endemic Species of Korea. National Institute of Biological Resources. Ministry of Environment, Korea.
- Oh MK and JY Park. 2009. A molecular systematics of Korean *Zacco* species inferred from mitochondrial cytochrome *b* gene sequence. *Korean J. Ichthyol.* 21:291–298.
- Petit RJ, A El Mousadik and O Pons. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conserv. Biol.* 12:844–855.
- Putman AI and I Carbone. 2014. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecol. Evol.* 4:4399–4428.
- Seo JW. 2005. Fish Fauna and ecological characteristics of dark chub (*Zacco temminckii*) population in the mid-upper region. *Korean J. Limnol.* 38:196–206.
- Son YM and HB Song. 1998. Freshwater fish fauna and distribution in Kojedo. *Korean J. Ichthyol.* 10:87–97.
- Teacher AGF and DJ Griffiths. 2011. HapStar: automated haplotype network layout and visualization. *Mol. Ecol. Resour.* 11:151–153.
- Thompson JD. 1994. Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22:4673–4680.
- Ward RD, TS Zemlak, BH Innes, PR Last and PD Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. B.-Biol. Sci.* 360:1847–1857.
- Yoon JD, JH Kim, SH Park and MH Jang. 2018. The distribution and diversity of freshwater fishes in Korean Peninsula. *Korean J. Ecol. Environ.* 51:71–85.