

한국 고유종 섬진자가사리 *Liobagrus somjinensis*의 핵형 분석

조윤정 · 박종영*

전북대학교 자연과학대학 생물학과, 전북대학교 생물다양성연구소

Karyotype Analysis of *Liobagrus somjinensis*, an Endemic Species in Korea by Yun Jeong Cho and Jong Young Park* (Faculty of Biological Science and Institute for Biodiversity Research, College of Natural Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea)

ABSTRACT The karyotype analysis of *Liobagrus somjinensis*, an endemic Korean freshwater fish with restricted waters and a new species of torrent catfish was carried out from nine females and eight males of Somjingang River, Sikjeong-dong, Namwon-si, Jeollabuk-do, Korea. The diploid number of chromosomes was 42, and its karyotype was composed of 28 metacentrics and 14 submetacentrics; 84 FN (fundamental number). Polyploidy and sex dimorphism were not observed in the present species. The chromosome number of *L. somjinensis* was the same as its congeners, but there was a difference in karyotypes.

Key words: *Liobagrus somjinensis*, chromosome, karyotype, Korea

서 론

메기목(Siluriformes) 통가리과(Amblycipitidae) 어류는 동남 아시아, 남아시아와 극동아시아인 중국, 한국 일본에 분포하며 (Nelson, 2016), 주로 하천의 중·상류 수역의 여울부에 서식하는 담수어이다. 이들은 전 세계적으로 *Amblyceps*, *Liobagrus*, *Xiurenbagrus* 3속이 알려져 있다(Kim and Park, 2002; Wright and Ng, 2008). 그중 우리나라에는 통가리속 Genus *Liobagrus* 1속이 알려져 있으며, 지리적 분화양성을 나타내는 통가리 *L. andersoni*, 통사리 *L. obesus*, 자가사리 *L. mediadiposalis*, 섬진자가사리 *L. somjinensis*, 동방자가사리 *L. hyeongsanensis* 5종이 보고되어 있다(Kim et al., 2015). 자가사리는 낙동강, 금강, 섬진강 및 남해의 일부 섬에 분포하는 것으로 보고하였으나 (Son and Choo, 1988), 이들이 수계별로 형태적, 유전적 차이를 나타내어 낙동강 집단, 섬진강 집단, 금강 집단으로 구분하여 보고하고 있다(Son, 1987; Kim et al., 2006). 이와 같이 자가사리는 분류학적으로 혼동되어 최근 분류학적, 유전학적 연구를 바탕으로 섬진강, 영산강, 탐진강 및 거금도 하천에 서식

하는 집단은 섬진자가사리 *L. somjinensis*로, 형산강과 기계천 및 태화강의 상류부에 제한 분포하는 집단은 동방자가사리 *L. hyeongsanensis*로 신종 보고한 바 있다(Park and Kim, 2010; Kim et al., 2015).

통가리속에 관한 연구로는 통가리의 식성(Yoon et al., 2007), 통사리의 초기 생활사(Seo et al., 2006), 자가사리의 분자진화적 유연관계(Kim et al., 2006), 섬진자가사리의 먹이선호도(Kim and Park, 2014), 산란장의 특성(Kim et al., 2015) 등이 있다.

통가리속의 염색체 연구로는 중국의 *L. marginatus*와 *L. styani*의 XX/XY 이형적 성 염색체 연구(Chen et al., 2008), *L. marginatoides*의 Qingyijiang River과 Mingjiang River의 두 수계에서 세포유전학적 분석(Wang et al., 2011) 등이 있다. 국내 통가리속은 Son and Lee(1989)에 의해 핵형 분석이 이루어졌고, Kim(2013) 또한 통가리속 어류의 분류학적 재검토에서 다루었다. 통가리는 $2n=28$, 통사리는 $2n=20$ 으로 염색체에 관한 연구가 뚜렷하게 알려진 반면에, 자가사리는 지금까지 같이 분류체계가 확립되기 전 자가사리 집단 번이로서 낙동강 집단, 금강 집단, 섬진강 집단으로 나뉘어 보고되었다(Son and Lee, 1989). 그러나 자가사리의 모든 집단의 핵형을 26M-16SM으로 보고한 Son and Lee(1989)에 반해, Kim(2013)은 섬진자

*Corresponding author: Jong Young Park Tel: 82-63-270-3344, Fax: 82-63-270-3362, E-mail: park7877@jbnu.ac.kr

가사리의 핵형을 28M-14SM으로 발표하여 차이를 나타내었다.

경골어류의 염색체는 분류, 진화 그리고 유전학적 연구에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Gold *et al.*, 1990). 유전물질인 DNA를 함유하는 염색체의 구성은 종 간 계통학적 분화를 설명하기 위한 유용한 정보를 제공할 뿐만 아니라, 이들의 유연관계를 뚜렷하게 알 수 있는 중요한 분류학적 형질이며(Amemiya and Gold, 1988), 또한 염색체 재배열은 진화적 종분화 과정에 중요한 세포학적 증거가 되기도 한다(Chiarelli and Capanna, 1973). 특히, 종 간 염색체의 핵형 분석은 근연종과의 유연관계를 규명하는 데 중요한 분류학적 형질을 제공한다(Kim and Park, 2002).

따라서 본 연구는 형태적 및 유전적으로 논란이 되며 분류학적으로 혼동되었던 자가사리 집단 중 최근 신종으로 보고된 섬진자가사리의 염색체 수와 핵형 분석을 통하여 진화 및 분류학적 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 섬진자가사리는 2016년 3월에서 5월에 전라북도 남원시 식정동 요천에서 족대(망목 4×4 mm)를 이용하여 채집되었으며, 암컷 9개체(80 mm~98 mm), 수컷 8개체(58 mm~93 mm)를 살아있는 상태로 실험실로 운반하였다. 염색체 실험은 살아있는 개체의 복강에 concanavalin A solution을 체중 1 g당 0.1 g 투여하고 24시간 방치 후 1% colchicine solution을 체중 1 g당 0.04 ml를 주사하였다. 3시간이 지난 뒤 신장을 적출하여 파쇄하고 Hypotonic solution (0.075 M KCl) 용액에 담가 25°C 인큐베이터에 30분간 처리된 시료를 carnoy 용액으로 3~4회 원심분리를 하여 고정을 하였다. 그 후 상층액을 버리고 얻어진 용액을 flame drying method (Ojima *et al.*, 1972)에 따라 슬라이드를 제작하였다. 제작된 염색체 표본은 4% Giemsa solution으로 8분간 염색한 후, Axio imager A1 (Carl Zeiss, Germany)을 이용하여 염색체 중기 상을 관찰하고 촬영하였다. 핵형 분석은 Levan *et al.* (1964)의 방법을 따랐으며, FN (Fundamental number)은 염색체가 중부(metacentric)와 차중부(submetacentric)인 것은 양완(biarm)으로, 단부(telocentric)와 차단부(subtelocentric)인 것은 단완(monoarm)으로 분류하였다(Arai and Kobayasi, 1973).

결과 및 고찰

총 132개의 중기상 염색체를 관찰한 결과, 섬진자가사리는 암수 모두에서 2n=42가 가장 많이 확인되었으며(Table 1), 핵형은 14쌍 metacentric와 7쌍 submetacentric 염색체로 구성되어 있었다. 또한 FN 값은 84로, 염색체에서 암수 간의 성적 유형의 차이와 배수체는 보이지 않았다(Fig. 1).

Ohno (1974)는 경골어류의 조상형은 2n=48이며 모두 acrocentric chromosome으로 이루어져 있다고 추정하였으며, acrocentric chromosome이 많이 존재할수록 조상형에 가까운 것으로 간주하였다. 메기목 어류의 염색체 수는 2n의 값이 20~132로 범위가 넓고, 가장 많이 나타나는 값은 56±2로 보고되었다(LeGrande, 1981; Son and Lee, 1989). 이때 제일 작은 값의 2n은 통가리속의 통사리로 2n=20이며(Son and Lee, 1989), 제일 큰 값은 남미의 Callichthyidae과의 *Corydoras aneus*로 2n=132이다(Scheel *et al.*, 1972). LeGrande (1981)은 메기목의 조상형은 2n=58이며 높은 FN (>80)을 가졌을 것이라고

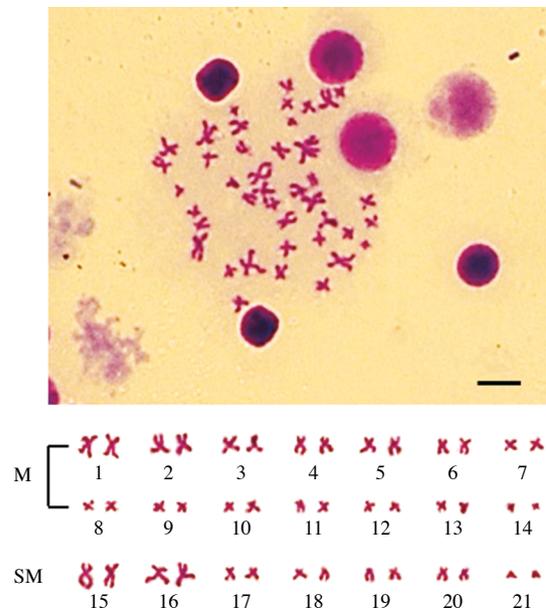


Fig. 1. Metaphase plate (top) and karyotype (bottom) of *Liobagrus somjinensis*. M, metacentric; SM, submetacentric. The bar indicates 5 μm.

Table 1. Chromosome number of *Liobagrus somjinensis* from Yochen, Namwon-si, Jeollabuk-do, Korea

No. of samples	Sex	No. of metaphase counted	Frequency of chromosome number				
			40	41	42	43	44
9	Female	52	9	10	25	1	7
8	Male	80	7	11	54	6	2
Total		132	16	21	79	7	9

보고하였다. 한국산 통가리속 어류의 염색체는 통가리 (2n=28)와 통사리 (2n=20)로 나타나 뚜렷한 차이를 보인 반면 자가사리 집단에서는 낙동강 집단, 금강 집단 그리고 섬진강 집단 모두 2n=42를 가지며 핵형은 26M+16SM (Son and Lee, 1989)으로 보고되었다. 그러나 본 조사에서 실시한 섬진강자가사리는 Son and Lee (1989)가 보고한 섬진강 집단의 핵형 분석과는 달리 28M+14SM으로 나타나 차이를 보였다.

근연종 간의 어류의 핵형은 매우 유사하며 이들 종 간의 유전 형질의 차이는 염색체 구조 변화 또는 유전자 자체의 변화에 의해 일어나는 것으로 보고되었다 (Ueno *et al.*, 1980). 일반적으로 염색체 핵형의 동일함이 종들 사이의 근연 관계를 나타내지만, 핵형이 동일할 경우에도 같은 종이라고 할 수는 없다. 그러나 속 내 종 간 또는 종 내 집단 간 사이에 핵형의 변이를 가졌을 경우, 핵형은 분류학적 지표와 종들 간의 계통 관계를 세우는 데 자료를 제시해 줄 수 있다 (Miller and Walter, 1972). 한국산 미꾸리과 어류에서도 이러한 특징이 잘 나타나는데, 참종개 *Iksookimia koreensis*, 왕종개 *I. longicorpa*, 미호종개 *I. choii* 등은 염색체 수가 모두 2n=50으로 같았으나 핵형은 서로 다르게 나타났다 (Kim and Lee, 1986; Lee *et al.*, 1986; Kim and Park, 2002). 어류에서 이러한 염색체 진화는 Robertsonian rearrangement에 속하는 centric fusion과 fission이 있으며 non-Robertsonian rearrangement로는 염색체 역위 (inversions), 결손 (deletions), 중복염색체 (duplications), 전좌 (translocations) 등이 관여하는 것으로 알려져 있다 (Phillips and Ráb, 2001). 이 중 Chen (2008)은 *Liobagrus*속에서 나타나는 염색체 차이는 Robertsonian fusion과 관련된 것으로 보고한 바 있다. 본 연구 결과 자가사리와 섬진자가사리의 염색체 수는 동일하지만 핵형에서 차이를 보이는 것은 함동원체 역위 (pericentric inversion)와 관련된 것으로 추정되지만 추후 어류의 염색체 재배열 및 염색체 연구가 선행되어야 할 것으로 생각된다 (Kim, 2013).

담수어는 해수어와 달리 지리적 장벽으로 인해 염색체의 수와 FN의 값이 더 높고 핵형의 변이와 세포유전학적 다양성이 관찰된다 (Nirchio *et al.*, 2014). 우리나라의 현재 담수 어류 또한 몇 차례의 빙하기로 인해 해수면이 크게 낮아져 형성되었던 고황하수계 (Pale-Hwang Ho) 및 고아무르수계 (Paleo-Amur River)로 인해 어류가 각 하천으로 유입되었고 해진기 (海進基)의 해수면 상승으로 각 하천별로 격리되어 종 분화를 거치게 되었다고 보고된 바 있다 (Lindberg, 1972; Son, 1995). 이러한 담수생물을 중심으로 보면 한국산 통가리속 어류 중 자가사리는 낙동강 수계와 동해로 유입되는 하천에 서식하고, 섬진자가사리는 섬진강, 영산강, 동진강, 탐진강 및 남해로 유입되는 하천과 거금도에 분포하며, 동방자가사리는 형산강과 기계천 및 태화강의 상류부, 자가사리의 금강 집단은 금강과 만경강 중상류부에 제한 분포한다고 보고되어졌다 (Son, 1987;

Kim, 2013). 이러한 지리적 종 분화로 인해 자가사리와 섬진자가사리로 분화되었을 것으로 추론된다.

본 연구의 섬진자가사리와 기존에 보고된 통가리속 자가사리는 염색체 수 (2n=42)와 FN 값에서 동일하였으나 핵형 분석에서 차이를 보였다. 염색체의 FN 값은 종 간의 유연관계를 이해하는데 많이 사용되는 형질로서, Arai (1983)는 FN의 수가 높을수록 분화된 종이라고 하였고, 이는 FN 수가 계통관계에 있어 극성을 결정하는데 중요한 역할을 하기 때문이라고 언급한 바 있다. 그러나 자가사리, 섬진자가사리와 동방자가사리는 FN 값이 같아 이들의 견해에 따라 추론을 할 수 없었다. 따라서 본 결과에서 핵형의 종 간 차이는 섬진자가사리와 그의 집단의 계통적 거리를 시사하는 분류학적 형질로서 이용될 수 있을 것이다. 이를 뒷받침하는 분자진화적인 선행연구로써 Kim *et al.* (2006)은 조상형 자가사리에서 금호강, 덕천강, 경호강의 낙동강 집단, 그 다음으로 동진강, 섬진강, 영산강, 거금도의 섬진강 집단과 금강 집단의 순서로 분화되었으며, 이들의 유전적 차이는 4.4~5.7%가 나타난다고 보고한 바 있다. 그러나 이들 간의 보다 명확한 진화적 유연관계를 추론하기 위해서는 banding법에 의한 핵형 분석과 mtDNA 및 DNA fingerprinting 기법 등의 추가적인 연구가 요구된다.

요 약

전라북도 남원시 식정동에서 채집한 한국 고유종인 섬진자가사리를 암, 수 각각 9마리와 8마리의 핵형 분석을 실시하였다. 섬진자가사리의 염색체 수는 2n=42로 조사되었고, 핵형은 28 metacentric과 14 submetacentric으로 이루어져 있었으며 FN은 80이었다. 이번 결과에서 배수체와 암수 간의 성적이형은 발견되지 않았다. 섬진자가사리는 근연종들과 염색체 수는 같았으나, 핵형에서는 차이를 보였다.

REFERENCES

Amemiya, C.T. and J.R. Gold. 1988. Chromosomal NORs as taxonomic and systematic characters in North American cyprinid fishes. *Genetica*, 76: 81-90.

Arai, R. 1983. Karyological and osteological approach to phylogenetics of fishes. *Bull. Nat. Sci. Mus., Tokyo. Ser. A.*, 9: 175-210.

Arai, R. and H. Kobayasi. 1973. A chromosome study on thirteen species of Japanese gobiid fishes. *Jpn. J. Ichthyol.*, 20: 1-6.

Chen, J., Y. Fu, D. Xiang, G. Zhao, H. Long, J. Liu and Q. Yu. 2008. XX/XY heteromorphic sex chromosome systems in two bullhead catfish species, *Liobagrus marginatus* and *L. styani*

- (Amblycipitidae, Siluriformes). *Cytogenet Genome Res.*, 122: 169-174.
- Chiarelli, A.B. and E. Capanna. 1973. *Cytotaxonomy and vertebrate evolution*, Academic press Inc., New York, pp. 205-232.
- Choi, N.H., W.I. Seo, C.C. Kim, C.K. Park, S.J. Heo, S.M. Yoon, K.H. Han and W.K. Lee. 2008. Spawning behavior and early life history of the *Liobagrus mediadiposalis* in the Korean endemic species. *J. Kor. Fish. Soc.*, 41: 478-484. (in Korean)
- Gold, J.R., Y.C. Li, N.S. Shipley and P.K. Powers. 1990. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *J. Fish. Biol.*, 37: 563-575.
- Kim, I.S. and J.H. Lee. 1986. A chromosomal study on the genus *Cobitis* (Pisces: Cobitidae). *Korean J. Ichthyol.*, 19: 127-129. (in Korean)
- Kim, I.S. and J.Y. Park. 2002. *Freshwater Fishes of Korea*. Kyohak Publishing Co. Ltd., Korea. 451pp. (in Korean)
- Kim, M.J., S.H. Han, H.Y. Yang, M.R. Jo, S.C. Chung and C.B. Song. 2006. Evolutionary relationship of *Liobagrus mediadiposalis* (Teleostei: Amblycipitidae) populations in Korea inferred from cytochrome b DNA sequences. *Korean J. Ichthyol.*, 18: 329-338. (in Korean)
- Kim, S.H. 2013. Taxonomic revision of the Genus *Liobagrus* (Siluriformes: Amblycipitidae) from Korea. Ph. D. Thesis Chun-Buck Natl. Univ., pp. 65-78. (in Korean)
- Kim, S.H. and J.Y. Park. 2014. Prey preference of *Liobagrus somjinensis* in Yo stream, Somjin River, Namwon-si, Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 26: 118-124. (in Korean)
- Kim, S.H., H.S. Kim and J.Y. Park. 2015. A new species of torrent catfish, *Liobagrus hyeongsanensis* (Teleostei: Siluriformes: Amblycipitidae), from Korea. *Zootaxa*, 4007: 267-275.
- Kim, H.S., S.H. Kim and S.Y. Park. 2015. Characteristics of spawning sites in the natural environment of the Korean endemic species, *Liobagrus somjinensis* (Siluriformes: Amblycipitidae) in the Yochen (stream), Seomjingang (river), Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 27: 300-305.
- Lee, H.Y., H.S. Lee and C.S. Park. 1986. Karyotype analysis and geographical polymorphism in Korea *Cobitis*. *Kor. J. Genet.*, 8: 65-74.
- LeGrande, W.H. 1981. Chromosomal evolution in north american catfishes (Siluriformes: Ictaluridae) with particular emphasis on the Madtoms, *Noturus*. *Copeia*, pp. 33-52.
- Levan, A., K. Fredga and A.A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Lindberg, G. 1972. 現世淡水漁類の起源. 東海大學出版社, 366pp. (in Japanese)
- Miller, R.R. and V. Walter. 1972. A new genus of cyprinodontid fish from Nuevo Leon, Mexico. *Contr. Sci. Nat. Hist. Mus. Los Angeles*, 223: 1-13.
- Nelson, J.S., T.C. Grande and M.V.H. Wilson. 2016. *Fishes of the world* (5th ed). John Wiley & Sons, New York. 224pp.
- Nirchio, M., A.R. Rossi, F. Foresti and C. Oliveira. 2014. Chromosome evolution in fish: a new challenging proposal from Neotropical species. *Neotropical Ichthyol.*, 12: 761-770.
- Ohno, S. 1974. *Animal Cytogenetics*, Volum 4: Chordata 1. Protochordata, Cyclostomata and Pisces. Gebruder Borntraeger, Berlin.
- Ojima, Y., M. Hayashi and K. Ueno. 1972. Cytogenetic studies in lower vertebrates X. karyotype and DNA studies in 15 species of Japanese cyprinidae. *Japan. J. Genetics*, 47: 431-440.
- Park, J.Y. and S.H. Kim. 2010. *Liobagrus somjinensis*, a new species of torrent catfish (Siluriformes: Amblycipitidae) from Korea. *Ichthyol. Explor. Fres.*, 21: 345-352.
- Phillips, R. and P. Ráb. 2001. Chromosome evolution in the Salmonidae (Pisces): an update. *Biol. Rev.*, 76: 1-25.
- Scheel, J.J., V. Simonsen and A.O. Gyldenholm. 1972. The Karyotype and some electrophoretic patterns of fourteen species of the genus *Corydoras*. *Z.f. Zool. Syst. U. Evol.*, 10: 144-152.
- Seo, W.I., K.H. Han, S.M. Yoon, C.C. Kim, S.Y. Hwang, S.H. Lee, C.L. Lee, Y.M. Son and I.S. Kim. 2006. Early life history of the *Liobagrus obesus* (Pisces, Amblycipitidae). *Dev. Reprod.*, 1: 41-45. (in Korean)
- Son, Y.M. 1987. Systematic studies on the torrent catfish, family Amblycipitidae (Pisces: Siluriformes) from Korea. Ph.D. Thesis, Choong-Ang Univ., 81pp. (in Korean)
- Son, Y.M. 1995. On the piscigeography of the freshwater of islands in Korea. *Proceeding of '95 ichthyofauna and characteristics of freshwater ecosystem in Korea*, pp. 51-62. (in Korean)
- Son, Y.M. and I.Y. Choo. 1988. Ecological studies of catfish, genus *Liobagrus* from Korea. *Korean J. Limnol.*, 21: 243-251. (in Korean)
- Son, Y.M. and J.H. Lee. 1989. Karyotypes of genus *Liobagrus* (Pisces: Amblycipitidae) in Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 1: 64-72. (in Korean)
- Ueno, K., S. Iwai and Y. Ojima. 1980. Karyotype and geographical distribution in the genus *Cobitis* (Cobitidae). *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 46: 9-18. (in Japanese)
- Ueno, K. and Y. Ojima. 1984. A chromosome study of nine species of Korean Cyprinid fish. *Jpn. J. Ichthyol.*, 31: 338-344.
- Yoon, H.N., J.M. Kim, Y.S. Bae and B.S. Chae. 2007. Feeding habits of Korean torrent catfish, *Liobagrus andersoni* in a tributary of the Namhan River, Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 19: 236-245. (in Korean)
- Wang, B.P., J. Chen, J.D. Liu, N. Liu and Q.X. Yu. 2011. Discriminating two races of *Liobagrus marginatoides* by cytogenetic analysis. *J. Fish Biol.*, 78: 2080-2084.
- Wright, J.J. and H.H. Ng. 2008. A new species of *Liobagrus* (Siluriformes: Amblycipitidae) from Southern China. *Proc. Acad. Nat. Sci. Phil.*, 157: 37-43.