

# 국내에서 유통되는 미꾸리과(Cobitidae) 어종의 분자동정 모니터링

김현석 · 신지영 · 양준호 · 차은지 · 양지영\*

부경대학교 식품공학과

## Genetic Identification Monitoring of Cobitidae Distribution in Korea

Hyunsuk Kim, Jiyoung Shin, Junho Yang, Eunji Cha and Ji-young Yang\*

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

This study aimed to monitor the distribution of Cobitidae in Korea by the identification of species using genetic analysis. Based on the genetic analysis, Cobitidae species in four of five domestic fish farms consisted of only Chinese muddy loach *Misgurnus mizolepis*, but muddy loach *Misgurnus anguillicaudatus* was also present in one fish farm. In the case of imported Cobitidae species, in addition to Chinese muddy loach and muddy loach, the harmful species *Paramisgurnus dabryanus*, was also present. Chinese muddy loach accounted for 20%, 67%, and 60% of the S6, S7, and S8 samples, respectively. An analysis of the total length, body length, and weight showed that domestic Chinese muddy loach showed higher values than imported muddy loach, and imported Chinese muddy loach showed similar values to *P. dabryanus*. There were no significant differences in the country of origin of the three species. Thus, the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene sequence was analyzed and compared the verification of species identification. The three species of Cobitidae were genetically divided into three groups and determined to have genetic differences. These results indicate that it is necessary to reduce the heterogeneous mixing rate through discriminating species by genetic analysis.

Keywords: Cobitidae, Monitoring, Species identification, Genetic method

### 서론

국내에서 서식하는 미꾸리과(Cobitidae) 어류 중 수산물로 이용되는 종은 대표적으로 미꾸리속(*Misgurnus*) 2종, 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)와 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)가 있다(Yang et al., 1994). 예로부터 미꾸리속 어류는 풍미가 좋고 단백질, 무기질, 비타민 등이 풍부하여 영양학적으로 우수하다고 알려져 있어, 전통 보양식품인 추어탕의 재료로 많이 이용되고 있다(Park et al., 1994; Park et al., 1997). 국내 서식지로는 부안, 남원, 원주 등 국내 하천 하류 영역의 모래나 진흙이 깔린 곳이며, 국외에는 중국, 일본 등에 분포하고 있다(Song et al., 2017). 국내 미꾸리속 어류의 유통은 주로 미꾸라지 양식을 통하여 이루어지고 있다(Kim and Park, 2017). 1980년대, 농업진흥청 농민 농외소득사업으로 부안에서부터 성황리에 널리 퍼지게 되었으나, 자연산 종묘와 전문화된 시설의 부족 그리

고 중국산 미꾸라지의 수입으로 인해 국내 미꾸라지 양식산업은 점점 어려움을 겪고 있는 실상이다. 우리나라 미꾸라지 양식은 체계화가 잡히지 않은 채로 시작했기 때문에, 미꾸라지와 미꾸리가 구분되지 않은 채 양식돼 왔고, 개체 및 용어 분간이 쉽지 않아 구분하는 데 혼란을 겪고 있다(Inland Aquaculture Research, 2000). 수입산 미꾸라지의 주 수입국은 중국으로 장시성, 장쑤성, 후베이성 등의 지역에서 주로 양식되고 있으며, 각 지역에서 대량으로 수입되어 오면서 출처가 정확하지 않고, 육안으로 구분이 어려운 교잡종이 섞여 들어오는 경우가 있다. 이와 함께 국내에 서식하지 않는 위해우려종인 *Paramisgurnus dabryanus*이 함께 수입되면서 생태계 교란의 우려를 겪고 있다(Dong et al., 2014; Kim et al., 2022). 분명히 다른 종임에도 불구하고 진위 판별이 잘되지 않고 사람들의 의식 측면에서도 종 판별에 대한 필요성이 인식되지 않고 있지만, 생물자원의 품질 관리 및 식품유통 질서유지 등의 이유로 어종식별에 대한 모니

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5828 Fax: +82. 51. 629. 5824

E-mail address: jyyang@pknu.ac.kr



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

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0742>

Korean J Fish Aquat Sci 55(5), 742-750, October 2022

Received 11 May 2022; Revised 5 July 2022; Accepted 13 September 2022

저자 직위: 김현석(대학원생), 신지영(연구원), 양준호(연구원), 차은지(대학원생), 양지영(교수)

터링이 필요하다.

이종 판별을 위한 방법으로 형태학적 분석, 이화학적 분석, 단백질 분석 등의 방법이 보고되고 있다(Kim et al., 2014a, 2014b). 그중 유전자 분석법은 고유한 염기서열 정보를 분자 마커로 설정하여 판별해 내는 기술로, 방법이 보다 정확하고 빠르게 동정할 수 있어 활발하게 이용되고 있다(Chung et al., 2017; Yu et al., 2019). 특히 종 특이적 프라이머를 이용하여 유사 어종을 판별하는 연구가 많이 진행되고 있고(Eun et al., 2016; Park et al., 2018), COI (Cytochrome c oxidase subunit I) 유전자 영역을 이용한 염기서열에 관한 연구가 수산물 종 판별에 활용되고 있으며(Song et al., 2017; Park et al., 2020), 최종 판별된 종의 추가 검증에 위해 계통수 분석을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Kang, 2021). 미꾸리속 어류에 대한 국내 연구의 경우 분자계통학적 방법을 이용한 연구가 수행되고 있고(Yang et al., 1994), 또한 미꾸라지와 미꾸리의 염색체는 각각 2n=48, 2n=50으로 염색체 수가 다른 특징이 있어(Lee et al., 1994), 분자생물학적 특성에 따라 정확한 종 구분이 가능하다.

따라서 본 연구는 국내 미꾸리과 어류 양식산업의 유통실태 조사를 위해 유통되는 미꾸리과 어류를 원산지 및 지역별로 수집하여 유전자 분석법으로 종을 식별하고, 종별 형태학적 특성 분석을 통해 종 특이성을 모니터링하였다.

## 재료 및 방법

### 양식장 선정 및 실험어 확보

본 연구는 2021년도 전라북도 소재의 미꾸라지 양식장 3개소와 전라남도 소재의 양식장 1개소, 그리고 경기도 소재의 양식장 1개소를 선정하여 국내산 실험어를 확보하고, 국내 시장에서 유통 중인 중국산 미꾸라지 실험어를 확보하여 유통 방법에 따라 비교 분석하였다(Table 1).

### 계측형질 측정과 시료 전처리

계측형질 조사를 위해 지역별로 무작위 45개체를 선정하여 외부 형태 특성을 파악한 후, 전장과 체장을 0.01 cm까지 측정하였고 무게를 0.01 g까지 각각 측정하였다. 각 시료의 꼬리지느러미는 따로 채취하여 -80°C에 보관하여 사용하였다.

### Genomic DNA 추출

채취한 각 시료의 꼬리지느러미의 일부를 절단하여 Accu-Prep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 추출하였다. 추출한 genomic DNA는 분석 전까지 -20°C에 보관하였다.

### Multiplex PCR 분석

미토콘드리아 DNA의 COI 유전자 영역을 대상으로 하여 국립수산물품질관리원에서 개발된 종 특이적 프라이머(특허출원번호, 10-2019-0044741)를 이용하였다(Table 2). PCR (polymerase chain reaction) 증폭 반응은 genomic DNA 1 µL, 각 forward primer 1 µL (10 pmole), reverse primer 1 µL (10 pmole), prime taq premix (2X) (Genetbio Corporation, Daejeon, Korea) 10 µL, 총용량이 20 µL가 되도록 distilled water를 첨가하여 준비하였다. PCR 기기는 AllInOneCycler™ (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하였으며, PCR 반응조건으로는 95°C에서 10분간 초기 변성한 후, 95°C에서 1분, 58°C에서 1분, 72°C에서 1분을 30회 반복하였고 마지막으로 72°C에서 7분간 신장 반응하였다. 증폭된 PCR 산물을 확인하기 위해 1.5% agarose gel에 PCR product 2 µL를 로딩하고 110 V에서 20분간 전기영동 한 뒤, Lab Touch™ LED Transilluminator (Korea Ace Scientific, Seoul, Korea)를 이용하여 DNA 밴드를 확인하였다. 종 판은 818 bp의 밴드가 확인되면 *P. dabryanus*, 669 bp가 확인되면 미꾸라지(*M. mizolepis*), 486 bp가 확인되면 미꾸리

Table 1. Country of origin, location of purchase, type of product of Cobitidae

NO.	Country of origin	Location of purchase	Type of product
S1		Jeollabuk-do	Live fish
S2		Jeollabuk-do	Live fish
S3	Korea	Gyeonggi-do	Live fish
S4		Jeollanam-do	Live fish
S5		Jeollabuk-do	Frozen
S6		Seoul	Live fish
S7	China	Busan	Live fish
S8		Seoul	Frozen

Table 2. Information of species-specific primer used in this study

Species	Target region	Primer	Primer Sequence (5'→3')	Length (bp)
<i>Misgurnus mizolepis</i>	COI	MA-COI-F	CGR AAY CTA AAC ACC ACC TTT	818
		MMA-COI-R	AAC TAC ATAATA TGT GTC RTG GAG	
<i>M. anguillicaudatus</i>	COI	MM-COI-F	CTC GCA GGT RTT TCT TCAATT	669
		MMA-COI-R	AAC TAC ATAATA TGT GTC RTG GAG	
<i>Paramisgurnus dabryanus</i>	COI	PD-COI-F	CTG CCA CCC TCA TTT CTA CTA	486
		MMA-COI-R	AAC TAC ATAATA TGT GTC RTG GAG	



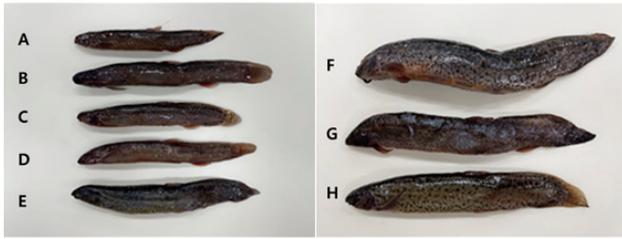


Fig. 2. Lateral view of Cobitidae. A, S1; B, S2; C, S3; D, S4; E, S5; F, S6; G, S7; H, S8.

은 모든 항목에서 *P. dabryanus*, 미꾸라지, 미꾸리 순으로 높은 값을 나타내었지만, *P. dabryanus*과 미꾸라지 간 큰 차이가 나지 않는 양상을 보였다. 원산지별 통계 분석 결과, 국내산과 중국산 미꾸라지 사이의 형질계수는 매우 유사하였고, 미꾸리의 경우, 국내산이 중국산보다 무게에서 높은 값을 나타내었지만 차이는 다소 크지 않는 특징을 보였다(Fig. 3).

염기서열 비교 및 유연관계 분석

확보한 COI 유전자 염기서열의 양쪽 단말을 동일하게 정리하여 400 bp의 염기배열을 얻어 비교 분석한 결과(Fig. 4), 계통도 상에서 각 조사지역의 판별된 해당 종끼리 3개의 집단으로 명확히 구분되면서 group을 이루었는데, Clade I은 미꾸라지로 유집되었고, Clade II는 *P. dabryanus*, Clade III은 미꾸리로 분리되었다(Fig. 5). 미꾸라지 계통군은 미꾸리 군집과는 거리가 멀게 유집되었으나, *P. dabryanus* 군집과 가깝게 유집되었다.

미꾸리과 어종의 개체군 사이에서의 유전적 유연관계를 *p*-distance로 나타낸 결과는, 미꾸라지 내에서 0-0.008이었고, 미꾸리 내에서는 0.003-0.087, *P. dabryanus* 내에서는 0-0.008을 나타내었다. 미꾸라지와 미꾸리 사이의 *p*-distance는 0.145-0.173을 보였고, 미꾸라지와 *P. dabryanus* 사이는 0.031-0.044, 미꾸리와 *P. dabryanus* 사이의 거리는 0.150-0.163의 범위

를 보였다. 자가사리의 지역 개체군의 분자진화적 유연관계에 따르면(Kim et al., 2006), 가까운 개체군간의 *p*-distance는 0.002-0.009, 거리가 있는 개체군간은 0.047-0.057 값을 보여주고 있고, 오스트레일리아에 서식하는 모기를 대상으로한 연구에서 동일한 종끼리는 0.008-0.076의 값을 가지는 것으로 나타내었다(Batovska et al., 2016). 이와 비교하여, 미꾸리과 3종 각각 개체군내에선 군집을 이루는 모습을 보이고 있다. 종간 비교한 결과, 미꾸리는 미꾸라지 및 *P. dabryanus*와 유전적 거리는 멀게 측정되었으나, 미꾸라지와 *P. dabryanus*간 거리는 다른 속에도 불구하고 가까운 모습을 보이고 있다(Table 6).

고찰

본 연구는 국내에서 유통되고 있는 미꾸리과 어류에 대한 분자동정 모니터링을 실시하였다. 총 8개의 집단의 360개체를 대상으로 분석을 행하였으며, 유전학적 방법을 이용하여 종 판별을 실시하고, 구분된 종에 대한 형태학적 특징 분석 및 유전적 근연관계에 대하여 조사하였다.

미꾸라지와 미꾸리는 자연산 종묘를 통한 양식이 진행되어 유통 중 혼종 가능성이 있고(Inland Aquaculture Research, 2000), 또한 최근 중국에서 수입되는 미꾸라지에 *P. dabryanus*가 혼합되어 유통되고 있다는 보고가 있다(Kim et al., 2022). 본 연구의 Multiplex PCR 실험결과, 국내산 미꾸라지에 대한 미꾸리 혼입률은 약 3%밖에 되지 않았지만 수입산 미꾸라지의 미꾸리와 *P. dabryanus*의 혼입율은 약 48%에 달하였다. 따라서 중국 수입산 어종에서 높은 이종 혼입률로 인해 국내 미꾸리과 어종의 교잡 및 생태계 교란을 가져올 수 있을 것으로 판단되었다.

형태학적 구조는 어류의 식별에 있어서 가장 기초적인 방법 중 하나이다(Begg and Waldman, 1999). 미꾸라지, 미꾸리, *P. dabryanus*의 형태는 모두 기늘고 측편된 형태를 가지며 또한 무늬는 다양하여 차이를 식별하기엔 어려움이 있었다. 미꾸라지

Table 4. Total length, standard length, body weight of domestic Cobitidae

No.	<i>Misgurnus mizolepis</i>					<i>M. anguillicaudatus</i>
	S1	S2	S3	S4	S5	S2
Total length (cm)	16.08±1.32	12.49±1.27	16±1.68	15.25±1.75	15.53±1.32	12.42±1.17
Standard length (cm)	14.44±1.26	10.92±1.23	14.23±1.57	13.50±1.60	13.76±1.26	10.82±1.15
Body weight (g)	21.6±5.36	9.92±2.37	17.87±6.01	14.59±6.52	30.17±8.48	8.99±2.16

Table 5. Total length, standard length, body weight of imported Cobitidae

No.	<i>Misgurnus mizolepis</i>			<i>M. anguillicaudatus</i>		<i>Paramisgurnus dabryanus</i>		
	S6	S7	S8	S7	S8	S6	S7	S8
Total length (cm)	16.63±2.17	14.87±1.89	12.98±2.52	11	9	16.48±2	14.19±1.19	13.31±2.26
Standard length (cm)	14.88±1.97	13.12±1.90	11.29±2.31	9.5	7.6	14.62±1.97	12.49±1.15	11.72±2.12
Body weight (g)	34.31±18.18	16.84±7.25	15.83±12.24	5.5	3	30.55±12.25	16.02±4.57	19.08±11.71

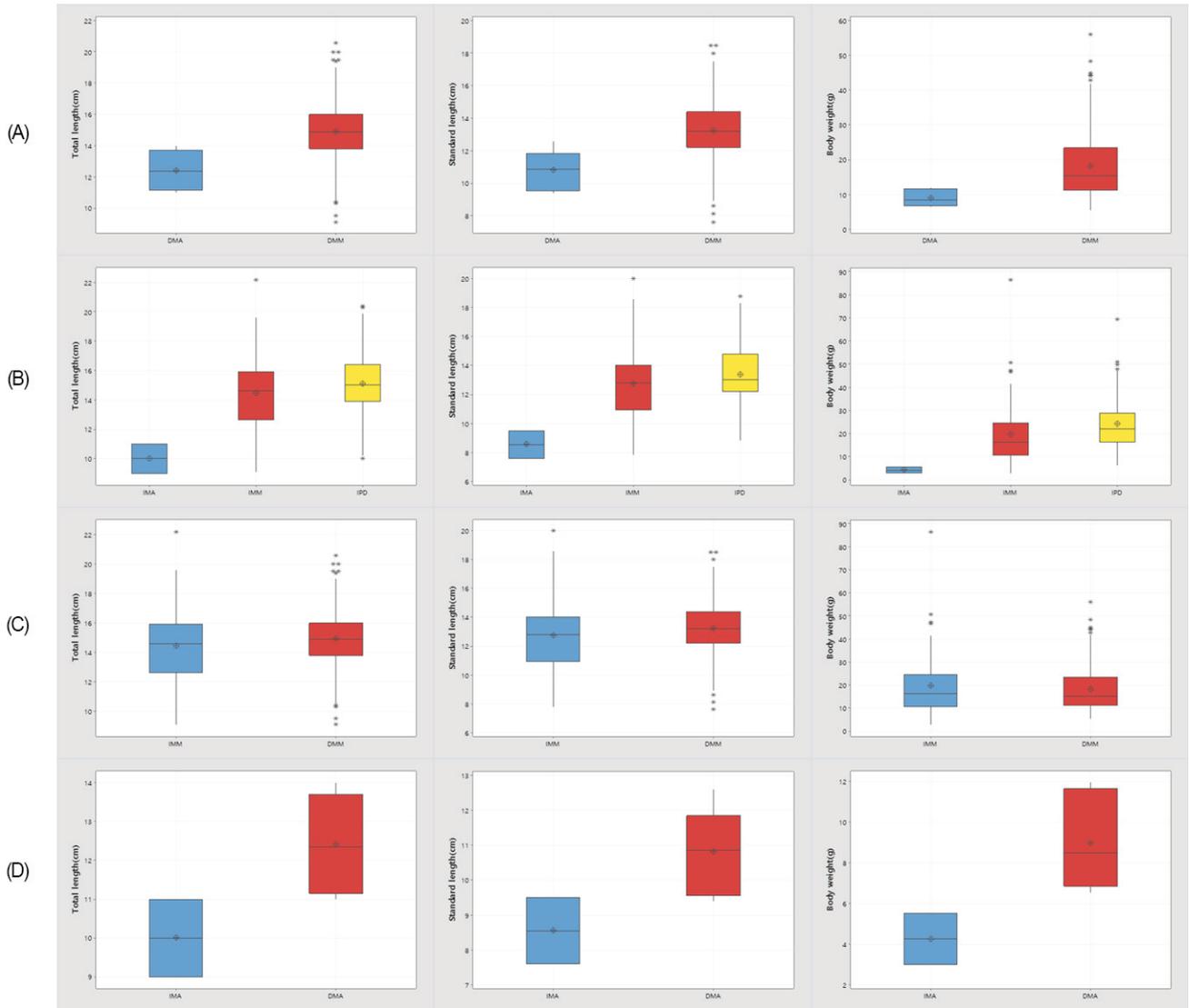


Fig. 3. Differences observed in morphological coefficient. A, Domestic *Misgurnus mizolepis* and *M. anguillicaudatus*; B, Imported *M. mizolepis*, *M. anguillicaudatus* and *Paramisgurnus dabryanus*; C, Domestic and Imported *M. mizolepis*; D, Domestic and imported *M. anguillicaudatus*.

와 미꾸리간 계층형질의 유의적인 차이가 있었으나, 성장 및 시기에 따라 영향을 미칠 수 있는 요소이기 때문에 이는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료되었다. 또한 클러스터링 분석을 통해 미꾸리와 *P. dabryanus*간 형태학적으로 높은 유사성을 가지고 있다는 보고가 있다(Yi et al., 2017). 따라서 미꾸리와 어종 사이에 채색, 무늬, 측편정도에 따른 차이점이 있지만, 형태학적 특성을 통해 효과적으로 종을 판별하기는 제한적일 것으로 판단되었다(Kirsch et al., 2018).

Perdices et al. (2012)는 미꾸라지가 *P. dabryanus* 계통군에 포함이 되면서 상대적으로 낮은 유전적 거리를 가지고 있다고 보고하였고, Vasil'eva (2001)는 미꾸라지가 *P. dabryanus*의 하위

동의어라고 주장하였으며, 또한 2종은 계통적으로 동일한 기원으로 나타낸 보고도 있다(Yang et al., 1994). 본 연구의 염기서열 비교 및 유연관계 분석 결과에서도 미꾸라지와 *P. dabryanus*간 상대적으로 가까운 근연관계를 나타내고 있지만, 종 특이적 프라이머를 활용한 식별을 통해 3종 각각 근집화를 이루며 단계통군을 이루었고, 미꾸라지와 어류 3종의 계통분류에 관한 Yang et al. (1994)의 연구에서 단계통을 이룬 결과와 동일한 양상을 보여주어, 미꾸라지 종을 판별하는데 유전학적 방법을 활용하는 것이 효과적인 방법으로 판단된다.

최근 3년간 국내 미꾸라지류의 생산량은 2013톤으로, 국내 내수면어업의 생산량의 약 34% (108,896톤)을 차지하고 있지만

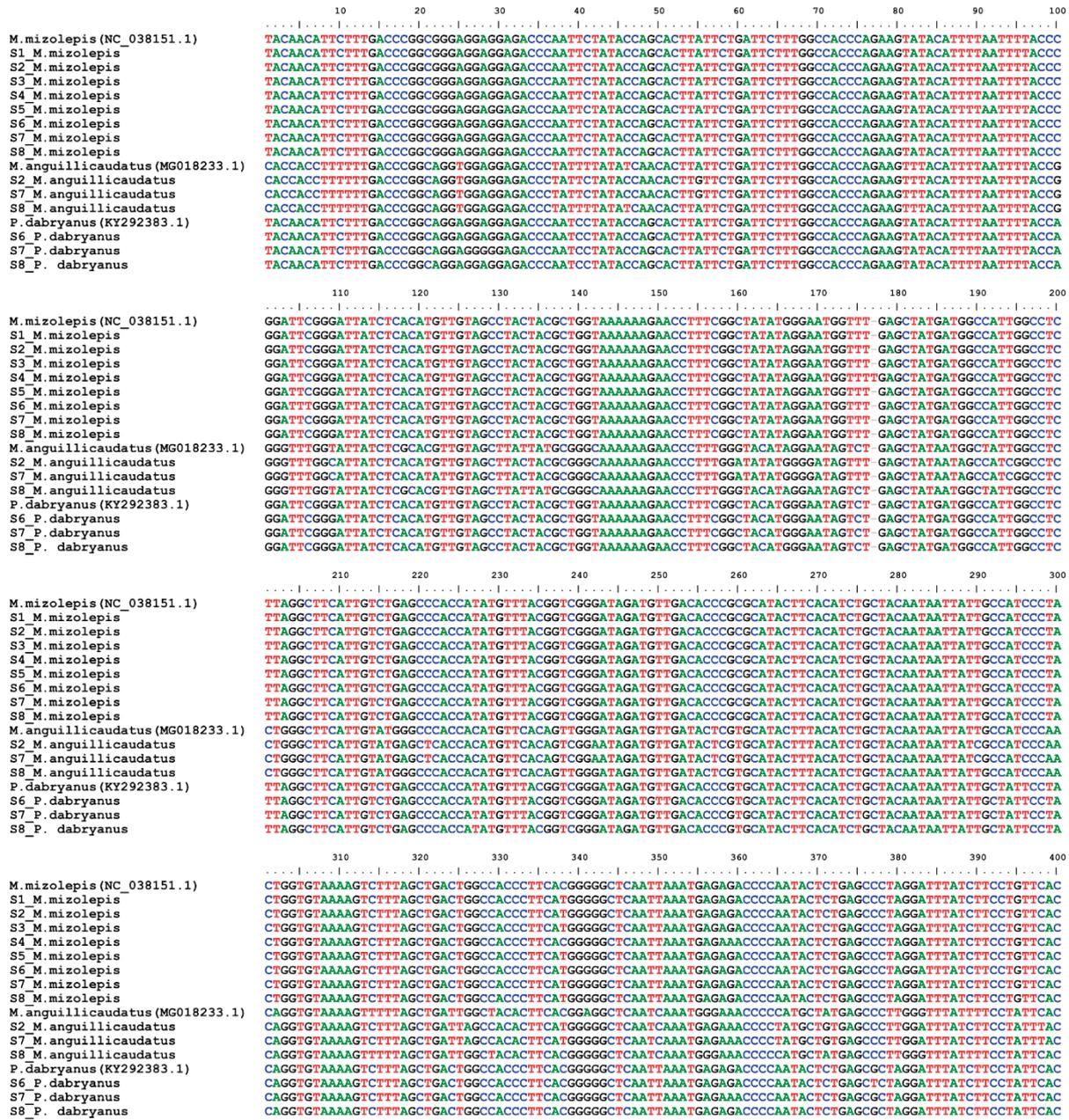


Fig. 4. Nucleotide sequence alignment of the mitochondrial COI gene of Cobitidae. COI, Cytochrome c oxidase subunit I.

(KOSIS, 2022), 중국에서 수입되는 활미꾸라지의 수입량은 식 용 23.327톤으로 약 11배 수준에 달하고 있다(NFQS, 2022). 따 라서 부정유통을 단속하기 위하여 유통 전 많은 개체를 대상으 로 이종 혼입률을 낮추기 위해 신속하고 정확한 종 판별이 필요 할 것으로 사료된다. 먼저 수입되는 미꾸라지의 유통과정에 대 한 모니터링을 실시하여 어느 단계에서 이종 혼입이 발생하는 지 파악해야 한다. 수입업체에서 중국산 미꾸라지를 구입하여 포장 및 판매를 실시하거나, 국내 양식장으로 이송하여 단기간

보관 후 출하 및 3개월간 양식 후 국내산으로 원산지를 전환하 여 출하하는 단계를 따른다. 따라서 수입물품유통이력 관리시 스템을 활용하여 수입되는 미꾸라지의 유통 경로를 파악하는 것이 중요할 것으로 판단된다. 또한 최근 미토콘드리아 DNA 를 활용하여 종 분류 및 식별을 실시하기 위한 DNA칩 개발과 관련된 연구들이 보고되고 있다(Chen et al., 2014; Kim et al., 2011). 기기에 심어진 종 특이적 프로브와 시료의 상보적인 염 기서열과 반응하는 양상을 통해 분석하는 방법으로서, 다수의 검

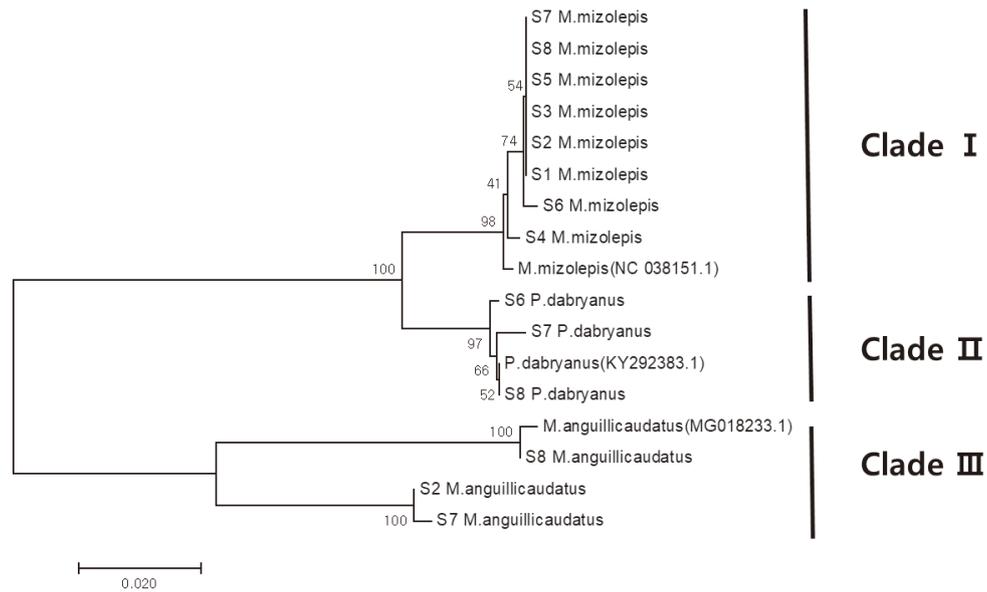


Fig. 5. Neighbor joining phylogenetic tree based on sequences of the mitochondrial COI gene of Cobitidae. COI, Cytochrome c oxidase subunit I.

체를 단시간에 분석할 수 있는 장점이 있어 현장에서 이종 판별을 위한 효율적인 운영이 가능할 것으로 판단된다. 아직 미꾸라지와 어종을 대상으로 이러한 DNA칩에 대한 연구는 미비한 실정

이다. 따라서 추가적인 연구를 통해, 현장 모니터링에 따라 국내에서 발생하는 불량식품 발생사례를 예방하여 수산물 유통질서를 확립할 필요가 있다.

Table 6. Pairwise distance among Cobitidae populations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Misgurnus mizolepis</i> (NC_038151.1)	-															
S1_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	-														
S2_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.000	-													
S3_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.000	0.000	-												
S4_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.005	0.005	0.005	-											
S5_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	-										
S6_ <i>M. mizolepis</i>	0.008	0.003	0.003	0.003	0.008	0.003	-									
S7_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.003	-								
S8_ <i>M. mizolepis</i>	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.003	0.000	-							
<i>M. anguillicaudatus</i> (MG018233.1)	0.173	0.173	0.173	0.173	0.166	0.173	0.170	0.173	0.173	-						
S2_ <i>M. anguillicaudatus</i>	0.148	0.148	0.148	0.148	0.148	0.148	0.145	0.148	0.148	0.085	-					
S7_ <i>M. anguillicaudatus</i>	0.151	0.151	0.151	0.151	0.151	0.151	0.148	0.151	0.151	0.087	0.003	-				
S8_ <i>M. anguillicaudatus</i>	0.170	0.169	0.169	0.169	0.163	0.169	0.166	0.169	0.169	0.003	0.082	0.085	-			
<i>Paramisgurnus dabryanus</i> (KY292383.1)	0.031	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.039	0.036	0.036	0.163	0.150	0.153	0.159	-		
S6_ <i>P. dabryanus</i>	0.031	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.039	0.036	0.036	0.162	0.150	0.153	0.159	0.003	-	
S7_ <i>P. dabryanus</i>	0.036	0.041	0.041	0.041	0.036	0.041	0.044	0.041	0.041	0.163	0.150	0.153	0.159	0.005	0.008	-
S8_ <i>P. dabryanus</i>	0.031	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.039	0.036	0.036	0.163	0.150	0.153	0.159	0.000	0.003	0.005

## 사 사

이 논문은 2022년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(20200425, 수산생물 원산지 판별기술 및 현장단속 키트개발).

## References

- Bae YM. 2017. Genetic relationship of the *Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla* and *Vitis thunbergii* var. *sinuata* with the other *Vitis* plants. *J Life Sci* 27, 89-94. <https://doi.org/10.5352/JLS.2017.27.1.89>.
- Batovska J, Blacket MJ, Brown K and Lynch SE. 2016. Molecular identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southeastern Australia. *Ecol Evol* 6, 3001-3011. <https://doi.org/10.1002/ece3.2095>.
- Begg GA and Waldman JR. 1999. An holistic approach to fish stock identification. *Fish Res* 43, 35-44. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(99\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(99)00065-X).
- Chen YH, Liu LY, Tsai WH, Haymer DS and Lu KH. 2014. Using DNA chips for identification of tephritid pest species. *Pest Manag Sci* 70, 1254-1261. <https://doi.org/10.1002/ps.3687>.
- Chung IY, Seo YB, Yang JY and Kim GD. 2017. Development and validation of real-time PCR to determine *branchiostegus japonicus* and *B. albus* species based on mitochondrial DNA. *J Life Sci* 27, 1331-1339. <https://doi.org/10.5352/JLS.2017.27.11.1331>.
- Dong Z, Li X, Zhang X, Ling Q, Ni Q and Li Y. 2014. Development of microsatellite markers for genetic analysis in the large scale loach *Paramisgurnus dabryanus*. *Conserv Genet Resour* 6, 151-153. <https://doi.org/10.1007/s12686-013-0030-6>.
- Eun SN, Kang HS, An CM, Park JY, Kim EM and Kang JH. 2016. Rapid and specific identification of genus *Cynoglossus* by multiplex PCR assays using species-specific derived from the COI region. *J Life Sci* 26, 1007-1014. <https://doi.org/10.5352/JLS.2016.26.9.1007>.
- Inland Aquaculture Research. 2000. Loach Farmin. National Institute of Fisheries Science, Busan, Korea.
- Kang TS. 2021. Viable cell counts and identification of species used for commercial fermented milk products. *J Food Hyg Saf* 36, 188-195. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.2.188>.
- Kim DH and Park SW. 2017. A *Shewanella putrefaciens* infection in cultured mud loach (*Misgurnus mizolepis*). *JFMSE* 29, 1203-1213. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2017.29.4.1203>.
- Kim EM, Dong CM, Lee MN, Noh JK, Noh ES, Nam BH, Kim YO and Jung HS. 2022. Development of multiplex species-specific PCR for the simultaneous identification of three closely related species in the genera *Misgurnus* and *Paramisgurnus*. *Aquac Rep* 24, 101144. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101144>.
- Kim JH, Seo JW, Byeon JH, Ahn YS, Cha SW and Cho JH. 2014a. Morphological characteristics and phylogenetic analysis of *Polygonatum* species based on chloroplast DNA sequences. *Korean J Medicinal Crop Sci* 22, 489-496. <https://doi.org/10.7783/KJMCS.2014.22.6.489>.
- Kim KH, Lee HY, Kim YS, Kim MR, Jung YK, Lee JH, Chang HS, Park YC, Kim SY, Choi JD and Jang YM. 2014b. Development of species-specific PCR to determine the animal raw material. *J Food Hyg Saf* 29, 347-355. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2014.29.4.347>.
- Kim MJ, Han SH, Yang HY, Jo MR, Chung SC and Song CB. 2006. Evolutionary relationship of *Liobagrus mediadiposalis* (Teleostei: Amblycipitidae) populations in Korea inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Korean J Ichthyol* 18, 329-338.
- Kim SM, Koo HY, Kim JH, Jung JW, Hwang SY and Kim W. 2011. DNA chip for species identification of Korean freshwater fish: A case study. *BioChip J* 5, 72-77. <https://doi.org/10.1007/s13206-011-5111-6>.
- Kirsch JE, Feeney RF, Goodbla A, Hart C, Jackson ZJ, Schreier A and Smith R. 2018. First record of the large-scale loach *Paramisgurnus dabryanus* (Cobitidae) in the United States. *J Fish Wildl Manag* 9, 246-254. <https://doi.org/10.3996/012017-JFWM-008>.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2022. Statistic Database for Fisheries Production. Retrieved from <https://kosis.kr/index/index.do> on Aug 23, 2022.
- Lee HY, Yang SY, Park CS, Jung EY and Kim JH. 1994. Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) 4. The analyses of karyotype and mitochondrial DNA between the two species of the genus *Misgurnus* from Korea. *Korean J Zool* 37, 439-451.
- NFQS (National Fishery Products Quality Management Service). 2022. Quarantine of Imported and Exported Aquatic Organisms. Retrieved from <https://www.nfqs.go.kr/hpnm> on Aug 23, 2022.
- Park EJ, Jo AH, Kang JY, Lee HC, Park MJ, YAang JY, Shin JY, Kim GD, Kim JO, Seo YB and Kim JB. 2020. Food fraud monitoring of commercial *Sciaenidae* seafood product using DNA barcode information. *J Food Hyg Saf* 35, 574-580. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.6.574>.
- Park ES, Kang DS and Ha BS. 1994. Comparison of carotenoid pigments in chinese muddy loach, *Misgurnus mizolepis*, and Muddy loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, in the Subfamily Cobitidae. *Korean Fish Soc* 27, 265-271.
- Park IS, Kim BS, Im JH, Park HM, Nam YK, Jeong CH and Kim DS. 1997. Improved early survival in backcrosses of male mud loach (*Misgurnus mizolepis*)×cyprinid loach (*M. anguillicaudatus*) hybrids to female cyprinid loach. *J Aquaculture* 10, 363-371.

- Park YJ, Lee MN, Kim EM, Noh ES, Noh JK, Park JY and Kang JH. 2018. Development of the duplex PCR method of identifying *Trachurus japonicus* and *Trachurus novaezelandiae*. J Life Sci 28, 1062-1067. <https://doi.org/10.5352/JLS.2018.28.9.1062>.
- Perdices A, Vasil'ev V and Vasil'eva E. 2012. Molecular phylogeny and intraspecific structure of loaches (genera *Cobitis* and *Misgurnus*) from the Far East region of Russia and some conclusions on their systematics. Ichthyol Res 59, 113-123. <https://doi.org/10.1007/s10228-011-0259-6>.
- Song HY, Moon SJ, Kim KS and Bang IC. 2017. Genetic species identification by sequencing analysis of nuclear and mitochondrial genes for albino *Misgurnus* species from Korea. Korean J Ichthyol 29, 139-145.
- Vasil'eva ED. 2001. Loaches (genus *Misgurnus*, Cobitidae) of Russian Asia. I. The species composition in waters of Russia (with a description of a new species) and some nomenclature and taxonomic problems of related forms from adjacent countries. J Ichthyol 41, 553-563.
- Yang SY, Kim JB and Kim JH. 1994. Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) 5. Genetic variations of two species of the genus *Misgurnus* from Korea. Korean J Zool 37, 452-465.
- Yi S, Zhong J, Huang S, Wang S and Wang W. 2017. Morphological comparison and DNA barcoding of four closely related species in the genera *Misgurnus* and *Paramisgurnus* (Cypriniformes: Cobitidae). Biochem Syst Ecol 70, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.10.019>.
- Yu YC, Hong YW, Kim JJ, Kim HS and Kang TS. 2019. Monitoring of commercial cephalopod products sold on the South Korea market using DNA barcode information. J Food Hyg Saf 34, 502-507. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.5.502>.