

Original article

## 중고기 *Sarcocheilichthys nigripinnis morii*와 참중고기 *S. variegatus wakiyae* (Pisces: Cyprinidae)의 자연 종간잡종에 관한 연구

장지왕<sup>1,2</sup> · 김재구<sup>3</sup> · 고재근<sup>1</sup> · 윤봉한<sup>4</sup> · 성무성<sup>5</sup> · 배양섭<sup>2,6,7,\*</sup>

<sup>1</sup>자연환경복원연구원, <sup>2</sup>인천대학교 생명과학과, <sup>3</sup>알파생태연구원, <sup>4</sup>한국생태네트워크,  
<sup>5</sup>물들이연구소, <sup>6</sup>인천대학교 생물자원환경연구소, <sup>7</sup>매개곤충자원융복합연구센터

**A Study on Natural Interspecific Hybrids between *Sarcocheilichthys nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiya* (Pisces: Cyprinidae).** Ji Wang Jang<sup>1,2</sup> (0009-0001-0189-4179), Jae Goo Kim<sup>3</sup> (0000-0003-1626-939X), Jae Geun Ko<sup>1</sup> (0009-0007-6632-9860), Bong Han Yun<sup>4</sup> (0000-0002-1885-5221), Mu Sung Sung<sup>5</sup> (0000-0002-3519-8526) and Yang Seop Bae<sup>2,6,7,\*</sup> (0000-0001-7356-5633) (<sup>1</sup>Natural Environmental Restoration Institute, Daejeon 34410, Republic of Korea; <sup>2</sup>Division of Life Sciences, College of Life Sciences and Bioengineering, Incheon National University, Incheon 22012, Republic of Korea; <sup>3</sup>Alpha Research Ecology Institute, Gunsan 54151, Republic of Korea; <sup>4</sup>Institute of Korea Eco-Network, Daejeon 34028, Republic of Korea; <sup>5</sup>Muldeuli Research, Icheon 12607, Republic of Korea; <sup>6</sup>Bio-Resource and Environmental Center, Incheon National University, Incheon 22012, Republic of Korea; <sup>7</sup>Convergence Research Center for Insect Vectors, Incheon 22012, Republic of Korea)

**Abstract** This study conducted morphological and molecular phylogenetic analyses on three presumed natural interspecific hybrids of the genus *Sarcocheilichthys*, collected from the main stream of the Seomjin River and its tributary, Dongbokcheon Stream, as well as their parent species, *S. nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae*, to identify whether they are natural hybrids and to determine their maternal and paternal species. The results of the molecular phylogenetic analysis clearly demonstrated that the three presumed natural hybrids are indeed natural hybrids of *S. nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae*, with *S. nigripinnis morii* identified as the maternal species and *S. variegatus wakiyae* as the paternal species. The three natural hybrids exhibited intermediate or unique morphological traits that were not biased towards either parent species, and distinct morphological characteristics were observed in the dorsal fin and caudal fin. In the water bodies where the natural hybrids were collected, a variety of Acheilognathinae species and spawning hosts coexisted alongside the parent species *S. nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae*. It is presumed that the overlapping spawning periods and locations of *S. nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae* promoted the occurrence of hybrids. The unidirectional occurrence of natural interspecific hybridization is attributed to interspecific competition and population imbalance, and the sneaker behavior of *S. variegatus wakiyae* males was proposed as an important mechanism.

**Key words:** *Sarcocheilichthys*, *nigripinnis morii*, *variegatus wakiyas*, interspecific hybrid, natural hybrid, hybridization

Manuscript received 21 June 2024, revised 12 September 2024,  
revision accepted 13 September 2024

\* Corresponding author: Tel: +82-32-835-8246, Fax: +82-32-835-0763  
E-mail: baeys@inu.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

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, provide the original work is properly cited.

## 서론

자연 교잡(natural hybridization)은 서로 다른 두 종 또는 유전적으로 구별되는 개체군이 자연 상태에서 교배하여 잡종(hybrid)을 형성하는 과정을 의미하며, 한때 매우 드문 현상으로 여겨졌다(Hubbs, 1955; Barton and Hewitt, 1985; Arnold, 1997; Mallet, 2005). 그러나 유전자 서열에 대한 선택적 증폭이 가능한 기술의 발달로 잡종 개체를 정확하게 식별할 수 있게 되면서(Billington and Hebert, 1991; Jerry *et al.*, 1999; Perez *et al.*, 1999; Sonnenberg *et al.*, 2007; Cebrat *et al.*, 2008; Kim and Bang, 2010), 현재는 식물, 동물, 박테리아, 균류 등 다양한 유기체에서 광범위하게 관찰되는 흔한 현상으로 인식되고 있으며, 어류의 자연 교잡은 많은 척추동물 분류군 중에서도 폭 넓게 관찰되고 있다(Campton, 1987; Allendorf and Waples, 1996; Arnold, 2004; Mallet, 2007; Schwenk *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Samarasinghe *et al.*, 2020; Edelman and Mallet, 2021). 특히, 자연에서 속간(intergeneric) 및 종간(interspecific) 잡종이 비교적 흔히 발견되는 잉어과(Cyprinidae) 어류의 자연 교잡 발생률은 다른 어떤 어류 분류군보다 높은 것으로 알려져 있으며(Demarais and Minckley, 1992; Demarais *et al.*, 1992; Dowling and DeMarais, 1993; Dowling and Secor, 1997; Scribner *et al.*, 2001; Freyhof *et al.*, 2005; Aboim *et al.*, 2010; Gilles *et al.*, 2010), 담수 환경은 해양보다 자연 교잡이 발생하기 더 적합한 생태적 조건을 갖추고 있어 담수어류에서 이러한 현상이 흔히 나타난다(Hubbs, 1955; Randall, 1956; Scribner *et al.*, 2001; Pinheiro *et al.*, 2019; Zbinden *et al.*, 2023). 이를 증명하듯이, 국내에 서식하는 담수어류의 자연잡종 발생 역시 잉어과에 속하는 납자루아과(Acheilognathinae)와 미꾸리과(Cobitidae) 어류에서 다양한 사례가 보고되고 있다(Hwang *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2014a, 2015a; Kim *et al.*, 2015c; Song *et al.*, 2017; Kwan *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2020; Kwak *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021; Yun *et al.*, 2021). 수중 환경에서의 외부 수정과 유사한 교배 행동, 불안정한 생식 격리, 부모종의 개체수 불균형, 서식지와 산란장소의 유사성, 산란시기의 중복, 서식지의 교란 및 훼손, 종 도입, 유도된 잡종화(양식), 기후변화 등 담수어류의 교잡 발생률을 증가시키는 여러 가지 요인이 제안되었다(Hubbs, 1955; Jansson *et al.*, 1991; Verspoor and Hammar, 1991; Leary, 1995; Scribner *et al.*, 2001; Šorić, 2004; Ünver *et al.*, 2008; Hórreo *et al.*, 2011; Kwan *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2015c; Pinheiro *et al.*, 2019).

최근 연구들은 형태학적 및 분자계통학적 분석 결과를 근

거로 교잡이 자연 개체군의 유전적 다양성을 높이고 새로운 형질을 도입하여 환경변화에 대한 적응력을 향상시키고 동시에, 유전적 변이의 원천과 종 분화 및 진화의 단초를 제공한다고 강조한다(Smith, 1992; Dowling and DeMarais, 1993; Scribner *et al.*, 2001; Seehausen, 2004; Arnold and Meyer, 2006; Mallet, 2007; Abbott *et al.*, 2013; Abbott *et al.*, 2016). 하지만, 자연에서 교잡이 항상 긍정적인 결과를 초래하는 것은 아니다. 잡종이 기존 생태계에 도입되면 생태적 균형이 깨질 수 있으며, 교잡으로 생식 장벽이 붕괴되거나 독특한 진화적 계통을 합병시키는 경우, 개체군이나 종의 멸종으로 이어질 수 있어 생물다양성을 감소시킬 수 있다(Rieseberg *et al.*, 1989; Levin *et al.*, 1996; Rhymer and Simberloff, 1996; Allendorf *et al.*, 2001; Buerkle *et al.*, 2003; Vuillaume *et al.*, 2015; Hata *et al.*, 2019).

따라서, 자연 교잡 현상의 범위와 정도를 파악하고 잡종을 탐지하는 것은 보전생물학적 측면에서 생물다양성 보전과 생태계 관리에 있어 중요한 과제이며(Vilà *et al.*, 2003; Bohling, 2016; Chan *et al.*, 2019), 잡종의 모계종과 부계종을 판별하는 것은 중간 유전자 흐름, 진화 과정, 종 분화, 그리고 유전적 다양성 보존에 필수적이다(Arnold, 1997; Peitts *et al.*, 1997; Allendorf *et al.*, 2001; Burke and Arnold, 2001; Taylor and Larson, 2019). 핵 DNA의 recombination activating gene 1 (*rag1*) 유전자는 다양한 종에서 안정적인 서열을 유지하는 진화적으로 보존된 유전자로, 그 서열에서 나타나는 다형성(polymorphism)을 통해 종간 교잡 여부를 신뢰성 있게 판별할 수 있으며, 미토콘드리아 DNA는 재조합 없이 세대를 거쳐 모계로만 전달되므로 모계종을 추정하는 데 유용하다(Sunnucks, 2000; Pacheco *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2002; Ingman and Gyllensten, 2006; Avise, 2009; Kim and Bang, 2010; Vilaça and Santos, 2013). 이러한 분자계통학적 분석 방법은 우리나라에 서식하는 담수어류를 대상으로 한 다양한 잡종 연구에서 효과적으로 활용되고 있다(Lee *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2014a, 2015a; Kim *et al.*, 2015c; Song *et al.*, 2017; Kwan *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2020; Kwak *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021; Yun *et al.*, 2021).

본 연구는 섬진강의 본류와 지류인 동복천에서 채집된 중고기속 어류의 자연 종간잡종으로 추정되는 3개체와 부모종으로 추정되는 중고기와 참중고기에 대한 형태학적 특성을 비교하여 기재하였다. 또한, 핵 DNA의 *rag1* 유전자와 미토콘드리아 DNA의 cytochrome *b* gene (*cytb*) 유전자를 이용한 분자계통학적 분석을 통해 잡종 여부와 모계종 및 부계종을 명확히 판별하였으며, 중고기속 어류의 자연 종간잡종 발생에 대해 논의하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 확보

중고기속 어류의 자연 중간잡종으로 추정되는 3개체(체장 61.6~71.2 mm)는 2023년 03월 05일 전라남도 화순군 사평면 장전리 일대의 섬진강 지류인 동복천(35°0'53.87"N, 127°6'18.78"E)에서 1개체(Hybrid 01), 2023년 10월 14일 구례군 구례읍 계산리 일대의 섬진강 본류(35°11'38.61"N, 127°22'38.04"E)에서 2개체(Hybrid 02, 03)를 채집하였다. 또한, 잡종 개체가 채집된 조사지점을 중심으로 상·하류 약 500 m 이내에서 이들의 부모종으로 추정되는 중고기, 참중고기 그리고 잡종 형성에 기여할 가능성이 있는 동소종을 조사하였다. 어류의 채집은 족대(망목 5×5 mm)와 투망(망목 7×7 mm)을 이용하였으며, 자연잡종과 부모종으로 추정되는 개체들은 체색 비교를 위해 즉시 사진을 촬영하였다. 유전자 분석을 위해 배지느러미의 일부를 절단해 99.9% 에탄올에 고정하였고, 지느러미 채취가 끝난 개체들은 형태학적 분석을 위해 10% 포르말린 수용액에 고정해 표본으로 제작하였다. 동소종은 Kim (1997), Kim *et al.* (2005), Chae *et al.* (2019), NIBR (2019a), Lee and Min (2019) 등을 참고하여 동정 및 기록한 후에 모두 방류하였다.

### 2. 형태학적 분석

형태학적 분석은 Hubbs and Largler (2004)와 Armbruster (2012)를 참고하여 4개의 계수형질과 13개의 계측형질을 측정하였다. 계수형질 측정 항목의 등지느러미 기조수(No. of dorsal fin rays), 뒷지느러미 기조수(No. of anal fin rays), 척추골수(No. of vertebrae)는 soft x-ray(Hitex, HA-80, Japan)로 촬영하여 계수하였고, 측선비늘수(No. of lateral line scales)는 실체현미경(Olympus SZ61, Japan, Magnification: 0.67×~4.5×)을 이용하여 계수하였다. 계측형질 항목은 1/20 mm digital calipers (SHAHE, China)를 사용하여 0.01 mm까지 측정하였으며, 체장(standard length)에 대한 체고(body depth), 두장(head length), 등지느러미 기점거리(predorsal length), 가슴지느러미 기점거리(prepectoral length), 배지느러미 기점거리(preventral length), 뒷지느러미 기점거리(preanal length), 등지느러미 기저길이(dorsal fin base length), 뒷지느러미 기저길이(anal fin base length), 미병장(length of caudal peduncle), 미병고(depth of caudal peduncle)의 비율 및 두장에 대한 문장(snout length), 안경(eye diameter), 양안 간격(interorbital width)의 비율로 나타냈다. 또한, 측정된 계수·계측형질을 이용하여 자연잡종과 부모종 간의 형태를 비교하기 위해 Nikoljukin (1972)이 제

시한 계산식으로 잡종지수(hybrid index, Hindex)를 산출하였다.

$$\text{Hybrid index (Hindex)} = (H - M1) / (M2 - M1)$$

H: 자연잡종의 특정 형질,

M1: 제1 부모종 특정 형질(*S. nigripinnis morii*),

M2: 제2 부모종 특정 형질(*S. variegatus wakiya*)

산출된 잡종지수의 경우, 30~70의 범위일 경우 두 부모종의 중간형질, 0~30의 범위는 제1 부모종, 70~100의 범위는 제2 부모종 그리고 0 미만 및 100 초과 범위는 잡종의 고유한 형질이 발현된 것으로 간주하고 있으며(Ross and Cavender, 1981; Šorić, 2004; Witkowski *et al.*, 2015; Kwak *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021; Yun *et al.*, 2021), 본 연구도 이를 적용하여 분석하였다.

### 3. Genomic DNA 추출 및 sequencing

Genomic DNA (gDNA)는 DNeasy<sup>®</sup> Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 추출하였다. 추출된 gDNA는 핵 DNA의 *rag1* 유전자 영역의 경우, RAG1-1495f3 (5'-CAGTAYCAYAAGATGTACCG-3')과 RAG1-3067r (5'-TTGTGAGCYTCCATRAACTT3'), 미토콘드리아 DNA의 *cytb* 유전자 영역의 경우, L14724 (5'-GACTTGAARA ACCAYCGTTG-3')와 H15915 (5'-CTCCGATCTCCG GATTACAAGAC-3')의 프라이머 쌍을 각각 사용하여 PCR을 수행하였다(Irwin *et al.*, 1991; Kim and Bang, 2010). PCR 조건은 95°C에서 5분간 초기변성(initial denaturation) 후 95°C에서 40초간 변성(denaturation), *rag1* 유전자는 55°C, *cytb* 유전자는 54°C에서 40초간 결합(annealing), 72°C에서 1분간 신장(extension)을 35회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분간 최종신장(final extension)을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 AccuPrep<sup>®</sup> PCR Purification Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 정제한 후, ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 염기서열을 생산하였다.

### 4. 염기서열 및 분자계통학적 분석

핵 DNA의 *rag1* 유전자 영역과 미토콘드리아 DNA의 *cytb* 유전자 영역의 염기서열 데이터는 FinchTV 1.4.0 (<https://digitalworldbiology.com/FinchTV>)을 이용하여 trimming을 실시하였다. 자연잡종으로 추정된 3개체에 대한 잡종 여부를 동정하기 위해 *rag1* 유전자 염기서열의 electropherogram에 나타나는 double peaks 양상을 분석하였으며, 모계종을 추정하기 위하여 *cytb* 유전자 염기서열을 이용해 분자계통도로

나타내었다. 명확한 모계종 추정을 위하여 NCBI Genbank 에서 중고기속 근연종들의 *cytb* 유전자 염기서열 데이터를 수집하여 사용하였으며, MUSCLE 3.8.31 (Edgar, 2004) 방법을 사용하여 다중정렬한 후 분자계통분석에 사용하였다. Maximum-likelihood (ML) 분자계통도는 RAxML 8.2.10 (Stamatakis, 2014)을 이용하여 1,000번의 bootstrapping을 적용하여 작성하였다. Bayesian inference (BI) 분자계통도는 MrBayes 3.2.7 (Ronquist *et al.*, 2012)을 사용하였고  $1 \times 10^6$  세대의 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 분석을 진행한 후, 1,000회마다 무작위로 샘플링하고 초기 25%는 burn-in으로 제거하였다. 이후, 분석된 BI 데이터는 TRACER ver. 1.7.1 (Rambaut *et al.*, 2018)을 사용하여 effective sample size (ESS) 값의 200 초과 여부를 확인하고 사용하였다. 치환 모델(substitution model)은 jModelTest 2.1.10 (Guindon and Gascuel, 2003; Darriba *et al.*, 2012)을 사용하여 Akaike information criterion (AIC)의 값에 따라 최적 모델로 선정된 GTR+I+G 모델을 ML과 BI 분석 모두 동일하게 적용하였으며, 작성된 분자계통도는 Figtree 1.4.4 (Rambaut, 2018)를 이용하여 시각화하였다.

## 결 과

### 1. 동소종

자연잡종 1개체 (Hybrid 01)가 채집된 동북천 일대에서는 총 6과 20종 394개체, 자연잡종 2개체 (Hybrid 02, 03)가 채집된 섬진강 본류 일대에서는 총 5과 21종 368개체가 채집되었다. 두 수역 모두에서 부모종 중 참중고기(동북천: 8.38%, 섬진강 본류: 4.35%)가 중고기(동북천: 2.79%, 섬진

강 본류: 1.09%)보다 상대적으로 더 풍부하였으며, 부모종과 유사한 산란 습성을 가진 각시붕어 *Rhodeus uyekii* (동북천: 3.55%, 섬진강 본류: 1.09%), 떡납줄갱이 *R. notatus* (동북천: 1.78%), 납자루 *Acheilognathus lanceolata intermedia* (섬진강 본류: 3.80%), 칼납자루 *A. koreensis* (동북천: 4.82%, 섬진강 본류: 3.80%), 큰줄납자루 *A. majusculus* (동북천: 2.28%, 섬진강 본류: 14.40%) 등 납자루아과 어류 5종과, 이들 및 부모종의 산란숙주로 이용 가능한 말조개 *Unio douglasiae*, 작은말조개 *Nodularia breviconcha*, 재첩 *Corbicula fluminea* 등 3종이 동소 서식하고 있었다(Fig. 1).

### 2. 형태학적 분석

중고기와 참중고기의 중간 자연잡종으로 추정되는 3개체의 전체적인 몸의 체색은 부모종과 같이 등 부분은 어두운 녹색, 배 부분은 은백색을 띠었으며, 검은색의 비늘들이 모여 나타나는 불규칙한 반문 패턴과 옅은 주홍색을 띠는 각지느러미 체색은 중고기와 조금 더 유사하였다. 등지느러미의 반문은 중고기의 기저 부분에 나타나는 반문과 참중고기의 중앙 부분에 나타나는 넓은 반문이 결합되어 상단과 바깥 가장자리를 제외한 대부분을 폭 넓게 채우는 형태로 나타났으며, 중고기의 꼬리지느러미 상·하엽에 있는 선형 반문이 하엽에만 나타났다(Fig. 2).

계수 및 계측형질과 잡종지수 분석 결과는 Table 1과 같다. 4개의 계수형질 중에서 등지느러미와 뒷지느러미 기조의 불분지 및 분지연조수는 자연잡종 3개체와 부모종 간에 차이가 없는 공통형질로 확인되었다. Hybrid 01은 측선비늘수 (Hindex = 59)와 척수골수 (Hindex = 38)가 중간형질을 따르는 것으로 나타났으나, Hybrid 02는 측선비늘수 (Hindex = 91)는 참중고기의 형질을, 척수골수

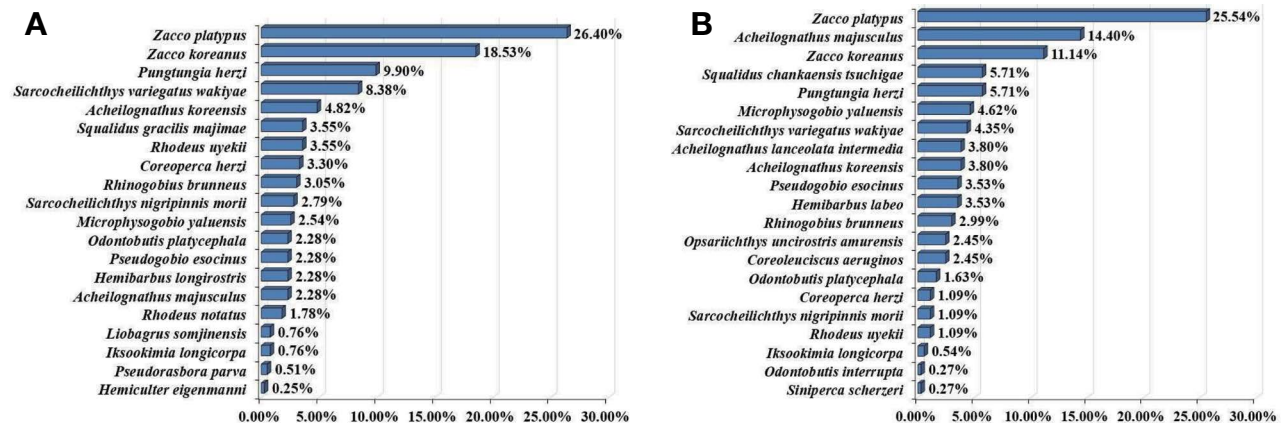
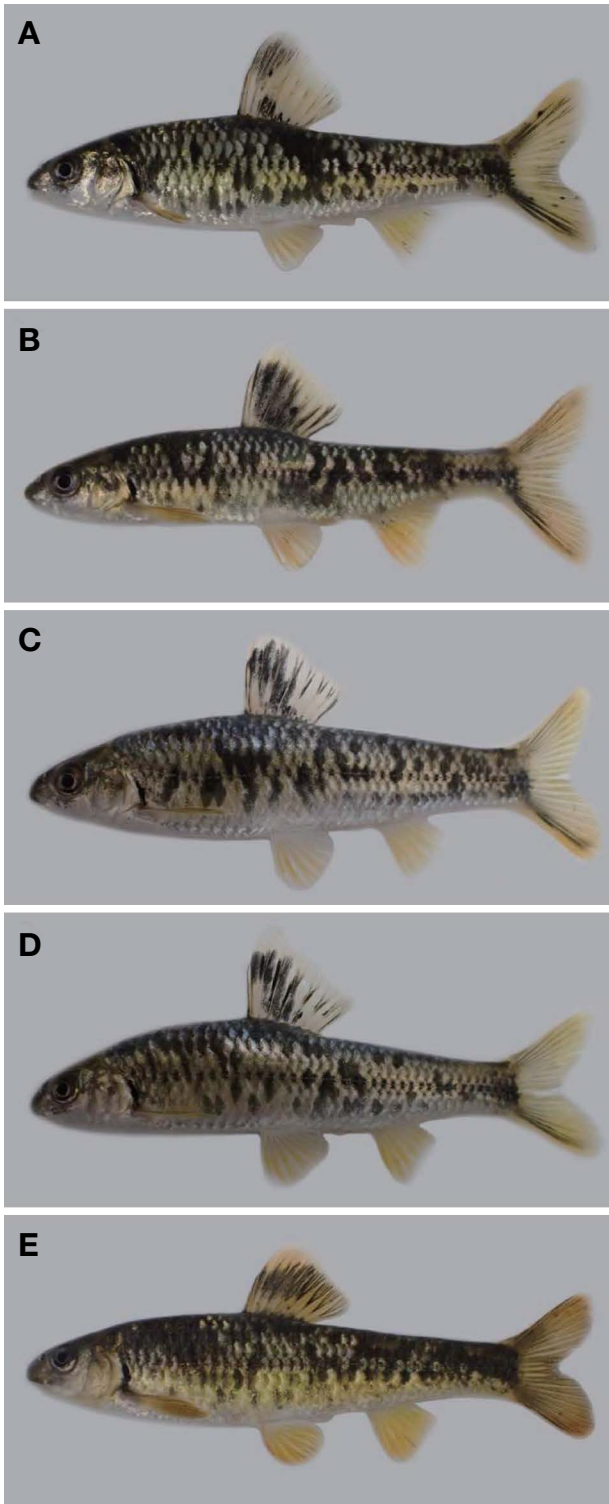


Fig. 1. Relative abundance of fish collected from Dongbokcheon Stream (A), a tributary of the Seomjingang River, and the main stream (B).



**Fig. 2.** Comparison of body color between natural hybrids and parent species, *Sarcocheilichthys nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae* (A, *S. nigripinnis morii*: 74.6 mm SL; B, Hybrid 01: 61.6 mm SL; C, Hybrid 02: 67.2 mm SL; D, Hybrid 03: 71.2 mm SL; E, *S. variegatus wakiyae*: 84.5 mm SL).

(Hindex = 38)는 중간형질을 따랐고, Hybrid 03은 측선비늘 수(Hindex = 59)는 중간형질을, 척수골수(Hindex = 20)는 중고기의 형질을 따르는 것으로 나타났다. 13개의 계측형질 중에서 체장에 대한 체고의 비(Hindex = -592, 242~667)와 뒷지느러미 기저길이의 비(Hindex = -172~-110)는 자연잡종 개체 모두에서 고유한 형질이 발현된 것으로 나타났으며, 두장의 비(Hindex = 78~85)는 자연잡종 개체 모두 제2 부모종인 참중고기를 따랐다. 그 외 체장에 대한 등지느러미 기점거리의 비(Hindex = 29~149), 가슴지느러미 기점거리의 비(Hindex = 60~82), 배지느러미 기점거리의 비(Hindex = -44~32), 뒷지느러미 기점거리의 비(Hindex = 64~121), 등지느러미 기저길이의 비(Hindex = 79~136), 미병장의 비(Hindex = 14~163), 미병고의 비(Hindex = -94~66) 등은 개체별로 제1 부모종 또는 제2 부모종의 형질, 중간형질, 고유한 형질을 다양하게 따르는 것으로 나타났다. 한편, 두장에 대한 문장의 비(Hindex = -526~-33), 안경의 비(Hindex = -1159~-930, 489), 양안 간격의 비(Hindex = -195~-21)는 자연잡종 개체 모두의 고유한 형질로 확인되었다.

### 3. 분자계통학적 분석

핵 DNA의 *rag1* 유전자 영역에서 증폭된 총 1,488 bp의 염기서열을 분석한 결과, 부모종으로 추정되는 중고기와 참중고기 간의 염기서열 변이는 총 5 bp로 나타나 약 0.34%의 변이율을 보였다. 한편, electropherogram에서 중고기와 참중고기는 각 염기서열마다 명확한 single peak를 나타냈으나, 자연잡종으로 추정된 3개체는 중고기와 참중고기 간의 염기서열 변이 부위 모두에서 double peak 양상이 관찰되었다(Fig. 3).

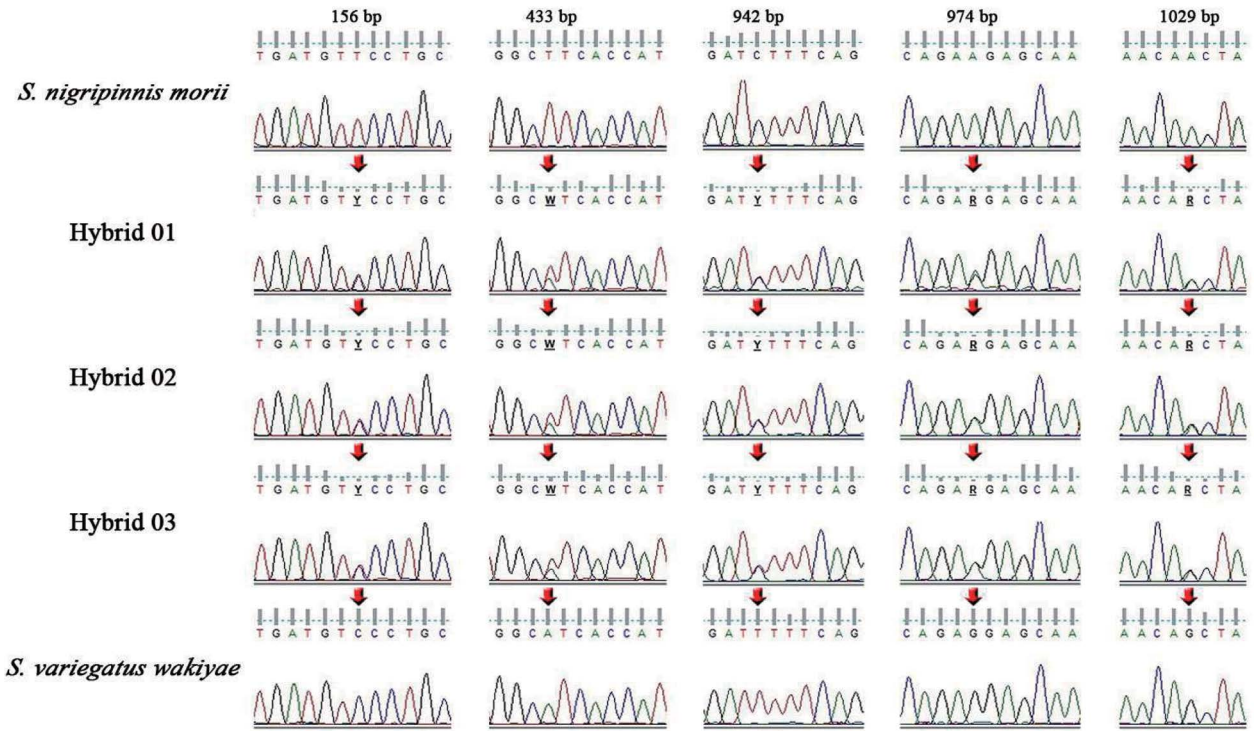
미토콘드리아 DNA의 *cytb* 유전자 영역에서 총 1,141 bp의 염기서열이 증폭되었으며, 중고기와 참중고기 간의 염기서열 변이는 총 107 bp로 나타나 약 9.33%의 높은 변이율을 보이며 두 종을 명확하게 구분할 수 있었다. 한편, 자연잡종 3개체는 중고기와 100%의 염기서열 유사도를 보였으나, 참중고기와는 107 bp(약 9.33%)의 염기서열 변이를 보여 중고기와 참중고기 간의 변이율과 동일한 수준을 나타내었다(Fig. 4). 이러한 결과는 ML과 BI로 작성된 분자계통도에서도 뚜렷하게 나타났는데, 높은 수치의 지지도(100 BV/1.00 PP)를 기반으로 자연잡종 3개체는 중고기와 동일한 유전적 clade를 형성하였다(Fig. 5).

## 고 찰

본 연구에서는 섬진강의 본류와 지류인 동복천에서 채

**Table 1.** Comparison of 4 meristic counts, 14 proportional measurements and hybrid index (Hindex) from *Sarcocheilichthys nigripinnis morii*, *S. variegatus wakiyae* and their natural hybrids.

Characteristics	<i>S. nigripinnis morii</i> (N = 10)			Natural hybrid (N = 3)			<i>S. variegatus wakiyae</i> (N = 10)			Hindex		
	Range	Mean ± SD		Range	Mean ± SD		Range	Mean ± SD		01	02	03
No. of dorsal fin rays	10 (iii 7)	-		10 (iii 7)			10 (iii 7)	-		-	-	-
No. of anal fin rays	9 (iii 6)	-		9 (iii 6)			9 (iii 6)	-		-	-	-
No. of lateral line scales	36~39	37.2 ± 1.1		39~40	39.3 ± 0.5		38~42	40.0 ± 1.3		59	91	59
No. of vertebrae	35~37	36.4 ± 0.7		37~38	37.7 ± 0.5		36~39	37.4 ± 1.0		38	38	20
Standard length	59.38~98.31	76.84 ± 11.50		61.60~71.23	66.68 ± 3.95		62.51~87.09	71.32 ± 6.99				
In % of standard length												
Body depth	20.9~25.6	23.4 ± 1.5		20.2~25.3	23.0 ± 2.1		21.7~25.5	23.6 ± 1.3		- 592	242	667
Head length	20.8~25.1	23.2 ± 1.1		21.6~22.2	21.9 ± 0.2		20.0~21.5	21.0 ± 0.4		85	80	78
Predorsal length	45.0~48.8	47.4 ± 1.0		45.5~47.4	46.1 ± 0.9		44.5~47.0	45.8 ± 0.7		145	29	149
Prepectoral length	22.3~24.6	23.6 ± 0.8		21.9~22.9	22.5 ± 0.4		20.6~22.7	21.4 ± 0.8		82	63	60
Preventral length	47.0~52.3	49.0 ± 1.7		47.5~48.5	47.9 ± 0.4		45.4~47.3	46.5 ± 0.5		9	- 44	32
Preanal length	69.2~76.1	71.8 ± 1.8		68.8~70.3	69.5 ± 0.6		68.5~69.8	69.0 ± 0.4		121	64	90
Dorsal fin base length	12.8~14.5	13.7 ± 0.5		14.7~15.5	15.1 ± 0.4		13.2~15.3	14.3 ± 0.7		108	136	79
Anal fin base length	7.5~9.8	8.7 ± 0.7		8.3~8.7	8.5 ± 0.2		9.2~11.0	10.2 ± 0.5		- 110	- 172	- 154
Length of caudal peduncle	18.6~22.7	20.4 ± 1.3		20.7~23.1	22.2 ± 1.1		22.2~25.6	23.5 ± 1.1		163	37	14
Depth of caudal peduncle	10.8~11.9	11.3 ± 0.3		9.8~12.6	11.2 ± 1.2		11.3~12.1	11.8 ± 0.3		- 94	- 20	66
In % of head length												
Snout length	29.4~34.9	32.2 ± 2.0		29.4~31.8	30.7 ± 1.0		28.8~35.2	32.5 ± 1.9		- 222	- 526	- 33
Eye diameter	27.2~35.6	31.5 ± 2.3		29.1~33.7	32.0 ± 2.0		28.5~33.6	31.0 ± 1.3		- 930	- 1159	489
Interorbital width	29.0~38.0	33.7 ± 2.7		29.8~34.3	32.2 ± 1.8		32.3~40.7	36.4 ± 2.2		- 21	- 195	- 87



**Fig. 3.** Electropherograms to the *rag1* gene shown clear evidence of natural hybridization of *Sarcocheilichthys nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae*. Double peaks indicate by red arrows (Gray bars indicate quality levels).

집된 중고기속 어류의 자연 중간잡종으로 추정되는 3개체의 잡종 여부를 확인하고, 부모종인 중고기, 참중고기를 대상으로 모계종 및 부계종을 명확히 판별하기 위해 형태학적 및 분자계통학적 분석을 실시하였다. 핵 DNA의 *rag1* 유전자 염기서열에 대한 electropherogram 분석 결과, 자연 중간잡종으로 추정된 3개체는 중고기와 참중고기 간의 단일염기다형성 (singlenucleotide polymorphism, SNP) 부위 모두에서 double peaks 양상이 관찰되며 (Verspoor and Hammar, 1991; Polyakova *et al.*, 2015), 이 개체들이 중고기와 참중고기의 자연잡종임이 명확히 입증되었다. 미토콘드리아 DNA의 *cytb* 유전자 염기서열 비교 결과, 자연잡종 3개체는 중고기와 100%의 염기서열 유사도를 보였으며, 분자계통도상에서 중고기와 유전적 clade를 형성하였다. 서론에서 언급한 바와 같이, 미토콘드리아 DNA는 재조합 없이 세대를 거쳐 모계로만 전달되는 특성상, 이와 같은 결과는 자연잡종 3개체의 모계종이 중고기임을 강력하게 뒷받침한다. 따라서, 분자계통학적 분석 결과를 기반으로 자연잡종 3개체의 모계종은 중고기, 부계종은 참중고기로 밝혀졌다.

잡종지수를 이용한 형태학적 분석 결과, 자연잡종 3개체는 개체별로 공통형질 (등지느러미와 뒷지느러미의 기초수)을 제외한 15개의 계수 및 계측형질 중 6개 (Hybrid 03)에

서 10개 (Hybrid 01)의 형질이 잡종 고유의 형질로 우세하게 발현되었으며, 2개 (Hybrid 01)에서 4개 (Hybrid 02, 03)의 형질은 부모종 간의 중간형질을 나타내었다. 특히 체장에 대한 체고와 뒷지느러미 기저길이의 비, 그리고 두장에 대한 문장, 안경, 양안 간격의 비 등 5개의 계측형질은 자연잡종 3개체에서 공통된 고유한 형질로 나타나 주목되었다. 그러나 계측형질은 개체 간 또는 같은 종 내에서도 환경적 요인에 따라 가변적일 수 있으므로, 잡종지수로 확인된 고유한 형태적 형질만으로는 잡종 여부와 모계, 부계를 명확히 판별하기 어려울 것으로 판단되었으며, 다수의 개체를 대상으로 한 추가 검증이 필요하다. 한편 자연잡종 3개체는 부모종인 중고기와 참중고기를 구분하는 주요 분류학적 형질인 등지느러미 기초에 나타나는 반문의 위치 및 모양, 그리고 꼬리지느러미의 상·하엽에 나타나는 선형 반문 (Kim and Lee, 1984; Kim, 1997; Kim *et al.*, 2005)이 부모종 간의 중간형질을 나타내었다. 이는 Kim (2020)의 결과와도 일치하여, 중고기속 어류의 자연잡종 개체가 부모종의 형질을 어떻게 혼합하여 나타내는지를 보여주는 중요한 사례로, 자연잡종 개체에서 나타나는 고유한 형태학적 형질로 판단되며, 이를 통해 잡종 여부를 현장에서 쉽게 식별할 수 있었다. 서로 다른 종의 교배로 발생한 잡종은 유전적 재조합, 염색체 구조와 수

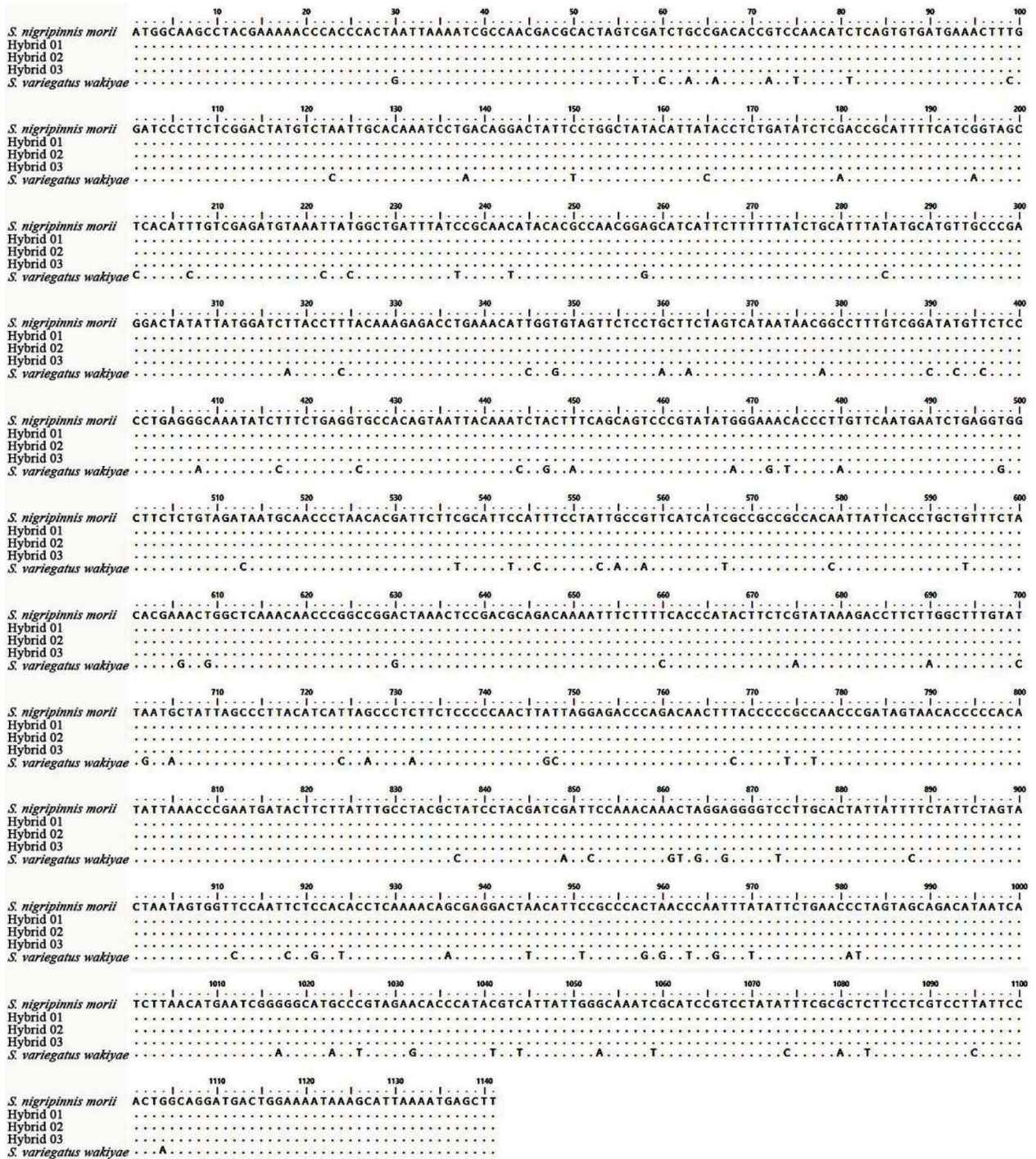
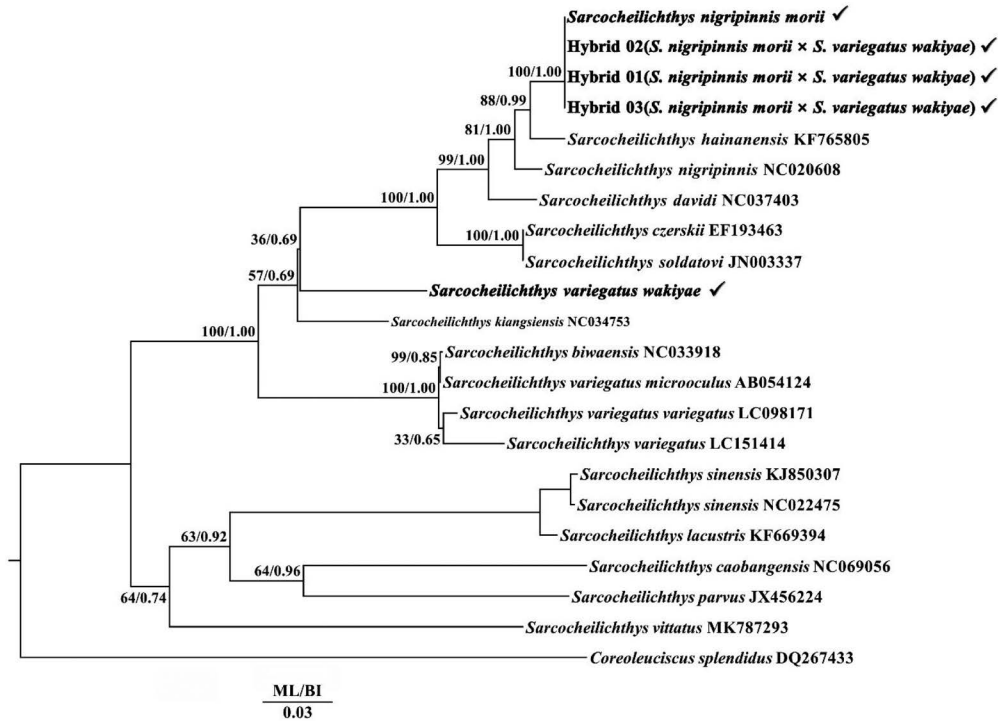


Fig. 4. Nucleotide sequence alignment of the *cytb* gene from natural hybrids and parent species, *Sarcocheilichthys nigripinnis morii* and *S. variegatus wakiyae*.

의 차이, 유전자 조합의 불균형 등의 다양한 유전적 요소들이 혼합되어 새로운 형질과 형태가 발현되며, 이는 부모종과 형태학적으로 차이를 보이게 된다(Lehtinen *et al.*, 2016;

Niedzicka *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021). 담수어류 잡종의 경우, 몸 크기와 형태, 비늘 패턴, 체색과 무늬, 지느러미 형태와 크기, 머리의 구조, 체표의 돌기와 주름 등 여러 측면에서 부





**Fig. 5.** Phylogenetic tree of *Sarcocheilichthys* was constructed using the mitochondrial DNA *cytb* gene through maximum-likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) analyses. Numbers at the nodes indicate the ML bootstrap values (left) and Bayesian posterior probabilities (right). The GenBank accession numbers of each species are given after the scientific names. Bold and check indicates this study.

모종의 형태적 특성이 혼합된 중간 또는 새로운 고유한 형질이 발견된다(Gu *et al.*, 2008; Kirczuk and Domagała, 2011; Wang *et al.*, 2013; Baker *et al.*, 2021; Santos-Santos *et al.*, 2021). 본 연구의 자연잡종 3개체는 한 부모종에 편향되지 않는 중간 또는 고유한 형질이 형태적으로 우세하게 발견되었으며, 이는 한반도 담수어류의 자연잡종에 관한 기존 연구들의 형태학적 분석 결과와 일치하였다(Kim *et al.*, 2014a, 2015a, 2015b; Kwak *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021; Yun *et al.*, 2021).

자연잡종 3개체가 채집된 수역은 부모종인 중고기와 참중고기가 함께 서식하는 곳이었으며, 두 종과 유사한 산란 습성을 가진 5종의 납자루아과 어류(각시붕어, 떡납줄갱이, 납자루, 칼납자루, 큰줄납자루)와 이들의 산란숙주로 이용 가능한 말조개, 작은말조개, 재첩 등 3종이 동소하였다. 참중고기는 담수산 이매패류 중 비교적 대형종인 석패과 Unionidae의 펼조개 *Anodonta woodiana*, 꽃체두드럭조개 *Lamprotula leaii*, 말조개 등을 선호하는 반면(Kim *et al.*, 2014b; Yoon, 2016), 중고기는 얇은재첩 *C. papyracea*과 재첩에만 산란하는 것으로 알려져 있다(Kang *et al.*, 2007). 하지만, 앞서 언급한 이매패

류들은 주로 강이나 하천의 중·하류에 유속이 완만한 지역이나 호수, 습지 등에서 하상이 자갈, 모래, 진흙으로 이루어진 곳에 주로 서식하는 것으로 알려져 있으며, 생태적 조건이 유사한 환경에서 공존하는 경우가 많다(Kwon, 1990; Lee and Min, 2019; NIBR, 2019a; MolluscaBase eds., 2024). 또한, 최근 무분별한 하천 공사와 수질 오염으로 인해 이매패류의 안정적인 서식 환경이 교란되면서 개체수가 감소하고 분포가 제한됨에 따라(Bogan, 1993; Watters, 1996; Kim, 2014; NIBR, 2019b; Hata *et al.*, 2021), 참중고기와 중고기는 산란숙주 선택 양상에서 차이를 보이지만 불가피하게 산란장소를 공유하게 되었을 것으로 판단되었으며, 참중고기의 산란시기는 4~6월, 중고기의 산란시기는 5~6월로 중복되는 점은 두 종이 공유된 산란장소에서 만날 확률을 높여 잡종 발생을 촉진했을 것으로 추측된다(Jansson *et al.*, 1991; Muhlfeld *et al.*, 2009; Uemura *et al.*, 2018).

한편, 본 연구에서 자연 중간 교잡이 중고기를 모계로 하는 단방향으로만 발생되었으며, 이는 Kim (2020)의 결과와도 일치하여 주목되었다. 이러한 현상은 동소종 간 경쟁과 부모종 사이의 개체수 불균형이 영향을 미쳤을 것으로 추정되었다(Hubbs, 1955; Jansson *et al.*, 1991; Scribner *et al.*, 2001).

부모종과 동소하는 납자루아과의 어류들은 산란숙주로 석패과 종들을 선호하며, 산란시기는 종별로 다소 차이가 있지만 4~6월로 알려져 있다(Song and Kwon, 1994; Kim, 1997; Yang, 2004; Baek and Song, 2005; Kim *et al.*, 2015b; Chae *et al.*, 2019). 따라서, 중복된 산란장소에서 납자루아과 어류와 유사한 산란숙주 선택 양상을 갖는 참중고기 개체군은 산란숙주를 둘러싼 종내 경쟁(intraspecific competition) 뿐만 아니라 납자루아과 어류와의 종간 경쟁(interspecific competition)도 피할 수 없었을 것이며, 중고기 개체군에 비해 상대적으로 더 풍부한 참중고기 개체군의 경쟁에서 밀린 수컷들이 중고기의 산란행동에 개입하여 성공한 결과 이러한 현상이 나타난 것으로 추정된다. 특히, Yoon (2016)의 연구에서 관찰된 참중고기의 크고 강한 수컷은 1마리의 암컷과 함께 산란유형을 하지만 덜 성숙한 수컷이 산란숙주 조개 주변에서 sneaker 행동을 통해 산란행동에 개입하는 모습은 참중고기와 중고기 간 잡종이 발생하는 메커니즘을 설명하는 중요한 단서를 제공하며, 이러한 추정을 뒷받침한다.

본 연구는 중고기와 참중고기의 자연 종간잡종 발생이 단순한 우연의 산물이 아니라 다양한 원인을 통해 발생할 수 있는 현상임을 시사하며, 추가 연구를 통해 이러한 현상의 일반성을 확인하고, 참중고기를 모계로 한 자연 종간잡종 탐색, 잡종 개체의 비율 및 생식 여부 등에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 섬진강 본류와 지류인 동북천에서 채집된 중고기속(genus *Sarcocheilichthys*) 어류의 자연 종간잡종으로 추정되는 3개체와 부모종인 중고기 *S. nigripinnis morii*, 참중고기 *S. variegatus wakiyae*를 대상으로 형태학적 및 분자계통학적 분석을 실시하여 자연잡종 여부를 동정하고, 모계종과 부계종을 판별하였다. 분자계통학적 분석 결과는 자연 종간잡종으로 추정된 3개체가 중고기와 참중고기의 자연잡종을 명확히 입증하였으며, 모계종은 중고기, 부계종은 참중고기로 밝혀졌다. 자연잡종 3개체는 한 부모종에 편향되지 않는 중간 또는 고유한 형질이 형태적으로 우세하게 발현되었으며, 부모종과 구분되는 고유한 형태적 특성이 등지느러미와 꼬리지느러미에서 확인되었다. 자연잡종이 채집된 수역에서는 부모종인 중고기와 참중고기 외에도 다양한 납자루아과(Acheilognathinae) 어류와 산란숙주가 공존하고 있었다. 중고기와 참중고기의 산란시기와 산란장소 중복이 잡종 발생을 촉진한 것으로 추정되었다. 자연 종간 교잡이 단방향으로 발생한 이유는 동소종 간 경쟁과 개체수 불균형이 원인

으로 제시되었으며, 참중고기의 sneaker 행동이 중요한 메커니즘으로 제안되었다.

**저자 정보** 장지왕((주)자연환경복원연구원 선임연구원), 김재구((주)알파생태연구원 대표이사), 고재근((주)자연환경복원연구원 책임연구원), 윤봉한((주)한국생태네트워크 전임연구원), 성무성(물들이연구소 대표이사), 배양섭(인천대학교 생명과학과 교수)

**저자 기여도** 연구설계: 장지왕, 윤봉한, 조사 및 채집: 장지왕, 고재근, 성무성, 시료분석: 장지왕, 윤봉한, 자료수집: 장지왕, 김재구, 고재근, 윤봉한, 성무성, 원고작성: 장지왕, 원고검토: 김재구, 윤봉한, 배양섭

**이해관계** 이 논문에는 이해관계 충돌의 여지가 없습니다.

## REFERENCES

- Abbott, R., D. Albach, S. Ansell, J.W. Arntzen, S.J.E. Baird, N. Bierne, J. Boughman, A. Breilford, C.A. Buerkle, R. Buggs, R.K. Butlin, U. Dieckmann, F. Eroukmanoff, A. Grill, S.H. Cahan, J.S. Hermansen, G. Hewitt, A.G. Hudson, C. Jiggins, J. Jones, B. Keller, T. Marczewski, J. Mallet, P. Martinez-Rodriguez, M. Most, S. Mullen, R. Nichols, A.W. Nolte, C. Parisod, K. Pfennig, A.M. Rice, M.G. Ritchie, B. Seifert, C.M. Smadja, R. Stelkens, J.M. Szymura, R. Vainola, J.B.W. Wolf and D. Zinner. 2013. Hybridization and speciation. *Journal of Evolutionary Biology* 26(2): 229-246.
- Abbott, R.J., N.H. Barton and J.M. Good. 2016. Genomics of hybridization and its evolutionary consequences. *Molecular Ecology* 25: 2325-2332.
- Aboim, M.A., J. Mavárez, L. Bernatchez and M.M. Coelho. 2010. Introgressive hybridization between two Iberian endemic cyprinid fish: a comparison between two independent hybrid zones. *Journal of Evolutionary Biology* 23(4): 817-828.
- Allendorf, F.W. and R.S. Waples. 1996. Conservation and genetics of salmonid fishes, p. 238-280. *In: Conservation Genetics: Case Histories from Nature* (Avisé, J.C. and J.L. Hamrick, eds.). Chapman and Hall, New York, USA.
- Allendorf, F.W., R.F. Leary, P. Spruell and J.K. Wenburg. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution* 16(11): 613-622.
- Armbruster, J.W. 2012. Standardized measurements, landmarks, and meristic counts for cypriniform fishes. *Zootaxa* 3586(1): 8-16.
- Arnold, M.L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press.
- Arnold, M.L. 2004. Natural hybridization and the evolution of domesticated, pest and disease organisms. *Molecular Ecology*

- 13(5): 997-1007.
- Arnold, M.L. and A. Meyer. 2006. Natural hybridization in primates: one evolutionary mechanism. *Zoology* **109**(4): 261-276.
- Avise, J.C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* **36**(1): 3-15.
- Baek, H.M. and H.B. Song. 2005. Spawning in mussel and adaptation strategy of *Acheilognathus signifer* (Cyprinidae: Acheilognathinae). *Korean Journal of Ichthyology* **17**(2): 105-111.
- Baker, H.K., D.C. Hankins and J.B. Shurin. 2021. Introgressive hybridization erodes morphological divergence between lentic and lotic habitats in an endangered minnow. *Ecology and Evolution* **11**(19): 13593-13600.
- Barton, N.H. and G.M. Hewitt. 1985. Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**(1): 113-148.
- Billington, N. and P.D. Hebert. 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **48**(S1): 80-94.
- Bogan, A.E. 1993. Freshwater bivalve extinctions (Mollusca: Unionoida): a search for causes. *American Zoologist* **33**(6): 599-609.
- Bohling, J.H. 2016. Strategies to address the conservation threats posed by hybridization and genetic introgression. *Biological Conservation* **203**: 321-327.
- Buerkle, C.A., D.E. Wolf and L.H. Rieseberg. 2003. The origin and extinction of species through hybridization, p. 117-141. *In: Population viability in plants: Conservation, management, and modeling of rare plants*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Burke, J.M. and M.L. Arnold. 2001. Genetics and the fitness of hybrids. *Annual Review of Genetics* **35**(1): 31-52.
- Campton, D.E. 1987. Natural hybridization and introgression in fishes: Methods of detection and genetic interpretations, p. 161-192. *In: Populations genetics and fishery management* (Ryman, N. and F. Utter, eds.). University of Washington Press, Seattle.
- Ceburat, M., A. Cebula, A. Laszkiewicz, M. Kasztura, A. Miazek and P. Kisielow. 2008. Mechanism of lymphocyte-specific inactivation of RAG-2 intragenic promoter of NWC: implications for epigenetic control of RAG locus. *Molecular Immunology* **45**(8): 2297-2306.
- Chae, B.S., H.B. Song and J.Y. Park. 2019. A field guide to the freshwater fishes of Korea. LG Evergreen Foundation, Seoul, Korea, 355pp.
- Chan, W.Y., A.A. Hoffmann and M.J. van Oppen. 2019. Hybridization as a conservation management tool. *Conservation Letters* **12**(5): e12652.
- Darriba, D., G.L. Taboada, R. Doallo and D. Posada. 2012. jModel Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**: 772.
- DeMarais, B.D. and W.L. Minckley. 1992. Hybridization in native cyprinid fishes, *Gila ditaenia* and *Gila* sp., in northwestern Mexico. *Copeia* **1992**(3): 697-703.
- DeMarais, B.D., T.E. Dowling, M.E. Douglas, W.L. Minckley and P.C. Marsh. 1992. Origin of *Gila seminuda* (Teleostei: Cyprinidae) through introgressive hybridization: implications for evolution and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **89**(7): 2747-2751.
- Dowling, T.E. and B.D. DeMarais. 1993. Evolutionary significance of introgressive hybridization in cyprinid fishes. *Nature* **362**(6419): 444-446.
- Dowling, T.E. and C.L. Secor. 1997. The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* **28**(1): 593-619.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* **32**(5): 1792-1797.
- Edelman, N.B. and J. Mallet. 2021. Prevalence and adaptive impact of introgression. *Annual Review of Genetics* **55**: 265-283.
- Freyhof, J., D. Lieckfeldt, C. Pitra and A. Ludwig. 2005. Molecules and morphology: evidence for introgression of mitochondrial DNA in Dalmatian cyprinids. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **37**(2): 347-354.
- Gilles, A., C. Costedoat, B. Barascud, A. Voisin, P. Banarescu, P.G. Bianco, P.G. Economidis, D. Marić and R. Chappaz. 2010. Speciation pattern of *Telestes souffia* complex (Teleostei, Cyprinidae) in Europe using morphological and molecular markers. *Zoologica Scripta* **39**(3): 225-242.
- Gu, Z., Y. Jia, J. Ye, L. Chen, J. Zhu, X. Huang and Y. Yang. 2008. Studies on morphological characteristics and genetic analysis of the hybrid F1, *Erythroculter ilishaeformis*♂ × *Megalobrama amblycephala*♀. *Journal of Fisheries of China* **32**(4): 533-544.
- Guindon, S. and O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* **52**(5): 696-704.
- Hata, H., Y. Uemura and K. Ouchi. 2021. Decline of unionid mussels enhances hybridisation of native and introduced bitterling fish species through competition for breeding substrate. *Freshwater Biology* **66**(1): 189-201.
- Hata, H., Y. Uemura, K. Ouchi and H. Matsuba. 2019. Hybridization between an endangered freshwater fish and an introduced congeneric species and consequent genetic introgression. *PLoS One* **14**(2): e0212452.
- Hórreo, J.L., F. Ayllón, J. Perez, E. Beall and E. Garcia-Vazquez. 2011. Interspecific hybridization, a matter of pioneering? Insights from Atlantic salmon and brown trout. *Journal of Heredity* **102**(2): 237-242.
- Hubbs, C.L. 1955. Hybridization between fish species in nature. *Systematic Zoology* **4**(1): 1-20.
- Hubbs, C.L. and K.F. Lagler. 2004. Fishes of the Great Lakes region, revised edition, revised edition. The University of Michigan Press, USA.
- Hwang, Y.J., M.S. Ra and C.G. Choi. 1995. A natural hybrid be-

- tween spinous loach, *Cobitis longicorpus* and cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Pices, Cobitidae). *Korean Journal of Ichthyology* **7**(2): 203-207.
- Ingman, M. and U. Gyllenstein. 2006. Vertebrate Mitochondrial DNA. In: Reviews in Cell Biology and Molecular Medicine (Meyers, R.A. ed.). <https://doi.org/10.1002/3527600906.mcb.200500057>
- Irwin, D.M., T.D. Kocher and A.C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* **32**: 128-144.
- Jansson, H., I. Holmgren, K. Wedin and T. Anderson. 1991. High frequency of natural hybrids between Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and brown trout, *S. trutta* L., in a Swedish river. *Journal of Fish Biology* **39**: 343-348.
- Jerry, D.R., T.A. Raadik, S.C. Cairns and P.R. Baverstock. 1999. Evidence for natural interspecific hybridization between the Australian bass (*Macquaria novemaculeata*) and estuary perch (*M. colonorum*). *Marine and Freshwater Research* **50**(7): 661-666.
- Kang, E.J., H. Yang, H.H. Lee, E.O. Kim and C.H. Kim. 2007. Characteristics on spawning-host selection and early life history of *Sarcocheilichthys nigripinis morii* (Pisces, Cyprinidae). *Korean Journal of Environmental Biology* **25**(4): 370-377.
- Kim, C.H., W.O. Lee, Y.J. Kang and J.M. Baek. 2010. Occurrence of a Natural Intergeneric Hybrid, *Rhodeus uyekii* × *Acheilognathus signifer* (Pisces: Cyprinidae) from Jojongcheon Bukhan River. *Korean Journal of Ichthyology* **22**(4): 225-229.
- Kim, H.S. 2014. Spawning ecology and conservation of the Korean bitterling, *Acheilognathus signifer* (Cyprinidae) (Doctoral dissertation, PhD Thesis, Chonbuk National University, Jeonju, Korea).
- Kim, H.S., S.W. Yun, J.G. Ko and J.Y. Park. 2014a. Occurrence of a natural intergeneric hybrid between *Rhodeus pseudosericeus* and *Acheilognathus signifer* (Pisces: Cyprinidae) from the Namhangang (river), Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **26**(3): 153-158.
- Kim, H.S., J.D. Yoon, H. Yang and J.Y. Park. 2014b. Host mussel utilization for spawning of the oily shinner, *Sarcocheilichthys variegatus wakiyae* (Pisces: Cyprinidae), inhabiting the Dalcheon, Namhangang (river) from Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **26**(4): 288-294.
- Kim, H.S., S.W. Yun, H.T. Kim and J.Y. Park. 2015a. Occurrence of a natural hybrid between *Acheilognathus signifer* and *A. lanceolatus* (Pisces: Cyprinidae). *Korean Journal of Ichthyology* **27**(3): 199-204.
- Kim, H.S., J.G. Ko, W.S. Choi and J.Y. Park. 2015b. Population ecology of Korean rose bitterling, *Rhodeus uyekii* (Pisces: Acheilognathinae) in the Bongseocheon, Mankyeonggang (river), Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **27**(2): 78-85.
- Kim, I.S. 1997. Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korean Vol. 37 Freshwater Fishes. Korea Ministry of Education, Seoul, 629pp.
- Kim, I.S. and C.L. Lee. 1984. Review of the classification of the cyprinid, genus *Sarcocheilichthys* from Korea. *Korean Journal of Limnology* **17**(1): 57-64.
- Kim, I.S., Y. Choi, C.L. Lee, Y.J. Lee, B.J. Kim and J.H. Kim. 2005. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Publishing, Seoul, 615pp.
- Kim, K.Y. and I.C. Bang. 2010. Molecular phylogenetic position of *Abbottina springeri* (Cypriniformes: Cyprinidae) based on nucleotide sequences of *RAG1* gene. *Korean Journal of Ichthyology* **22**(4): 273-278.
- Kim, K.Y., M.H. Ko, S.J. Cho, W.J. Kim, M.H. Son and I.C. Bang. 2015c. A natural hybrid of intergeneric mating between a female *Pungtungia herzi* and a male *Pseudorasbora parva* (Cypriniformes: Cyprinidae). *Fisheries and Aquatic Sciences* **18**(1): 99-107.
- Kim, P., J.H. Han and S.L. An. 2020. Genetic identification of species and natural hybridization determination based on mitochondrial DNA and nuclear DNA of genus *Zacco* in Korea. *Mitochondrial DNA Part A* **31**(6): 221-227.
- Kim, Y.H. 2020. Phylogeny and molecular evolution of the genus *Sarcocheilichthys* (Teleostei: Cypriniformes) from Korea. Soonchunhyang University, Asan.
- Kim, Y.H., M.S. Sung, B.H. Yun and I.C. Bang. 2021. Occurrence of a natural intergeneric hybrid between a female *Tanakia lanceolata* and a male *Rhodeus pseudosericeus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in Daechoncheon stream flowing into the Yellow Sea in the Republic of Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **33**(2): 45-56.
- Kirczuk, L. and J. Domagała. 2011. Morphometric characterization of reciprocal hybrids of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and sea trout, *Salmo trutta* L., in the freshwater period of life. *Fisheries & Aquatic Life* **19**(4): 285-295.
- Kwak, Y.H., K.Y. Kim, K.S. Kim and H.Y. Song. 2020. Occurrence of a natural interspecific hybrid between *Rhodeus pseudosericeus* and *R. notatus* in Sangcheon Stream of the Han River, Korea. *Korean Journal of Ecology and Environment* **53**(3): 275-285.
- Kwan, Y.S., M.H. Ko and Y.J. Won. 2014. Genomic replacement of native *Cobitis lutheri* with introduced *C. tetralineata* through a hybrid swarm following the artificial connection of river systems. *Ecology and Evolution* **4**(8): 1451-1465.
- Kwan, Y.S., M.H. Ko, Y.S. Jeon, H.J. Kim and Y.J. Won. 2018. Bidirectional mitochondrial introgression between Korean cobitid fish mediated by hybridogenetic hybrids. *Ecology and Evolution* **9**(3): 1244-1254.
- Kwon, O.K. 1990. Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korean Vol. 32 MOLLUSCA (I). Korea Ministry of Education, Seoul, 446pp.
- Leary, R.F. 1995. Hybridization and introgression between introduced and native fish. *American Fisheries Society Symposium* **15**: 91-101.
- Lee, I.R., H. Yang, J.H. Kim, K.Y. Kim and I.C. Bang. 2009. Iden-

- tification 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. *Korean Journal of Ichthyology* **21**(4): 287-290.
- Lee, J.S. and D.K. Min. 2019. Non-Marine Mollusks of Korea. Slow & Steady Publishing Co, Seoul, Korea, 198pp.
- Lehtinen, R.M., A.F. Steratore, M.M. Eyre, E.S. Cassagnol, M.L. Stern and H.A. Edgington. 2016. Identification of wide-spread hybridization between two terrestrial salamanders using morphology, coloration, and molecular markers. *Copeia* **104**(1): 132-139.
- Levin, D.A., J. Francisco-Ortega and R.K. Jansen. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. *Conservation Biology* **10**(1): 10-16.
- Li, W., A.F. Averette, M. Desnos-Ollivier, M. Ni, F. Dromer and J. Heitman. 2012. Genetic diversity and genomic plasticity of *Cryptococcus neoformans* AD hybrid strains. *G3: Genes|Genomes|Genetics* **1**: 83-97.
- Liu, Q., X. Zhang, J. Liu, F. Liu, F. Shi, Q. Qin, M. Tao, C. Tang and S. Liu. 2021. A new type of allodiploid hybrids derived from female *Megalobrama amblycephala* × male *Gobiocypris rarus*. *Frontiers in Genetics* **12**: 685914.
- Mallet, J. 2005. Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution* **20**(5): 229-237.
- Mallet, J. 2007. Hybrid speciation. *Nature* **446**(7133): 279-283.
- MolluscaBase eds. 2024. MolluscaBase. Accessed at <https://www.molluscabase.org> on 2024-06-10. <https://doi.org/10.14284/448>
- Muhlfeld, C.C., T.E. McMahon, D. Belcer and J.L. Kershner. 2009. Spatial and temporal spawning dynamics of native west-slope cutthroat trout, *Oncorhynchus clarkii lewisi*, introduced rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and their hybrids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **66**(7): 1153-1168.
- NIBR (National Institute of Biological Resources). 2019a. Invertebrate fauna of Korea. v.19, n.7, Bivalves III: Mollusca: Bivalvia: Unionoida: Unionidae Veneroida: Kelliellidae, Trapeziidae, Cyrenidae, Glauconomidae, Sphaeriidae, Glossidae, Veneridae. Incheon, Korea.
- NIBR (National Institute of Biological Resources). 2019b. Red data book of Republic of Korea, Volume 3. Freshwater fishes. Ministry of Environment, National institute of Biological Resources, Incheon, Korea, 250pp.
- Niedzicka, M.E., B.M. Głowacki, P. Zieliński and W. Babik. 2020. Morphology is a poor predictor of interspecific admixture - the case of two naturally hybridizing newts *Lissotriton montandoni* and *Lissotriton vulgaris* (Caudata: Salamandridae). *Amphibia-Reptilia* **41**(4): 489-500.
- Nikoljukin, M.J. 1972. Distant hybridization in Acipenseridae and Teleostei, theory and practice, Moscow.
- Pacheco, N.M., B.C. Congdon and V.L. Friesen. 2002. The utility of nuclear introns for investigating hybridization and genetic introgression: a case study involving *Brachyramphus murrelets*. *Conservation Genetics* **3**: 175-182.
- Peitts, C.S., D.R. Jordan, I.G. Cowx and N.V. Jones. 1997. Controlled breeding studies to verify the identity of roach and common bream hybrids from a natural population. *Journal of Fish Biology* **51**(4): 686-696.
- Perez, J., J.L. Martinez, P. Moran, E. Beall and E. Garcia-Vazquez. 1999. Identification of Atlantic salmon × brown trout hybrids with a nuclear marker useful for evolutionary studies. *Journal of Fish Biology* **54**(2): 460-464.
- Perry, W.L., D.M. Lodge and J.L. Feder. 2002. Importance of hybridization between indigenous and nonindigenous freshwater species: an overlooked threat to North American biodiversity. *Systematic Biology* **51**(2): 255-275.
- Pinheiro, A.P.B., R.M.C. Melo, D.F. Teixeira, J.L.O. Birindelli, D.C. Carvalho and E. Rizzo. 2019. Integrative approach detects natural hybridization of sympatric lambaris species and emergence of infertile hybrids. *Scientific Reports* **9**(1): 4333.
- Polyakova, N.E., A.V. Semina and V.A. Brykov. 2015. Analysis of mtDNA and nuclear markers points to homoploid hybrid origin of the new species of Far Eastern redfins of the genus *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae). *Russian Journal of Genetics* **51**: 1075-1087.
- Rambaut, A. 2018. FigTree. Version 1.4.4. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A., A.J. Drummond, D. Xie, G. Baele and M.A. Suchard. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* **67**(5): 901-904.
- Randall, J.E. 1956. *Acanthurus rackliffei*, a possible hybrid surgeon fish (*A. Achilles* × *A. glaucopareius*) from the Phoenix Islands. *Copeia* **1956**: 21-25.
- Rhymer, J.M. and D. Simberloff. 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**(1): 83-109.
- Rieseberg, L.H., S. Zona, L. Abernomb and T.D. Martin. 1989. Hybridization in the island endemic, Catalina mahogany. *Conservation Biology* **3**(1): 52-58.
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. Van Der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M.A. Suchard and J.P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**(3): 539-542.
- Ross, M.R. and T.M. Cavender. 1981. Morphological analyses of four experimental intergeneric cyprinid hybrid crosses. *Copeia* **2**: 377-387.
- Samarasinghe, H., M. You, T.S. Jenkinson, J. Xu and T.Y. James. 2020. Hybridization facilitates adaptive evolution in two major fungal pathogens. *Genes* **11**(1): 101.
- Santos-Santos, J.H., L. Audenaert, E. Verheyen and D. Adriaens. 2021. Ontogenetic divergence generates novel phenotypes in hybrid cichlids. *Journal of Anatomy* **238**(5): 1116-1127.

- Schwenk, K., N. Brede and B. Streit. 2008. Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **363**(1505): 2805-2811.
- Scribner, K.T., K.S. Page and M.L. Bartron. 2001. Hybridization in freshwater fishes: a review of case studies and cytonuclear methods of biological inference. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **10**: 293-323.
- Seehausen, O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution* **19**(4): 198-207.
- Smith, G.R. 1992. Introgression in fishes: significance for paleontology, cladistics, and evolutionary rates. *Systematic Biology* **41**(1): 41-57.
- Song, H.B. and O.K. Kwon. 1994. Spawning of the bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* (Cyprinidae) into the mussel. *Korean Journal of Ichthyology* **6**(1): 39-50.
- Song, H.Y., J.H. Kim, I.Y. Seo and I.C. Bang. 2017. Species and hybrid identification of Genus *Coreoleuciscus* species in Hwnag-ji Stream, Nakdong River basin in Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **29**(1): 1-12.
- Sonnenberg, R., A. Nolte and D. Tautz. 2007. An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers in Zoology* **4**: 1-12.
- Šorić, V.M. 2004. A natural hybrid of *Leuciscus cephalus* and *Alburnus alburnus* (Pisces, Cyprinidae) from the Ibar River, Western Serbia. *Archives of Biological Sciences* **56**(1-2): 23-32.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30**(9): 1312-1313.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* **15**(5): 199-203.
- Taylor, S.A. and E.L. Larson. 2019. Insights from genomes into the evolutionary importance and prevalence of hybridization in nature. *Nature Ecology & Evolution* **3**(2): 170-177.
- Uemura, Y., S. Yoshimi and H. Hata. 2018. Hybridization between two bitterling fish species in their sympatric range and a river where one species is native and the other is introduced. *PLoS One* **13**(9): e0203423.
- Ünver, B., H. Tatlıdil and F. Erk'akan. 2008. Biometrical features of intergeneric hybrid between *Leuciscus cephalus* (L.) and *Chalcalburnus chalcoides* (G.) (Osteichthyes-Cyprinidae) distributed in Lake Tödürge (Sivas-Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **8**(2): 207-213.
- Verspoor, E. and J. Hammar. 1991. Introgressive hybridization in fishes: the biochemical evidence. *Journal of Fish Biology* **39**: 309-334.
- Vilà, C., C. Walker, A.K. Sundqvist, Ø. Flagstad, Z. Andersone, A. Casulli, I. Kojola, H. Valdmann, J. Halverson and H. Ellegren. 2003. Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf-dog hybrids. *Heredity* **90**(1): 17-24.
- Vilaça, S.T. and F.R.D. Santos. 2013. Molecular data for the sea turtle population in Brazil. *Dataset Papers in Science* **2013**: 1-7.
- Vuillaume, B., V. Valette, O. Lepais, F. Grandjean and M. Breuil. 2015. Genetic evidence of hybridization between the endangered native species *Iguana delicatissima* and the invasive *Iguana iguana* (Reptilia, Iguanidae) in the Lesser Antilles: management implications. *PLoS One* **10**(6): e0127575.
- Wang, J., G. Yang and G. Zhou. 2013. Quantitative trait loci for morphometric body measurements of the hybrids of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*H. nobilis*). *Acta Biologica Hungarica* **64**: 169-183.
- Watters, G.T. 1996. Small dams as barriers to freshwater mussels (Bivalvia, Unionoida) and their hosts. *Biological Conservation* **75**(1): 79-85.
- Witkowski, A., J. Kotusz, K. Wawer, J. Stefaniak, M. Popiołek and J. Błachuta. 2015. A natural hybrid of *Leuciscus leuciscus* (L.) and *Alburnus alburnus* (L.) (Osteichthyes: Cyprinidae) from the Bystrzyca River (Poland). *Annales Zoologici* **65**(2): 287-293.
- Yang, H. 2004. Ecology and speciation of two Korean bitterlings, *Acheilognathus koreensis* and *A. somjinensis* (Pisces: Cyprinidae) from Korea. Ph. D. dissertation, Chonbuk National University, Jeonju, Korea.
- Yoon, J.D. 2016. Oviposition-Host selection and oviposition characteristic of *Sarcocheilichthys variegatus wakiyae* (Cyprinidae: Gobioninae). Master Thesis, Kunsan National University, 35pp.
- Yun, B.H., M.S. Sung, Y.H. Kim and I.C. Bang. 2021. A study on the natural interspecific hybrid between *Rhodeus notatus* and *R. ocellatus*. *Korean Journal of Ichthyology* **33**(3): 157-166.
- Zbinden, Z.D., M.R. Douglas, T.K. Chafin and M.E. Douglas. 2023. A community genomics approach to natural hybridization. *Proceedings of the Royal Society B* **290**(1999): 20230768.