

제주연안에 서식하는 보라성게 *Anthocidaris crassispina*와 말뚝성게 *Hemicentrotus pulcherrimus*의 지역별 번식생태학적 특성과 유전적 변이의 비교

이정재 · 김범규* · 강상균 · 정상철 · 이기완 · 최광식

제주대학교 해양생산과학부
*경상대학교 유전공학연구소

Reproductive Ecology and Genetic Variations in the Sea Urchins *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus* in the Cheju Coast

Jung-Jae Lee, Beom-Kyu Kim*, Sang-Kyun Kang, Sang-Chul Chung, Ki-Wan Lee and Kwang-Sik Choi

Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Cheju, 690-755, Korea
*Genetic Engineering Institute, Kyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Genetic variabilities of local populations of *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus* were analysed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique with phenotypic variabilities in timing of gonadal maturation, reproductive output and size of individuals in Cheju. *H. pulcherrimus*, collected from 4 locations during March 1997, indicated that Daepo individuals were significantly smaller than that at Hamdok, Wimi site A and Wimi site B (ANOVA, $P>0.001$). Gonadal-somatic index (GSI) of the Wimi site B population was significantly higher than that of three other locations (ANOVA, $P>0.0001$). An ANOVA test conducted on test size of *A. crassispina*, harvested from six different locations of Cheju during June 1997, indicated that the size of individuals from Pophwan was significantly smaller ($P>0.0001$) than that from five other locations. GSIs of urchin in Wimi and Hanlim were significantly higher than that from Pohwan and Oedo (ANOVA, $P>0.0001$).

Genetic similarity, calculated from k13 primer analysis of total DNA, among the six different populations of *A. crassispina* varied from 0.67 to 0.92, and the values for *H. pulcherrimus* from 0.60 to 0.73; thus there was no genetic variation among different populations of the same species. Therefore, the populations are genetically homologous and the observed phenotypic variabilities were possibly associated with water temperature and food.

Key words: *Anthocidaris crassispina*, *Hemicentrotus pulcherrimus*, DNA, PCR, Phylogeny, Sea urchin

서 론

보라성게 *Anthocidaris crassispina*와 말뚝성게 *Hemicentrotus pulcherrimus*는 우리나라 중부 이남의 전 연안에서 널리 서식하는 성게류로, 제주도 전 연안의 조간대 및 조하대에 서식하고 있다. 보라성게와 말뚝성게의 난소는 식용하며 다른 성게류 보다 그 양과 질이 우수하여 수산물

원으로도 그 가치가 높게 평가되고 있다 (노와 박, 1986 ; 박 등, 1990).

성게류의 성장에 가장 큰 영향을 미치는 환경 인자는 수온, 염분 및 먹이로 간주되며 특히 먹이의 풍부도에 따라 지역적인 성장 차이도 존재하는 것으로 알려져 있다 (Chung and Natsukari, 1995 ; 홍과 정, 1998 ; 이 등, 1998). 이 두 종의 성게는 다른 성게류와 같이 해조류를 주

먹이로 삼는 것으로 알려져 있으나 작은 갑각류, 태충류 및 해면 등, 다양한 해산 동물을 먹이로 삼기도 한다 (이 등, 1998). 그러나 이러한 해양생물의 지역에 따른 외형적, 생태학적 차이는 때때로 유전학적 변이에 바탕을 두기도 하며, 최근 들어 다양한 유전학적 기법이 이러한 지역에 따른 성장 차이를 규명하는 데 이용되기도 한다. 성계에 대한 유전학적 연구는 DNA footprinting을 이용한 계통 발생에 관한 연구 (Tatarenko and Poltarau 1991, 1992), 미토콘드리아 DNA의 RFLP (restriction fragment length polymorphism)에 의한 분석 (McMillan et al., 1992), 미토콘드리아 게놈의 일부 유전자 서열의 분석 (Kessing, 1990) 등이 보고되고 있다. 우리나라의 경우 성계에 관한 유전적인 연구는 아직 많이 진행되지 않고 있는 실정이다.

이 연구의 목적은 제주도 연안에 널리 분포하고 있는 보라성계와 말뚝성계의 번식기간 중 지역에 따른 번식 생물학적 변이와 이들 두 종의 난소에서 추출된 total DNA를 상대로 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 기법을 이용 (Mungo and Burke, 1997 ; Kim et al., 1997), 각 집단의 유전자적 특성을 비교함으로써 지역에 따른 생태적 변이가 유전적 변이에 기인하는지의 여부를 규명하는 데 있다.

재료 및 방법

시료채취

실험에 사용된 말뚝성계는 주 산란기인 3월 중순 (1997년), 함덕, 위미1리, 위미2리, 및 대포리 연안 등, 말뚝성계의 주산지 4개 지점에서 SCUBA와 잠업 어민의 도움을 통하여 채집하였다. 보라성계의 경우, 주 산란기인 6월 말에서 7월 중순 (1997), 함덕, 위미, 외도, 한림, 화순, 법환 연안 등, 6개 지점에서 SCUBA와 잠업 어민의 도움을 통해 채집하였다 (Fig. 1) 생 시료는 무작위로 각 조사 지역 당 100 개체 정도를 채집하여 실험실로 옮겼다.

크기 측정 및 생식소 관찰

실험실로 옮겨진 성계는 각각 각경 (test diameter, TD)을 0.1 mm 까지 측정된 후, 전자저울을 이용하여 전중량 (total weight, TW)을 1 mg까지 측정하였다. 각 (test)을 제외한 육질의 총 중량은 각 내의 육질을 위구막 (peristomial membrane) 바깥 면을 따라 예리한 가위로 각을 오려내어 분리한 뒤, 1 mg까지 기록하였다. 육질에 포함된 생

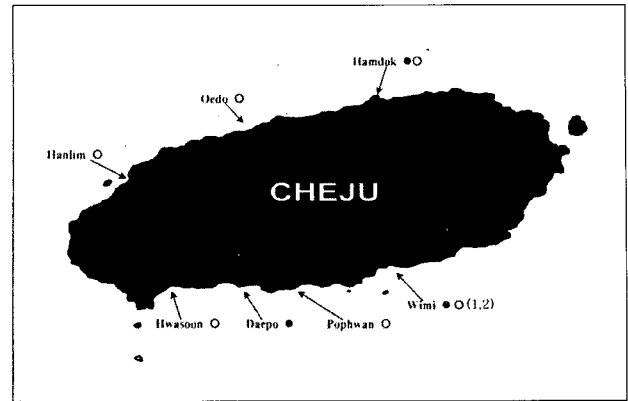


Fig. 1. Sampling locations of *H. pulcherrimus*, (●) and *A. crassispina* (○) in Cheju.

식소는 가위를 이용하여 육질로부터 분리한 뒤, 전자저울을 이용하여 1 mg까지 기록하였다. 한편, 생식소중량지수 (gonad somatic index, GSI)는 전체 육질에 대한 생식소의 무게 비로 표현하였다.

$$\text{생식소중량지수 (GSI)} = (\text{생식소중량} / \text{육질전중량}) \times 100$$

육질로부터 분리된 생식소는 현미경을 이용하여 암·수를 구분한 뒤, 각 개체별로 -60 °C에 냉동 보관하였다. 냉동된 성계의 생식소는 동결건조기를 이용하여 -40 °C에서 건조한 후, 생식소 건조중량 (gonad dry weight, GDWT)을 측정하였다.

각 조사 정점에서 채집된 성계 중 일부는 생식세포의 성숙 정도를 측정하기 위하여 Bouin 고정액에 24~48시간 고정하였다. 고정이 완료된 시료는 흐르는 물에 수세한 뒤, 탈수 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 파라핀에 고정된 성계의 생식소는 6 μm 두께의 절편으로 제작되어 Harris' hemotoxylin과 eosin Y로 비교 염색하였다 (Howard and Smith, 1983 ; Powell et al., 1993). 성계의 생식소 발달 정도는 Byrne (1990)의 기준에 따라 회복기 (1, recover stage), 성장기 (2, growing stage), 성숙전기 (3, premature stage), 성숙기 (4, mature stage), 방출기 (5, partly spawned stage), 및 소모기 (6, spent stage) 등 6 단계로 구분하였다. 각 개체의 성 성숙 정도는 현미경 하에서 생식소 조직박편 내 임의의 4개 지점을 관찰한 뒤 그 평균값을 구하였다.

Total DNA 추출

지역에 따른 성계의 유전적 변이를 측정하기 위하여 냉

동 건조된 성게의 알 5 mg을 취하여 1.5 ml micro tube에 넣은 뒤, Tris-buffered saline (pH 7.4)을 이용하여 두 번 세척한 후 extraction buffer (10 mM Tris-HCl, 0.1 M EDTA, 0.5% SDS, pH 8.0) 500 μ l에 현탁시켰다. 생식소가 포함된 현탁액은 초음파 파쇄기를 이용하여 파쇄한 후, 10 μ l의 proteinase K (100 μ g/ml, Sigma)를 첨가하고 50 $^{\circ}$ C에서 1시간 처리하였다. 이들 시료는 다시 phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1)로 2회 처리한 뒤, 새로운 micro tube로 옮긴 후 1/10량의 3 M sodium acetate (pH 5.2)와 2.5배의 cold ethanol을 첨가한 후 -80 $^{\circ}$ C에서 50분 정치하였다. 처리가 완료된 시료는 원심분리 (15,000 rpm, 10 min, 4 $^{\circ}$ C)하여 DNA를 침전시키고, 다시 70% ethanol로 씻은 후, DNA pellet을 건조시켰다. 각 DNA는 멸균된 증류수에 녹여서 polymerase chain reaction (PCR)의 template로 사용하였다. 추출된 DNA는 핵산측정기 (GeneQuant II, Pharmacia Biotech.)를 이용하여 정량하였으며 PCR의 template DNA로 사용하기 위하여 최종 농도를 50 ng/ μ l로 조절하였다.

PCR 반응

PCR용 primer는 DNA oligomer (12 mer) set (Wako Chemical Inc., Japan) 12종과 다른 목적으로 합성시킨 9종의 primer를 이용하였다 (Table 1). PCR용 0.5 ml 소형 원심관에서 추출한 DNA 100 ng, primer 각 40 pmole, reaction buffer, dNTP 각 200 μ M, Taq DNA polymerase 2.5 unit를 넣고 전체 부피가 50 μ l가 되도록 멸균된 증류수로 채운 후 잘 현탁시킨 뒤, 그 위에 미네랄 오일 한 방울을 포함시켰다. 전 처리가 완료된 시료는 Gene Amp PCR System 9600 (Perkin Elmer)을 이용하여 95 $^{\circ}$ C에서 3분간 열 변성시킨 후 94 $^{\circ}$ C에서 30 초간, 40 $^{\circ}$ C에서 1분간, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간의 주기로 30회 반응시킨 뒤, 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 PCR 생성물들을 충분히 확장시켰다. 반응이 완료된 후 PCR 생성물들은 같은 부피의 클로로포름으로 처리 한 후, 상등액을 2.5배의 cold ethanol로 침전시켰다. 각 반응 생성물은 50 μ l의 증류수에 녹인 후 10 μ l를 취하여 0.5 μ g/ml의 EtBr이 포함된 1% agarose gel 상에 위치시킨 후, 0.5배의 TAE buffer (20 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA, pH 8.0) 하에서 50 V 전압으로 1 시간 전기영동을 실시하였다. 전기 영동이 완료된 후, 각 밴드의 유형은 transilluminator를 이용하여 확인하였다 (Sambrook et al., 1989).

Table 1. Primers used in this study

Primers
K01; ATG AGT GGA CAC
K02; AGG GTG CGT ATA
K03; CTT CCT TGG TCA
K04; ACT TTC CGA TTA
K05; AAC CTC TCA TTT
K06; ACC ACT CCA TAT
K07; ATG CAG AAG TCT
K08; GGC AGG CCA TTA
K09; AAG AGC CTA AAA
K10; CAG AGG CTA AAA
K11; GGA AAG GAA GGC
K12; CGC GTT CGT GGA
K13; TTA TGT AAA ACG GCC
K14; ATG CTT GA(C/T) GC(A/T) TTT TCT AGA
K15; ATC AAA GTA GCT TGC CIG ACG
K16; GTA GTC ATA TGC TTG TCT C
K17; GGC TGC TGG CAC CAG ACT TGC
K18; TTA GCT AAT AGC TGC AGC TAC
K19; ATG AAA TCA GTT ATT ACT ACT
K20; GA(C/T) (C/T)TA TTT GAA GAA GG(A/T) TC(G/T)
K21; TAA AGT ACC (A/T)CC (A/T)CC AAA ITG

Random amplified polymorphic DNAs (RAPD)의 밴드 패턴에 따른 각 유사성의 분석은 Nei and Li (1979)의 방법을 따랐다. 두 지역간의 유전적 유사도는 전기영동이 완료된 agarose gel상에 나타난 밴드 중 공통으로 나타난 밴드수를 전체 밴드수로 나눈 값 ($2Z/(X+Y)$, Z=두 시료에서 공통으로 출현한 밴드의 수, X=A 시료에서 출현한 밴드의 수, Y=B 시료에서 출현한 밴드의 수)을 통하여 산출하였다.

결과 및 고찰

PCR 결과 및 각 지역간의 유전적 유사성

GeneQuant II에 의한 DNA의 총량 측정 결과, 건조된 성게 알 5 mg 당 200~300 μ g의 DNA가 추출되었다. RAPD분석에 사용할 primer를 선별하기 위하여 대포리에 서 채집한 말뚝성게의 알에서 추출된 DNA로 PCR증폭한 결과, single primer는 K13, double primer는 K16/K17 및 K20/K21 등이 높은 재현성을 보였다. 이상의 3개 primer set를 가지고 보라성게와 말뚝성게의 종내 및 종간 유사성을 검토하였다.

Primer set K16/K17은 *Saccharomyces cerevisiae*, *Dictyostelium discoideum*, *Styloichia pustulata*의 18S rDNA에

서 잘 보존되어 있는 엽기배열에서 설계된 것이며 (White et al., 1989), 증폭산물은 약 550 bp로 많은 진균류, 해조류, 고등식물 및 동물 등에서 잘 증폭되는 것으로 알려져 있다 (Henry, 1989). 또한 primer K15/16은 해조류 및 고등식물의 Rubisco 유전자에 잘 보존되어 있는 엽기서열이다 (Kim et al., 1997).

Primer K16/K17과 K20/K21을 이용한 PCR 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 보라성계와 말뚝성계 종간 유전적 차이는 RAPD 밴드 패턴으로 구분할 수 있었으며, 약 500 bp에 특이 밴드가 확인되었다. 반면에 지역에 따른 보라성계 및 말뚝성계의 종내 개체간 변이는 확인되지 않았다 (Fig. 3). Fig. 4는 18S rDNA의 유전자로 추정되는 짙은 농도의 밴드를 보여주고 있다. 이 밴드는 Fig. 3에서와 같이 종간의 뚜렷한 차이를 보이거나 종내 개체간의 차이는 보이지 않았다. Fig 4.에서 관찰된 짙은 밴드 (약 550 bp)를 Gene Clean II Kit (Bio 101, Inc.)으로 분리하여 열 변성 과정을 거쳐 polyacryl amide gel을 이용하여 전기영동 후 SSCP (single strand conformation polymorphism)법 (Orita et al., 1989)으로 분석해 본 결과 유전적인 변이는 관찰되지 않았다.

Single primer인 K13에 대한 PCR 결과는 Fig. 2와 같

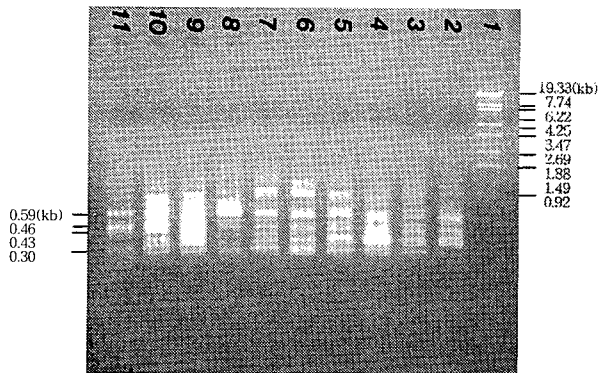


Fig. 2. Random amplified polymorphic DNA patterns of total DNA from *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus* using K13 primer. Lane 1, lambda DNA (Sty 1); Lane 2, *A. crassispina* (Popwhan); Lane 3, *A. crassispina* (Oedo); Lane 4, *A. crassispina* (Hwasoon); Lane 5, *A. crassispina* (Hanlim); Lane 6, *A. crassispina* (Wimi); Lane 7, *A. crassispina* (Hamdok); Lane 8, *H. pulcherrimus* (Wimi); Lane 9, *H. pulcherrimus* (Hamdok); Lane 10, *H. pulcherrimus* (Daepo); Lane 11, pUC19 (Hae III).

다. K13에 대한 PCR 결과, 보라성계와 말뚝성계의 종간

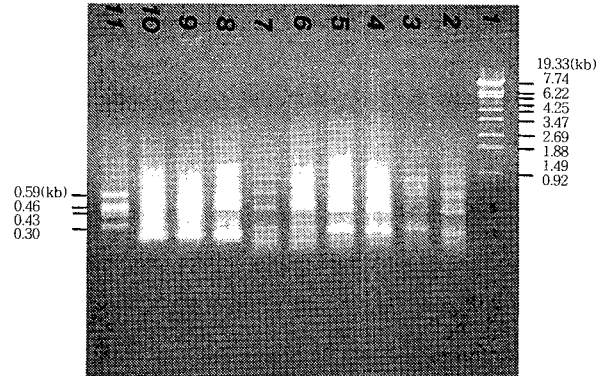


Fig. 3. Random amplified polymorphic DNA patterns of total DNA from *A. crassispina* and *H. pulcherrimus* using primer set of K16+K17. Lane 1, lambda DNA (Sty 1); Lane 2, *A. crassispina* (Popwhan); Lane 3, *A. crassispina* (Oedo); Lane 4, *A. crassispina* (Hwasoon); Lane 5, *A. crassispina* (Hanlim); Lane 6, *A. crassispina* (Wimi); Lane 7, *A. crassispina* (Hamdok); Lane 8, *H. pulcherrimus* (Wimi); Lane 9, *H. pulcherrimus* (Hamdok); Lane 10, *H. pulcherrimus* (Daepo); Lane 11, pUC19 (Hae III).

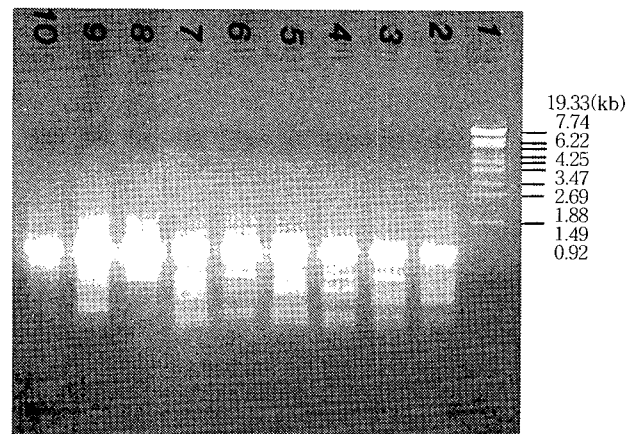


Fig. 4. Random amplified polymorphic DNA patterns of total DNA from *A. crassispina* and *H. pulcherrimus* using primer set of K20+K21. Lane 1, lambda DNA (Sty 1); Lane 2, *A. crassispina* (Popwhan); Lane 3, *A. crassispina* (Oedo); Lane 4, *A. crassispina* (Hwasoon); Lane 5, *A. crassispina* (Hanlim); Lane 6, *A. crassispina* (Wimi); Lane 7, *A. crassispina* (Hamdok); Lane 8, *H. pulcherrimus* (Wimi); Lane 9, *H. pulcherrimus* (Hamdok); Lane 10, *H. pulcherrimus* (Daepo).

변이가 확인되었으며, 지역에 따른 종 내의 개체에서도 변이가 일부 관찰되었다. 보라성게의 경우 지역에 따른 개체간의 유사도는 67%에서 92%까지의 변이를 보였으며 말뚝성게의 지역간 유전적 변이는 보라성게와 비교시 상대적으로 적은 60%에서 73%의 범위를 보였다 (Table 2). Single primer K13를 이용한 종간의 유전적 유사도 분석 결과 두 종간의 유사성은 17%에서 44%로, 유전적으로 서로 다른 것으로 판단되었다.

보라성게 및 말뚝성게의 GSI 및 중량

연구 기간 중 채집된 보라성게와 말뚝성게의 지역별 크기, 육중량, 생식소 중량, GSI, 및 생식소의 건중량 평균은 Table 3과 같다.

말뚝성게의 경우 제주 연안의 4개 지역에서 주 산란기 인 3월경에 채집한 결과, 지역별 개체의 평균 크기는 각경

33.9~36.4 mm였다. 함덕, 위미 1, 위미 2 지역에서 채집된 말뚝성게의 크기는 통계적으로 그 크기 차이가 없는 반면, 대포리에서 채집된 말뚝성게는 다른 세 지역에서 채집된 개체보다 그 크기가 작았다 (ANOVA, $p < 0.001$). 실험에 이용된 말뚝성게의 GSI는 0.10~0.22의 범위를 보였다. GSI는 함덕, 위미 1, 대포리 3개 지역의 경우, 서로 차이를 보이지 않은 반면 위미 2에서 채집된 말뚝성게의 GSI는 다른 3개 지역에서 채집된 말뚝성게 보다 지수가 높게 나타나, 이 지역에서 채집된 말뚝성게는 다른 지역 보다 많은 생식소를 포함하고 있는 것으로 판단되었다 (ANOVA, $p < 0.0001$). 한편 조직학적 방법을 이용한 말뚝성게의 생식세포를 관찰한 결과, 지역별 생식소의 성숙 정도는 차이가 없었으며 암, 수 모두 성숙 전기 또는 성숙기의 발달 정도를 보였다. 각 지역별 말뚝성게의 생식세포 성숙 정도는 Fig. 5와 같다.

Table 2. Similarity index as assessed from the RAPD banding patterns of *A. crassispina* (AC) and *H. pulcherrimus* (HP), collected from eight different locations in Cheju. Similarity index of 1 indicates that two samples are genetically identical

	AC (Popwhan)	AC (Oedo)	AC (Hwasoon)	AC (Hanlim)	AC (Wimi)	AC (Hamdok)	HP (Wimi)	HP (Hamdok)	HP (Daepo)
AC(Popwhan)	-								
AC(Oedo)	0.67	-							
AC(Hwasoon)	0.80	0.67	-						
AC(Hanlim)	0.73	0.77	0.91	-					
AC(Wimi)	0.67	0.71	0.83	0.92	-				
AC(Hamdok)	0.73	0.77	0.91	0.67	0.77	-			
HP(Wimi)	0.44	0.36	0.44	0.29	0.36	0.40	-		
HP(Hamdok)	0.20	0.17	0.20	0.18	0.17	0.18	0.60	-	
HP(Daepo)	0.40	0.33	0.40	0.36	0.33	0.36	0.67	0.73	-

Table 3. Regional variations of test diameter (TD), total tissue weight (TW), gonad weight (GWT), gonad somatic index (GSI, a ratio gonad weight to total tissue weight) and gonad dry weight (GDWT) of *H. pulcherrimus* and *A. crassispina* collected from 8 different locations in Cheju

Species	Location	TD(mm)	TTW(g)	GWT(g)	GSI	GDWT(g)
<i>H. pulcherrimus</i>	Hamdok	36.4 ± 3.62	17.48 ± 4.70	2.18 ± 1.28	0.12 ± 0.05	0.55 ± 0.38
	Wimi 1	36.3 ± 2.05	16.08 ± 2.80	2.61 ± 0.89	0.16 ± 0.05	0.67 ± 0.22
	Wimi 2	35.9 ± 2.28	15.79 ± 2.75	3.41 ± 1.36	0.22 ± 0.08	0.66 ± 0.25
	Daepo	33.9 ± 2.85	14.73 ± 3.79	2.04 ± 0.96	0.10 ± 0.04	0.29 ± 0.15
<i>A. crassispina</i>	Hamdok	44.1 ± 5.54	31.00 ± 12.63	6.23 ± 3.10	0.15 ± 0.06	1.26 ± 0.75
	Wimi	47.9 ± 3.59	43.37 ± 9.13	7.90 ± 1.29	0.19 ± 0.04	1.06 ± 0.27
	Oedo	47.3 ± 4.20	40.77 ± 11.73	3.48 ± 2.17	0.09 ± 0.06	0.93 ± 0.40
	Hanlim	44.0 ± 9.81	35.63 ± 15.51	5.89 ± 3.71	0.17 ± 0.09	1.47 ± 1.10
	Hwasoon	45.3 ± 2.94	35.69 ± 6.68	4.09 ± 2.51	0.11 ± 0.17	0.59 ± 0.33
	Pophwan	52.9 ± 3.62	54.41 ± 11.99	5.29 ± 2.67	0.10 ± 0.04	1.68 ± 1.01

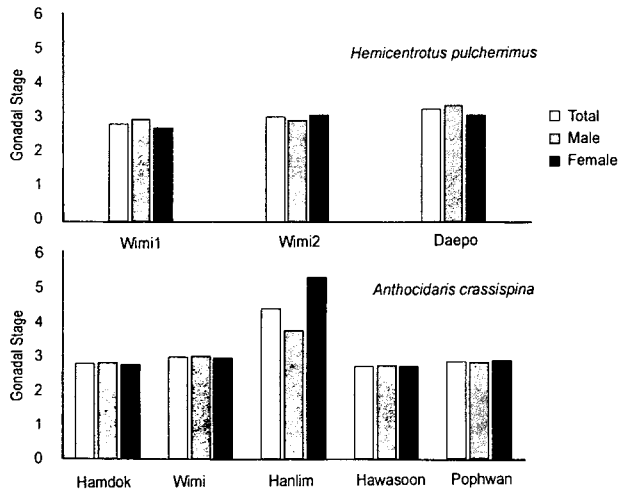


Fig. 5. Variations of gonadal stage by location.

함덕, 위미를 비롯한 7개 지역에서 6월경에 채집한 보라성게의 크기는 평균 44.0~52.9 mm의 범위를 보였으며 지역에 따라 각경의 크기에 있어 변이가 있음을 알 수 있었다. 보라성게의 GSI는 지역에 따라 평균 0.09~0.19였으며 역시 지역에 따른 변이가 있었다. 보라성게의 지역에 따른 평균 크기에 대한 ANOVA 결과, 법환에서 채집된 개체의 평균 각경은 다른 지역에서 채집된 개체보다 작게 나타났다 ($p < 0.0001$). 한편 보라성게의 GSI는 위미와 한림에서 채집된 개체의 평균 GSI가 다른 지역보다 높게 나타났다 (ANOVA, $p < 0.001$). 생식소의 발달 정도는 6월에 채집된 대부분의 보라성게 개체가 성숙 전기 정도의 발달을 보인 반면, 한림에서 채집된 개체는 거의 산란 직전에 있는 것으로 판단되었다.

이 연구 결과 보라성게와 말뚝성게는 지역에 따라 크기, 생식소의 양, 생식소의 발달 정도에 차이가 있는 것으로 나타났으나 이들 두 종의 생식소로부터 얻어진 DNA를 이용한 RAPD PCR 결과, 지역간의 유사성은 그 차이가 별로 없거나 낮은 것으로 나타났다.

제주 연안은 자갈지대, 암초지역, 모래사장 등과 같은 다양한 저질환경을 보이고 있으며 해안선의 형태, 출현 해조류의 종 수나 양적 우점도, 성계류와 먹이 경쟁 위치에 있는 조식성 무척추동물상 등에서 지역적으로 차이가 나타나며 (이 등, 1998), 저온저염의 남해안 연안수와 고온고염의 대마난류수의 영향을 동시에 받아, 지역간 수온과 염분의 차이를 보인다 (조와 김, 1994).

성게는 해조류 외에도 해산 무척추동물의 사체 및 알 등을 섭이하는 잡식성 동물로 알려져 있고 (이 등, 1998),

크기, GSI 및 생식소 발달 정도는 먹이, 수온, 염분, 개체군 밀도, 파랑과 같은 다양한 요인의 영향을 받으며 (Byrne, 1990), Mg, Na, P, Zn 등과 같은 미량원소가 생식소 발달에 필수적인 것으로 밝혀져 있다 (Ueda et al., 1991).

따라서 제주 연안의 말뚝성게와 보라성게의 크기, GSI 및 생식소 발달 정도의 지역간 차이는 유전적인 요인보다는 외부 환경인자에 의한 변이에 기인한 것으로 사료된다.

요 약

보라성게와 말뚝성게는 제주 전역에 널리 분포하며 중요한 수산 자원으로 간주된다. 말뚝성게와 보라성게는 제주 연안에 있어 지역에 따라 크기, 성장률, 번식 시기 등이 다른 것으로 보고되고 있으나 그 원인은 아직 구명되지 않고 있다. 이 연구는 제주 연안에 서식하는 말뚝성게와 보라성게의 지역에 따른 번식 특성과 RAPD 방법을 이용하여 이들의 유전적 변이를 조사하였다. 말뚝성게의 경우 산란기인 3월에 함덕, 위미1리, 위미2리, 및 대포리 등지에서 채집하였으며, 보라성게는 주 산란기인 6월 중 함덕을 비롯한 6개 지역에서 채집하였다. 각 지역에서 채집된 성게는 각경, 육중량, 생식소 중량 등을 측정 후, 생식소 일부를 Bouin's solution에 고정하여 생식소의 성숙 정도를 분석하였다. 또한 이들 생식소로부터 DNA를 추출한 후, RAPD 방법을 이용하여 각 지역간의 유전적 변이를 비교하였다.

4개 지역에서 1997년 3월중에 채집된 말뚝성게의 크기는 대포리에서 채집된 개체가 다른 세 지역에서 채집된 개체보다 현저하게 작았으며 ($p < 0.001$) GSI의 경우 위미 2 지역에서 채집된 개체의 GSI가 다른 세 지역보다 현저하게 높게 나타났다 ($p < 0.0001$). 보라성게의 경우 주 산란기인 6월에 제주 연안의 6개 지역에서 채집된 개체의 크기를 비교한 결과, 법환리 지역에서 채집된 개체가 다른 5개 지역에서 채집된 보라성게 보다 그 크기가 현저하게 작았다 ($p < 0.0001$). 보라성게 생식소 중량지수의 경우 위미와 한림에서 채집된 개체의 생식소 중량지수가 다른 지역보다 높게 나타났다 ($p < 0.001$). PCR 테크닉과 RAPD를 위하여 제작된 4 set의 double primer와 13개의 single primer를 분석한 결과, K13 primer를 사용했을 경우 RAPD 분석 결과 중간 및 종 내의 지역적 유전적 변이를 확인 할 수 있었다. 그러나 K16/17과 K20/21 primer를 이용한 경우 종 내의 지역별 유전적 변이는 확인할 수 없

었다. K13 primer의 경우 유사도 (similarity)는 보라성게 종 내의 지역적 차이가 0.67-0.92, 말뚝성게의 경우 종 내의 지역적 변이 폭이 0.60-0.73으로 나타났으며 보라성게와 말뚝성게의 중간 유사도는 17-44%로 낮게 나타났다.

제주 연안에 있어 지역에 따른 보라성게와 말뚝성게의 크기, GSI 등의 변이는 유전적 차이보다는 수온과 먹이 등과 같은 생태학적 요인에 기인한 것으로 판단되었다.

감사의 글

성게의 채집에 있어 많은 시간과 노고를 아끼지 않은 제주대학교 대학원 수산생물학과의 홍성완, 이창호, 박경일 군에게 심심한 감사를 표합니다. 이 연구는 1995년도 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 지원 사업의 지원으로 이루어졌습니다.

참 고 문 헌

Byrne, M., 1990. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Marine Biology*, 104 : 278-281.

Chung, S. C. and Y. Natsukari, 1995. Growth variation among the different populations of sea urchin, *Pseudocentrotus depressus*. *J. Korean. Fish. Soc.*, 28 : 421-427.

Henry A. E., 1989. PCR technology : Principles and applications for DNA amplification. Stockton Press, N.Y. 246pp.

Howard, D. W. and C. S. Smith, 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks. NOAA Technical Memorandum. 97pp.

Kessing, B. D. 1990. Concurrent speciation in template sea urchin lineages. *Pac. Sci.* 44(2), 188-195.

Kim, B. K., Chung, K. W. and Fujita Y., 1997. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) variation in *Porphyra yezoensis* and *P. tenera*. *J. Aquaculture*, 3 : 321-326.

McMillan, W. O., R. A. Raff and S. R. Palumbi, 1992. Population genetic consequences of development

evolution in sea urchins (Genus *Heiocardaris*). *Evolution*, 46 : 1299-1312.

Mungo M. and R. D. Burke, 1997. Cloning and characterization of novel beta integrin subunits from a sea urchin. *Develop. Biol.*, 181 : 234-245.

Orita, M., H. Iwahana and H. Kanazawa, 1989. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. p. 2766-2770. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Natl. Acad. Sci. USA.

Powell, E. N., E. A. Wilson-Ormond, and K. S. Choi. 1993. Gonadal analysis-*Crassostrea virginica*. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 71, vol. 11. 55-62.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, J., 1989. *Molecular cloning : A laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor, 15.113pp.

Tatarenko, D. E. and A. B. Poltarau. 1991. Classification of the sea urchins *Strongylocentrotus echinoides* and *S. sachalinicus* as *S. pallidus* on the strength of genome comparison. *Biol. Morya Mar. Biol.*, 3 : 69-75.

Tatarenko, D. E. and A. B. Poltarau, 1992. Affiliation of the sea urchins *Strongylocentrotus echinoides* and *S. sachalinicus* to the species *S. pallidus* based on a comparison of their genomes. *Russ. J. Mar. Biol.*, 17 : 168-172.

Ueda, T., T. Ishii, M. Nakahara, R. Nakamura, Y. Suzuki and C. Shimizu, 1991. Elements in gonad of the sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 : 1095-1102.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1989) *PCR protocols : A guide to methods and applications*. Academic press. 482pp.

조양기 · 김구, 1994. 여름철 남해 저온수의 특성과 기원. *한국해양학회지*, 29 : 414-421.

노용길 · 박두원, 1986. 보라성게의 인공종묘생산에 관한 연구. *수전연보*, 39 : 89-96.

박민우 · 이윤호 · 장정원, 1990. 말뚝성게, *Hemicentrotus pulcherrimus* (A. Agassiz)의 산란기에 관한 연구. *수전연보*, 44 : 67-76.

이기완 · 손철현 · 정상철, 1998. 제주연안의 해조상과 성게의 섭식효과. *한국양식학회지*, 11 : 401-419.

홍성완 · 정상철, 1998. 보라성게 (*Anthocidaris crassispina*)의 연령과 성장. *한국수산학회지*, 31 : 302-308.