

멸종위기어류 모래주사 *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Cyprinidae)의 핵형분석

박종성 · 김형수 · 박종영^{1,*}

국립수산과학원 중앙내수면연구소 내수면양식연구센터, ¹전북대학교 자연과학대학 생명과학과 · 전북대학교 부설 생물다양성연구소

Karyotype of an Endangered Freshwater Fish, *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Cyprinidae) from Korea by Jong Sung Park, Hyeong Su Kim and Jong Young Park^{1,*} (Inland Aquaculture Research Center, National Institute of Fisheries Science, Changwon 51688, Republic of Korea; ¹Department 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 an endangered freshwater fish, *Microphysogobio koreensis*, was performed to obtain basic data for phylogenetic information. To carry out our study, 4 specimens were collected in Seomjingang River and Nakdongang River and its kidney was treated by flame-drying method. The chromosome number of this species demonstrated 50 diploid chromosomes, with two populations of *M. koreensis* not significantly different. The karyotype revealed $2n=26m+24sm$, consisting of 26 metacentric (m) and 24 submetacentric (sm) chromosomes with the total fundamental arm number determined as $FN=100$. Total arm length and arm ratio of the chromosomes were $1.44\sim 2.68\ \mu m$ and $1.27\sim 2.27$, respectively. The karyotype of *M. koreensis* was first reported in this study.

Key words: *Microphysogobio koreensis*, chromosome, karyotype, endangered freshwater fish

서 론

어류 염색체는 계통 및 세포유전학적 측면에서 종들의 관계를 규명하고 진화의 방향성을 파악하는 데 유용하며 염색체 수는 종의 고유한 특성으로 알려져 있다(Ojima *et al.*, 1972; Collares-Pereira *et al.*, 1998; Gozukara and Cavas, 2004). 잉어과 어류의 염색체에 대한 연구는 전 세계적으로 약 628종이 진행되었고(Arai, 2011) 국내에서는 43종에 대한 핵형이 보고된 바 있다(Song and Park, 2005).

모래주사 *Microphysogobio koreensis*는 잉어과 Cyprinidae에 속하는 한국 고유종으로 섬진강과 낙동강의 일부 하천에 제한적으로 분포하고 있으며 유속이 빠른 자갈과 모래의 바닥에 주로 서식하는 것으로 알려져 있다(Kim and Park, 2002). 본 종은 1998년 보호종으로 지정되었고 2005년과 2012년에는 환경부 멸종위기 야생 생물 II급으로 지정되었다. 최근에는 강, 하천 공

사로 인한 서식지 훼손 증가로 인해 2017년 12월 29일 개정된 야생생물 보호 및 관리에 관한 법률 시행규칙에 의해 환경부 멸종위기 야생 생물 I급으로 상향 조정되어 보호 받고 있다(ME, 1998, 2005, 2012, 2017). 한국의 멸종위기 야생동식물 적색자료집에서는 서식처 파괴로 인한 개체수 감소로 위기종(EN)으로 평가되어 보호대책이 절실히 필요한 종이다(NIBR, 2011).

모래주사에 대한 연구는 분류학적 재검토 이후 멸종위기종 복원 사업에 의해 난 발생 및 초기생활사(Kim *et al.*, 2012), 산란 미소서식환경 및 특성(Yoon *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2017)이 보고 되었으나 핵형에 대한 연구는 수행된 바 없다.

따라서 본 연구는 모래주사의 생물학적 특성 중 핵형에 대해 보고하고 근연종과 비교하여 계통유전학적 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

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

모래주사의 핵형분석을 위하여 2011년 4월부터 2012년 12

Table 1. Chromosome number of *Microphysogobio koreensis* from Korea

Species	No. of specimens	No. of metaphase counted	No. of chromosome number										
			42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
<i>Microphysogobio koreensis</i>	4	78	1	0	1	0	2	2	11	9	49	1	2

Table 2. Chromosome measurements and classification of Genus *Microphysogobio* in Korea

Species	2n	Karyotypic formula*	FN**	References
<i>Microphysogobio koreensis</i>	50	26m + 24sm	100	This study
<i>M. longidorsalis</i>	50	18m + 32sm	100	Lee <i>et al.</i> , 1983
		18m + 32smst	–	Ueno and Ojima, 1984
		18m + 16sm + 18a	94	Im <i>et al.</i> , 2004
<i>M. yaluensis</i>	50	18m + 32smst	–	Ueno and Ojima, 1984

*m: metacentric, smst: submeta-subtelocentric, sm: submetacentric, a: acrocentric, **FN: fundamental number

월까지 새만금지방환경청(제2011-05호)의 포획허가를 취득한 후 투망(망목, 7×7 mm)과 족대(3×3 mm)를 이용하여 2011년 8월 27일 전북 임실군 신평면 덕암리(섬진강 수계)와 2011년 6월 17일 경북 문경시 영순면 포내리(낙동강 수계)에서 각각 2개체씩 채집하여 실험에 사용하였다. 채집된 모래주사는 MS-222를 이용하여 마취시킨 후 염색체의 증기상을 확인하기 위해 1% concanavalin A solution을 체중의 g당 0.1 mL 씩 복강에 주사하여 24시간 처리하였고 이후 1% colchicine solution을 체중의 g당 0.05 mL 씩 복강 주사하였다. 주사 2~3시간 후 복강을 절개하여 어체의 신장을 적출하였으며 flame-drying (Ojima *et al.*, 1972) 방법에 따라 슬라이드를 제작한 후 4% giemsa (Kanto, Japan) 염색 용액에서 5~10분간 염색하였다. 증기 염색체 상은 광학현미경(Carl zeiss, Ax10, Germany)에서 관찰하고 촬영하였다. 촬영된 증기 염색체 사진은 Axio Vision version 4.8을 이용하여 계수하였으며 장완(long arm)과 단완(short arm)을 측정하였다. 핵형분석은 metacentric (m), submetacentric (sm), subtelocentric (st) 그리고 acrocentric (t) 염색체로 분류하였고 FN (fundamental number)는 m과 sm를 양완(bi-arm), st와 t를 단완(uni-arm)으로 분류하여 값을 계산하였다(Levan *et al.*, 1964).

결과 및 고찰

모래주사의 핵형분석을 위해 섬진강과 낙동강 수계의 집단을 각각 2개체씩 관찰한 결과 두 집단 간 차이는 나타나지 않았다. 모래주사의 핵형을 분석한 결과 4개체에서 총 78개의 증기상이 확인되었다. 배수체 염색체는 42~52개의 범위에서 확인되었으며 가장 높은 빈도(62.8%)로 관찰된 염색체 수는 2n=50개로 나타났다(Table 1). 중심체의 위치를 기준으로 분

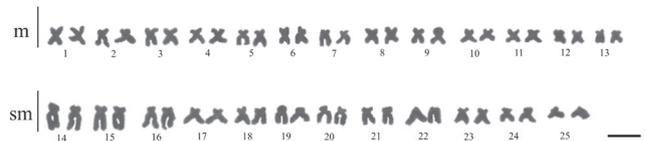
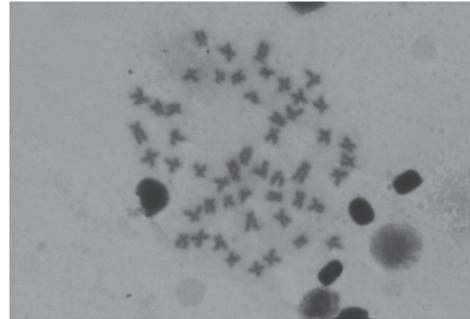


Fig. 1. Metaphase (top) and karyotype (bottom) of the *Microphysogobio koreensis*. m: metacentric; sm: submetacentric. Scale bar = 5 μ m.

석한 핵형(n=4)은 26m+24sm으로 metacentric 염색체가 13쌍, submetacentric 염색체가 12쌍으로 구성되었으며, FN=100이었다(Fig. 1, Table 2). 염색체의 길이와 양완비(arm ratio)는 각각 1.44~2.68 μ m, 1.17~2.27로 측정되었다(Table 3).

잉어과 어류의 염색체 수는 일반적으로 2n=34~446개로 알려져 있으며(Dai, 2013) 모래주사의 염색체 수는 2n=50개로 현재까지 알려진 모래주사속 어류 27종(Jiang *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2017) 중 염색체가 알려진 돌마자 *M. yaluensis*, 배가사리 *M. longidorsalis*와 동일하였다. 모래주사속과 계통유전학적으로 유연관계가 있는 버들매치속, 모샘치속 *Gobio*, 꾸구리속 *Gobiobotia*, *Huigobio*, *Platysmacheilus*, 모래무지속 *Pseudogobio*, *Romanogobio*, 두우쟁이속 *Saurogobio*과(Tang *et al.*, 2011) 비교한 결과 염색체 수는 2n=50개로 같았으나 FN 값에 있어서 모래주사속 94, 100, 버들매치속 94~98, 모샘치속

Table 3. Chromosome measurements and classification of *Microphysogobio koreensis* chromosomes

Chromosome pair No.	Long arm (μm)	Short arm (μm)	Arm ratio	Total arm length (μm)	Chromosome type
1	1.25 ± 0.14	1.01 ± 0.26	1.27 ± 0.18	2.26 ± 0.40	Metacentric
2	1.23 ± 0.22	0.92 ± 0.17	1.34 ± 0.06	2.15 ± 0.39	Metacentric
3	1.10 ± 0.20	0.94 ± 0.15	1.17 ± 0.14	2.04 ± 0.34	Metacentric
4	1.11 ± 0.20	0.86 ± 0.14	1.30 ± 0.03	1.97 ± 0.34	Metacentric
5	1.13 ± 0.21	0.79 ± 0.12	1.43 ± 0.05	1.92 ± 0.33	Metacentric
6	1.08 ± 0.22	0.80 ± 0.11	1.36 ± 0.10	1.88 ± 0.32	Metacentric
7	1.09 ± 0.23	0.75 ± 0.11	1.46 ± 0.12	1.84 ± 0.33	Metacentric
8	1.04 ± 0.25	0.76 ± 0.11	1.37 ± 0.15	1.80 ± 0.36	Metacentric
9	1.00 ± 0.14	0.75 ± 0.23	1.39 ± 0.24	1.75 ± 0.37	Metacentric
10	1.01 ± 0.25	0.71 ± 0.12	1.42 ± 0.21	1.73 ± 0.35	Metacentric
11	0.94 ± 0.26	0.73 ± 0.12	1.27 ± 0.14	1.68 ± 0.37	Metacentric
12	0.90 ± 0.17	0.70 ± 0.21	1.34 ± 0.22	1.60 ± 0.37	Metacentric
13	0.80 ± 0.16	0.64 ± 0.09	1.26 ± 0.11	1.44 ± 0.25	Metacentric
14	1.83 ± 0.35	0.85 ± 0.13	2.14 ± 0.11	2.68 ± 0.48	Submetacentric
15	1.65 ± 0.41	0.80 ± 0.14	2.06 ± 0.16	2.44 ± 0.55	Submetacentric
16	1.52 ± 0.38	0.68 ± 0.15	2.24 ± 0.31	2.20 ± 0.51	Submetacentric
17	1.44 ± 0.29	0.66 ± 0.18	2.27 ± 0.27	2.10 ± 0.46	Submetacentric
18	1.35 ± 0.22	0.63 ± 0.16	2.21 ± 0.26	1.98 ± 0.37	Submetacentric
19	1.31 ± 0.21	0.63 ± 0.18	2.14 ± 0.44	1.94 ± 0.37	Submetacentric
20	1.25 ± 0.26	0.63 ± 0.13	1.99 ± 0.09	1.88 ± 0.40	Submetacentric
21	1.26 ± 0.26	0.59 ± 0.12	2.16 ± 0.08	1.85 ± 0.38	Submetacentric
22	1.19 ± 0.25	0.60 ± 0.14	2.01 ± 0.11	1.79 ± 0.39	Submetacentric
23	1.13 ± 0.25	0.56 ± 0.10	2.02 ± 0.13	1.69 ± 0.35	Submetacentric
24	1.10 ± 0.24	0.56 ± 0.14	1.99 ± 0.06	1.65 ± 0.37	Submetacentric
25	1.04 ± 0.27	0.49 ± 0.10	2.11 ± 0.22	1.53 ± 0.36	Submetacentric

Based on the measurement of four karyotyped cells.

88, 94~98, 꾸구리속 88~90, 92, *Huigobio* 98, *Platysmacheilus* 88, 모래무지속 86, 90, 94, *Romanogobio* 88, 94, 98, 두우쟁이속 92~94로 속간에는 값이 중복되거나 차이를 보였다(Arai, 2011).

모래주사속 어류의 핵형과 FN값은 돌마자가 18m + 32smst, 배가사리는 18m + 32sm (FN = 100), 18m + 32smst, 18m + 16sm + 18a (FN = 94)로 알려져 있고 모래주사의 핵형은 26m + 24sm (FN = 100)로 확인되었다(Table 2). 이와 같은 핵형과 FN 값의 차이는 중심체 분열(Centric fission), 로버트슨 전좌 융해(Robertsonian fusion), 완간역위(Pericentric inversion) 그리고 지리적인 변이가 반영된 것으로 추정된 바 있어 염색체의 변형에 의한 결과로 생각된다(Thais *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2013).

염색체 수와 핵형분석은 속내 종간 차이가 보고되고 있고 계통학적 측면뿐 아니라 분류학적으로도 이용되어 계통 관계를 세우는 자료를 제시해 준다(Miller and Walter, 1972; Kim *et al.*, 2004). 그러나 본 속에 포함된 어류의 핵형 분석은 미진한 상태이며 분류학적 재검토 이전에 분석되었기에 추후 추가적인 실험이 필요할 것으로 사료된다.

*ensis*의 핵형분석을 통해 계통유전학적 기초자료를 얻고자 수행하였다. 핵형분석을 위해 섬진강과 낙동강에서 채집된 4개체의 신장을 flame-drying 방법으로 실험을 실시하였다. 핵형분석 결과 염색체 수는 2n = 50으로 섬진강과 낙동강 집단 간에 차이가 없었다. 모래주사 핵형은 2n = 26m + 24sm로 13쌍의 metacentric과 12쌍의 submetacentric 염색체로 구성되었으며, FN = 100이었다. 염색체의 길이와 양완비는 각각 1.44~2.68 μm, 1.17~2.27이었다. 모래주사의 핵형에 대한 보고는 본 연구에서 처음으로 수행되었다.

사 사

본문은 2018년도 국립수산물과학원 수산시험연구사업 큰징거미새우, 미꾸리 생태양식 기술개발(R2018016)의 지원으로 수행된 연구입니다.

REFERENCES

Arai, R. 2011. Fish karyotypes: A check list. Springer verlag, Tokyo, 340pp.
 Collares-Pereira, M.J., M.I. Prospero, R.I. Bileu and E.M. Ro-

요 약

본 연구는 멸종위기 어류 모래주사 *Microphysogobio kore-*

- drigues. 1998. *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) karyotypes: Transect of Portuguese populations. *Genet. Mol. Biol.*, 21: 63-69.
- Dai, Y. 2013. Karyotype and evolution analysis of vulnerable fish *Onychostoma lini* from China. The 7th International Conference on Systems Biology, 49-54.
- Gozukara, S.E. and T. Cavas. 2004. A karyological analysis of *Garrarufa* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) from the Eastern Mediterranean river basin in Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28: 497-500.
- Huang, S.P., Y. Zhao, I.-S. Chen and K.T. Shao. 2017. A new species of *Microphysogobio* (Cypriniformes: Cyprinidae) from Guangxi Province, Southern China. *Zool. Stud.*, 56: 1-8.
- Im, J.H., W.O. Lee, L. Peng, J.K. Noh, Y.K. Nam and D.S. Kim. 2004. Cytogenetic and molecular studies of endangered freshwater species from Korea I. *Microphysogobio longidorsalis* Mori (Cyprinidae: Gobioninae). *Korean J. Ichthyol.*, 16: 189-200.
- Jiang, Z.G., E.H. Gao and E. Zhang. 2012. *Microphysogobio nudiventris*, a new species of gudgeon (Teleostei: Cyprinidae) from the middle Chang-Jiang (Yangtze River) basin, Hubei Province, South China. *Zootaxa*, 3586: 211-221.
- Kim, C.H., S.W. Yoon, J.G. Kim, H.T. Kim, J.S. Park and J.Y. Park. 2012. Embryonic development and early life history of the endangered species *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Cyprinidae). *Korean J. Ichthyol.*, 14: 160-166. (in Korean)
- Kim, I.S. and J.Y. Park. 2002. Freshwater fishes of Korea. Kyohak Publishing Co., Seoul, 467pp. (in Korean)
- Kim, I.S., H. Yang, S.L. Lee and E.H. Lee. 2004. Karyotype analysis of the two species of the Genus *Squalidus* (Pisces: Cyprinidae) in Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 16: 229-223. (in Korean)
- Kim, K.Y. and I.C. Bang. 2010. Molecular phylogenetic position of *Abbottina springeri* (Cypriniformes; Cyprinidae) based on nucleotide sequences of *RAG1* gene. *Korean J. Ichthyol.*, 22: 273-278.
- Lee, H.Y., C.H. Yu, S.K. Jeon and H.S. Lee. 1983. The karyotype analysis on 29 species of fresh water fish in Korea. *Bull. Inst. Basic Sci., Inha Univ.*, 4: 79-86.
- Levan, A., K. Fredga and A.A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- ME (Ministry of Environment). 1998. Natural environment Conservation act (Law No. 5392). (in Korean)
- ME (Ministry of Environment). 2005. Enforcement of wildlife laws (Law No. 7167). (in Korean)
- ME (Ministry of Environment). 2012. Conservation and management laws of wildlife (Law No. 10977). (in Korean)
- ME (Ministry of Environment). 2017. Conservation and management laws of wildlife (Law No. 737). (in Korean)
- Miller, P.R. and V. Walter. 1972. A new genus of Cyprinodontid fish from Nouvo Leon, Mexico. *Contr. Sci. Nat. Hist. Mus. Los Angeles County*, 223: 1-13.
- NIBR (National Institute of Biological Resources). 2011. Red data book of endangered fishes in Korea. National institute of biological resources, Incheon, 202pp. (in Korean)
- Ojima, Y., M. Hayashi and K. Ueno. 1972. Cytogenetic studies in lower vertebrates. X. koaryotype and DNA studies in 15 species of Japanese Cyprinidae. *Japan. J. Genetics*, 47: 430-440.
- Park, J.S., H.S. Kim and J.Y. Park. 2017. Spawning characteristics of an endangered freshwater fish *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Gobioninae) in the Seomjingang (river) from Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 25: 135-140. (in Korean)
- Singh, S.S., C.B. Singh and G. Waikhom. 2013. Karyotype analysis of the new catfish *Mystus ngasep* (Siluriformes: Bagridae) from Manipur, India. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, 13: 179-185.
- Song, H.B. and G.M. Park. 2005. Karyotypes of three species of *Gobiobotia* (Pisces: Cyprinidae) in Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 17: 159-166.
- Tang, K.L., M.K. Agnew, W.J. Chen, M.V. Hirt, M.E. Raley, T. Sado, L.M. Schneider, L. Yang, H.L. Bart, S. He, H. Liu, M. Miya, K. Saitoh, A.M. Simons, R.M. Wood and R.L. Mayden. 2011. Phylogeny of the gudgeons (Teleostei: Cyprinidae: Gobioninae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 61: 103-124.
- Thais, S.S., B.N. Rafael, M.C. Marta and F.A. Roberto. 2010. A comparative study of two marine catfish (Siluriformes, Ariidae): Cytogenetic tools for determining cytotaxonomy and karyotype evolution. *Micron*, 41: 193-197.
- Ueno, K. and Y. Ojima. 1984. A chromosome study of nine species of Korean Cyprinid fish. *Jpn. J. Ichthyol.*, 31: 338-344.
- Yoon, S.W., J.G. Kim, H.T. Kim, J.S. Park, C.H. Kim, Y.J. Lee and J.Y. Park. 2013. Spawning microhabitat of *Microphysogobio koreensis* (Pisces: Cyprinidae) in the Seomjin river, Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 25: 135-140. (in Korean)