

## 미토콘드리아 16S rDNA와 COI 유전자에 근거한 한국산 굴류 4종의 유연관계

이 상 엽 · 박 두 원\* · 안 혜 숙\*\* · 김 상 해

(인제대학교 생명공학부; \*국립수산진흥원 양식과; \*\*국립수산진흥원 생물공학과)

### 요 약

한국에서 양식되어지고 있는 한국산 굴류 4종, 굴 (*Crassostrea gigas* Thunberg), 바위굴 (*C. nippona* Seki), 강굴 (*C. ariakensis* Fujita et Wakiya), 토굴 (*Ostrea denselamellosa* Lischke)의 유전적 근연관계를 조사하고자 미토콘드리아 DNA의 16S rDNA와 cytochrome c oxidase I (COI) 유전자 일부분의 염기서열을 분석하였다. 16S rDNA의 319 bp와 COI 유전자의 710 bp를 PCR 증폭하여 염기서열을 결정하였으며, 염기서열과 아미노산서열을 자료로 하여 UPGMA와 neighbor-joining 방법으로 계통수를 작성하고, 중간 유연관계를 확인하였다. *Crassostrea* 속과 *Ostrea* 속간 비교에서는 뚜렷한 유전적 분화를 나타내었으며 계통분석 결과, neighbor-joining 방법에 의한 COI의 아미노산 서열분석에서는 굴과 강굴이 자매군을 형성하는 양상을 보였으나 두 유전자의 염기서열과 A+T 비율 비교에서는 굴과 바위굴이 자매군을 형성하는 것으로 나타났다.

Key words: Oysters, 16S rDNA, COI, Phylogeny

### 서 론

한국산 굴류는 북한에 서식하는 제석굴(*Ostrea cucullata cinerea* Ri)을 포함해 현재 8종이 알려져 있다(한국동물분류학회, 1997). 그 중 4종, 굴(*Crassostrea gigas* Thunberg), 바위굴(*C. nippona* Seki), 강굴(*C. ariakensis* Fujita et Wakiya), 토굴(*Ostrea denselamellosa* Lischke)을 제외하고는 그 서식처나 분포 등을 파악하기 매우 어려운 실정이다. 또한 종의 분류에 대해서는 이론이 많으며 아직 명확한 분류체계가 확립되어 있지 않다. 우리나라 굴류에는 양식산업에서 가장 중요한 위치를 차지하

---

이 논문은 1999년 해양수산개발원 수산특정연구개발사업 연구비의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이다.

는 굴(*C. gigas*)과 최근에 동해안 양식의 관심 종인 바위굴(*C. nippona*) 등이 있다. 한국의 패류 양식산업에서 굴이 차지하는 중요도는 매우 크지만 굴 양식업의 특성상 종묘의 유전적 관리는 현재 자연채묘를 하는 이유로 매우 어려운 실정이다. 자연히 상품성 높은 굴의 생산이나 우수 종묘의 선택 및 관리는 매년 환경적 요인에 의존할 수 밖에 없는 형편이며 매년 채묘 부진 등의 이유로 인해 국내의 타 지역이나 외국에서 종패를 이식하여 양식하는 방법을 이용하기도 한다. 이런 경우 자연히 기존의 종과 유입된 종간의 지속된 혼합과 교잡이 발생되어 양식 품종의 질 저하가 초래될 수 있다.

최근에 생물의 진화적 유연관계를 밝히는 연구에 DNA 분자를 이용한 다양한 방법들이 적용되고 있다(Banks *et al.*, 1993, 1994; Anderson and Adlard, 1994; Littlewood, 1994). 본 연구는 현재 한국에서 양식하거나 서식하는 패류 중 한국산 굴류 4종의 분류학적 위치를 결정하고, 각 종간의 계통적 근연관계를 규명하여 체계적 품종 관리의 기초를 마련코자 미토콘드리아 DNA의 16S rDNA와 cytochrome c oxidase subunit I(COI) 유전자 일부분의 염기서열을 결정하고, 그 결과를 토대로 굴류의 계통 유연관계를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

분석에 사용한 굴 시료는 1994-1997년에 굴은 경남의 통영, 바위굴은 경북의 영일, 강굴은 경남 남해, 토굴은 전남 여수에서 현지어장으로부터 채취, 사용하였다(Fig. 1).

### 2. 미토콘드리아 DNA (mtDNA) 추출

굴 시료로부터 mtDNA 추출은 Birnboim과 Doly(1979) 방법을 개량한 Palva와 Palva(1985)의 방법을 사용하였다. 각 굴 개체별 시료로부터 소화기관을 제외한 근육조직 1-3g에 액체질소를 넣고 분쇄한 후 TEK 완충용액(50mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 1.5% KCl, pH 7.5)을 넣고 마쇄기로 균일하게 마쇄시켰다. 마쇄액을 4°C, 4,000×g에서 원심분리하여 핵을 침전시키고 상층액을 수거하여 동량의 15% sucrose-TEK 용액을 첨가하였다. 4°C, 4,000×g에서 원심분리한 뒤 상층액을 12,000×g

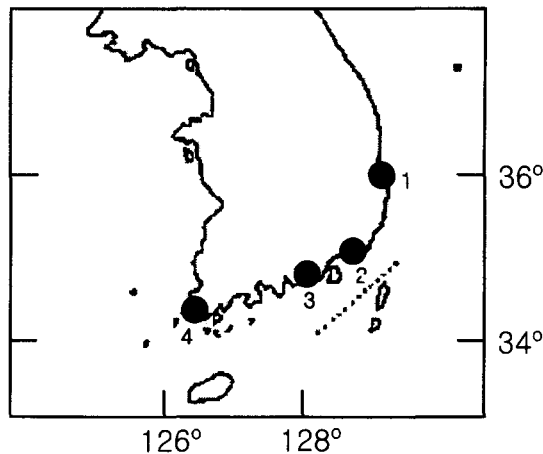


Fig. 1. Collection sites of oysters in Korea. 1, Pohang; 2, Jinhae; 3, Namhae; 4, Yosu.

에서 다시 원심분리하여 미토콘드리아를 침전시켰다. 침전물에 18% SDS를 넣어 미토콘드리아 막을 용해시키고 phenol을 첨가하여 잘 혼합한 후 12,000×g에서 원심분리하고 상층액에 에탄올을 첨가하여 미토콘드리아 DNA를 침전시켰다. 침전된 미토콘드리아 DNA는 증류수에 녹여 PCR에 사용하였다.

**3. PCR 및 DNA 염기서열 결정**

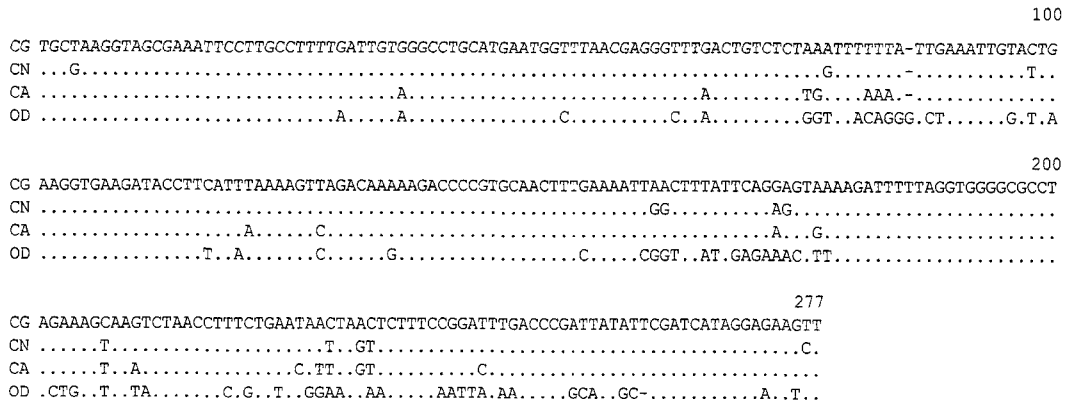
미토콘드리아 DNA의 16S rDNA와 COI유전자 일부분을 Taq DNA 중합효소(Promega사)로 PCR 증폭하였다. 16S rDNA의 증폭에는 굴에 특이적인 16Sf 5'-CCGCGCCGCCCTAGCGTGAGGG-3'와 16Sr 5'-ATTAGCCTGTTATCCCCGGCG-3' primer를 이용하였다(Banks, 1993). 94°C에서 1분, 52°C에서 1분 그리고 72°C에서 2분씩 35회 반복하여 DNA를 증폭시켰다. COI지역은 LCO 1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'와 HCO2198 5'-AACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' universal primer를 이용하였다(Folmer, 1994). PCR product들은 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 QIAXII (QIAGEN사)로 elution하여 염기서열 결정에 사용하였다. DNA 염기서열분석은 자동염기서열 분석기 ABI373 (Perkin Elmer)를 사용하여 분석하였다.

**4. 계통수 작성**

염기서열의 비교는 MULTALIN program (Corpet, 1988)을 사용하였다. Pairwise distance는 Tamura-Nei method를 이용하여 계산하였고 계통유연관계는 neighbor-joining method와 UPGMA 방법을 사용하여 규명하였다(MEGA version 1.02 and version 2; Kumar et al., 1993). Fitch-Margolish method (PHYLIP 3.6; Felsenstein, 1993)를 사용하여 재확인하였다.

**결과 및 고찰**

한국산 굴류 4종에서 추출한 미토콘드리아 DNA로부터 16S rDNA 유전자 일부분의 PCR 증폭산물을 얻어 직접 염기서열을 결정하거나, 유전자운반체 pGEM 3Z에 클로닝 시킨 후 염기서열을 결정하였다(굴, GeneBank accession No. AF177226; 바위굴, AY007426; 강굴, AY007427). 증폭산물은

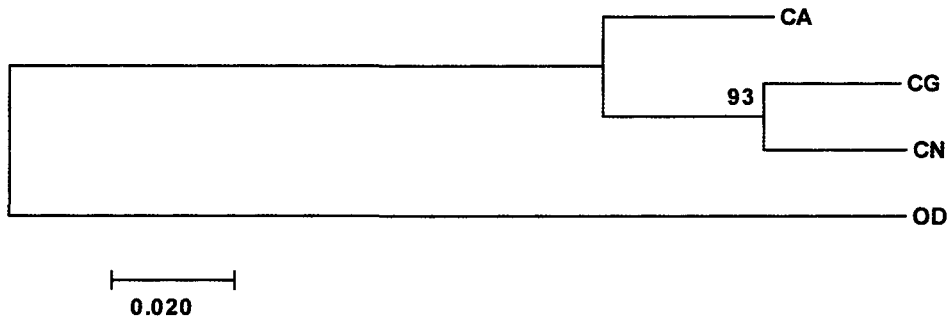


**Fig. 2.** Alignment of 277 nucleotide sequences of 16S rDNA. CG, *Crassostrea gigas*; CA, *C. ariakensis*; CN, *C. nippona*; OD, *Ostrea denselamellosa*.

**Table 1.** Tamura-Nei distance matrix for the 16S rDNA gene fragment.

	1	2	3	4
1. <i>Crassostrea gigas</i>	–	0.013	0.016	0.040
2. <i>C. nippona</i>	0.045	–	0.018	0.040
3. <i>C. ariakensis</i>	0.073	0.081	–	0.037
4. <i>Ostrea denselamellosa</i>	0.296	0.289	0.271	–

Note: Distance in the lower-left matrix; standard errors in upper-right matrix.



**Fig. 3.** Phylogenetic tree for four oyster species based on the nucleotide sequence of the amplified 16S rDNA. Neighbor-joining tree constructed with Tamura-Nei distance matrix; bootstrap confidence intervals from 500 replicates are indicated. CG, *Crassostrea gigas*; CN, *C. nippona*; CA, *C. ariakensis*; OD, *Ostrea denselamellosa*.

319 bp로 모든 종들에서 동일한 크기로 증폭되었다. Primer서열을 제외한 276 bp를 대상으로 염기서열을 비교하였다(Fig. 2). 같은 속내 종들간에는 92.4-97.1%의 유사성을 보였고, 속간에는 74.7%-78.4%의 유사성을 나타내었다. 현재 굴류의 16S rDNA 대한 연구는 *Ostrea* 속 8종에 대해서 약 450 bp 지역이 밝혀져 있고(Jozefowicz and Foighil, 1998), 그 중 토굴(AF052067)은 우리가 밝힌 것과 동일한 부위임을 확인할 수 있었고 둘 사이에 4개의 염기 차이를 나타내었다. 16S rDNA 염기서열을 토대로 Tamura-Nei method를 사용하여 distance matrix를 작성하였다(Table 1). Neighbor-joining 방법(Saito and Nei, 1987)을 사용하여 작성한 계통수(Fig. 3)를 통해 속간의 확연한 차이를 확인하였다. 굴과 바위굴은 형태상 유사하고, 경북 영일 지역에 동일한 서식처를 형성하고 있는데(류 등, 1973; 박 등, 1995), 염기서열의 비교에서도 두 종 사이가 강굴보다는 훨씬 근연한 것으로 나타났다.

부분적인 COI 유전자 분석에서는 710 bp의 PCR 증폭산물을 얻어 직접 염기서열을 결정하였다(굴, AF177226; 바위굴, AF300616; 강굴, AF300617). 토굴을 제외한 3종에서 PCR 절편이 증폭되었다. Primer를 제외한 609 bp를 대상으로 염기서열과 아미노산 서열을 비교하였다(Fig. 4). *Crassostrea* 속의 종들간 염기서열에서는 85.6-85.7% 정도의 유사성을 보였고, 아미노산 서열을 비교한 결과 96.1-98.5% 정도의 유사성을 나타내었다. 토굴에서 PCR 산물을 얻지 못한 이유는 패류의 경우 속간 유전적 변이가 심해 토굴의 경우 사용한 primer와의 상보성이 상대적으로 낮았기 때문으로 추정된다. 본 연구에서는 COI 유전자의 염기서열 비교를 위해 *Ostrea angasi*(AF112287, Foighil et al., 1999)를 대조군으로 사용하였다. COI 유전자의 염기서열과 아미노산서열을 토대로 각각

**A**

```

100
CG GTATTGGATTTTGGAGCTGTTCTTGCGGGAAGTCTAGGTTTAGGTCCTTATTTCGTTGGAGACTTTATAACCCCTGGAGCTAAGTTTTTGGAGCCCGTGACTT
CN ..G.....C.....TA.....C..A.....A..TT.G...C..A..G.....T..A..C.
CA .....G.....A.....T.....A..T.G...T..A...C..A.....T..T...C.
OA ..T.....T.....T.....T.G..T..T.....AC...A...T.A.....A..GT.A.T...T.....T..A.....T..T..ATGC.

200
CG ATAATGCAGTTGTAAGTACAGCATGCGTTGGTTATGATTTTTTTCITTTGTTATACCTGTAATAATTGGGGGTTTGGTAACGGCTTATCCCTTTGATGCT
CN ...C.....C..A.....A..A.....A..C...T.....G.....C.....A..T.....A..A...
CA .....C.....A.....A.....C..A.....G..G.....C..C..A.....T..A.....T..G..A..A..
OA .....T..G..C..A.TA.....C..A..A.....C..T.....A..G..A..T.....T..A.....T.....AG.T..G..A..A..

300
CG TCTAGTAGCAGACATGCAATTTCCCGATTAAATGCATTAGATTTTGAGTTTGGCAGGGTCTCTTTATCTTATGCTTATGCTAACATTGTAGAAAAC
CN ..A.....T...G.....G.....A...C..G.....C..A.....TC....A...GT
CA ..A.....G..T.....T.....A.....T..A.....A.....A.....TC....G.GT
OA ..A...C.T..T...G.....A.G...T..C..G..C...G..A..G.T...T.A...T...G.AG.T...GCAT...T...T

400
CG GGAGTTGGGGCAGGGTGAACAATTTACCCCTCTTATCAACTTACTCTTATCATGGAGTTTGTATAGACCTTGCAAATCTAAGCCCTCACCTTGTGGTA
CN ..G..C.....A.....G.....C.....A.....G..C..C..A.....TT.A...A.
CA .....A..G..A..G.....G.....C..C.....T.....T.....A..TT.....
OA .....A.T.....TG.....TT..A.....A.G..C..G..T..G.....T...AT.A...T.A...G.

500
CG TTAGCTCTATTTTCAGGTCAATTAATTCATAGTAAACGATTAGAAATATGCGATCTGTGGGGCCATTACTAGCACTATTCCTTGTATCTATTAAGGT
CN .....G.....T.....T.....A.....T.....A.....C..T..G...GT.G..G.....T..A..G.....C..A..
CA ...G.....T.....T.....G..T.....G.....C..T...G..G..T..G..T.....A...A..
OA ...T..A...T..T.....C..T...T..A...CG...A...G..G..AT..G..C..T...G..G.....A...

600
CG TACTTCATTCTTGCTTTTGACTACTCTCCAGTGTAGCTGGAGGICTTACTATACTTTTGACTGATCGTCATTTTAATACCTCTTTTTTGACCCCTGTC
CN C..A.....T..A.....A..A..C..T..G..AC.....C..G.....C..G.....C..G.....T.....T.....
CA ..A..A..T..A.....A.....T..G..A..G.....C..A.....G.....C..A.....C...T...T
OA A..A.....T..A..G..A..A..A..T...TC.G.....G..G..A..T.GC.T..C.....C..A.....C.....A

609
CG GGAGGGGGG
CN .....C
CA ..G..T..T
OA ..T..T...
    
```

**B**

```

100
CG VFGFWAVLAGTSFSSLIKWSLYNPGAKFLDPVYNAVVTSHALVMIFFVMPVMIGGFNWLIPMLLLVADMQFPRLNAFSFWVLPGLYLMLMSNIVEN
CN .....T.....A..A..C..T..G..AC.....C..G.....C..G.....C..G.....T.....L..S
CA .....V.....T.....Q.....K.....L.KS
OA ....S.....L.....F...S.....C.....M.....V...Q.P.....M.....V...F.VV.AF...

200
CG GVGAGWTIYPLSTYSYHGVCMDLAILSLHLAGISSIFSSINFMVTISNMRSVGGHLLALFPWSIKVTSFLLLTLPVLAGGLTMLLTDHRFNTSFFDPV
CN .....N.....K.....
OA ..T...V...F...M.....T...D.....

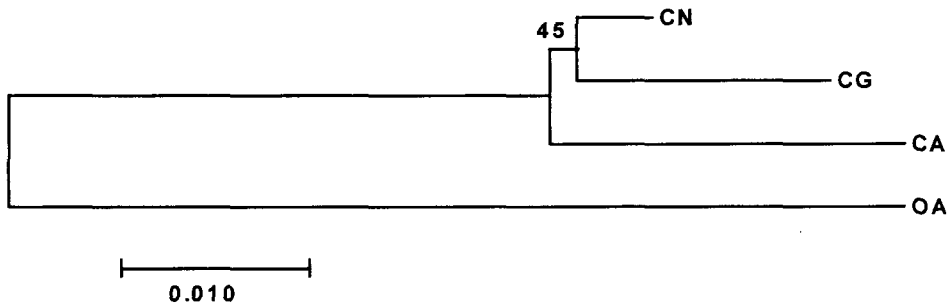
203
CG GGG
CN ...
CA ...
OA ...
    
```

**Fig. 4.** Alignment of nucleotide sequences (A, 609 bp) and amino acid sequences (B, 203 aa) of COI gene. CG, *Crassostrea gigas*; CN, *C. nippona*; CA, *C. ariakensis*; OA, *Ostrea angasi*.

**Table 2.** Distance matrix obtained from nucleotide sequences and predicted amino acid sequences of oyster mitochondrial COI genes.

	a) 1	2	3	4	b) 1	2	3	4
1. <i>Crassostrea gigas</i>	–	0.006	0.009	0.016	–	0.008	0.014	0.021
2. <i>C. nippona</i>	0.018	–	0.008	0.015	0.015	–	0.012	0.021
3. <i>C. ariakensis</i>	0.033	0.025	–	0.016	0.044	0.030	–	0.023
4. <i>Ostrea angasi</i>	0.092	0.081	0.95	–	0.108	0.108	0.133	–

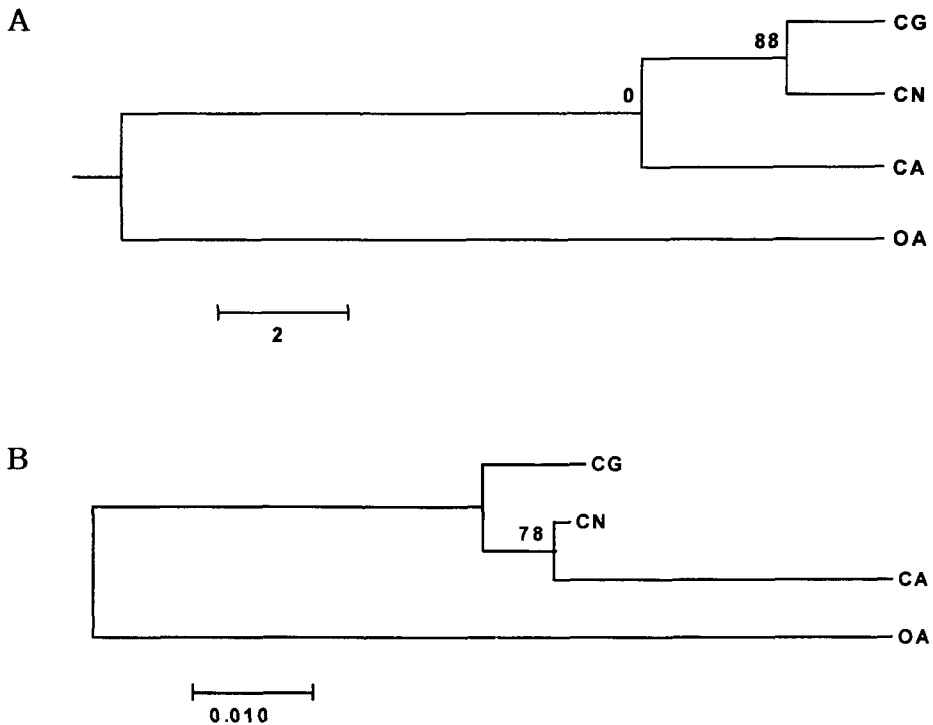
Note: a) Tamura-Nei distance matrix for COI gene fragment; only 1st and 2nd codon positions were involved. b) p-distance matrix for the COI gene fragment; used 203 amino acid sequences. For each, lower-left matrix indicates distance and upper-right matrix standard errors.



**Fig. 5.** Phylogenetic tree for four oyster species based on the nucleotide sequence of COI gene. Only 1st and 2nd positions nucleotide included were involved in this analysis. Neighbor-joining tree constructed with Tamura-Nei distance matrix: bootstrap confidence intervals from 500 replicates are indicated. CG, *Crassostrea gigas*; CN, *C. nippona*; CA, *C. ariakensis*; OA, *Ostrea angasi*.

Tamura-Nei와 p-distance method를 이용하여 distance matrix를 작성하였으며(Table 2) 이를 기초로 UPGMA와 neighbor-joining 계통수를 작성하였다. 각 node 신뢰도를 측정하기 위하여 bootstrapping을 500회 반복 실시하였다. 염기서열 분석 결과에서 염기치환 중 transition과 transversion을 동시에 사용한 경우와 각각 하나만을 사용한 경우에는 서로 다른 결과를 나타내었기 때문에 염기서열을 비교할 때는 codon의 위치에서 3번째의 염기를 빼고 neighbor-joining 방법을 사용하여 bootstrapping(500회 반복)한 후 계통수를 작성하였다(Fig. 5). 이는 단백질을 암호화하는 유전자의 3번째 염기 위치에서의 치환율이 다른 두 염기 위치보다 매우 높기 때문에 분석에 혼란을 가중시킬 수 있기 때문이다(Laure *et al.*, 1997). 그 결과 16S rDNA에서와 같이 굴과 바위굴의 유연관계가 강굴보다 더 가까운 결과를 나타내었다. 아미노산서열의 분석 결과에서는 UPGMA 방법에서는 16S rDNA와 같은 계통수를 보였으나(Fig. 6, A) neighbor-joining method를 사용하였을 때는 강굴이 바위굴과 높은 근연관계를 보였다(Fig. 6, B). Table 2에 나타난 COI의 아미노산서열로부터의 유전적 거리는 실제 굴과 바위굴간(0.015) 강굴과 바위굴간(0.030)보다 더 가까운 것으로 나타났다. Neighbor-joining 계통수에서 COI 염기서열과 아미노산서열의 bootstrap value가 각각 45%와 78%인 것으로 보아 분석한 COI 유전자 지역은 saturation이 많이 되어 해상력이 상당히 떨어지는 것으로 보이며 이는 세 종 굴류의 유연관계를 분석할 때 16S rDNA가 더 효과적일 수 있다는 것을 의미한다.

COI 유전자는 단백질 암호 유전자이기 때문에 유전자 내의 A+T 비율에 대한 분석은 16S rDNA



**Fig. 6.** Phylogenetic trees for four oyster species based on the amino acid sequences of COI gene. (A) UPGMA tree and (B) Neighbor-joining tree constructed with p-distance matrix: bootstrap confidence intervals from 500 replicates are indicated. CG, *Crassostrea gigas*; CN, *C. nippona*; CA, *C. ariakensis*; OA, *Ostrea angasi*.

**Table 3.** Percentage of A+T in 16S rDNA and in codon positions of COI genes.

	COI			16S
	1+2+3	1+2	3	
<i>Crassostrea gigas</i>	60.6	64.7	71.6	63
<i>C. nippona</i>	62.9	67.9	78.4	62.3
<i>C. ariakensis</i>	58.3	60.7	63.2	63

Note. For COI, the percentage was calculated with the first two (1+2) codon positions, with the third (3) codon position, and with all three (1+2+3) codon positions.

에 비해 중요할 수 있다(Bonnaud *et al.*, 1994, 1997). *Crassostrea* 속 3종간의 16S rDNA A+T 비율(62.3-63%)은 큰 차이가 없었으나 COI 유전자의 경우는 뚜렷한 차이를 보여주었다. COI에서는 codon 내 염기 위치에 따라서 비율이 58.3-78.4%로 다양하게 나타났다. 강굴의 A+T 비율이 58.3-63.2%로 다른 두 종(굴 60.6-71.6%, 바위굴 62.9-78.4%)과 차이를 보였으며 codon의 3번째 염기 위치에서 굴과 바위굴의 경우는 각각 71.6%와 78.4%의 비율을 보였으나 강굴은 63.2% 정도로 두 종에 비해 가장 큰 차이를 보였다(Table 3). 이 결과는 우리가 분석한 *Crassostrea* 속 3종에서 굴과 바위굴간의 근연관계가 강굴보다 더 가까운 것을 의미한다.

한국산 굴류에 대한 정확한 계통유연관계를 확립하기 위해서는 보다 많은 종을 대상으로 연구를 수행하고, 분석 유전자의 경우 16S rDNA와 COI 유전자는 가능한 더 큰 지역을 분석하는 것이 필요하며, 미토콘드리아의 다른 유전자(12S rDNA, cytochrome b, COII, COIII 등)들도 분석할 필요가 있다.

## 참 고 문 헌

- Anderson, T. J. and R. D. Adlard, 1994. Nucleotide acid sequence of a rDNA internal transcribed spacer supports synonymy of *Saccostrea commercialis* and *S. glomerata*. *J. Moll. Stud.*, **60**: 196-197.
- Banks, M. A., D. Hedgecock and C. Waters, 1993. Discrimination between closely related Pacific oyster spp. (*Crassostrea*) via mitochondrial DNA sequences coding for large subunit rRNA. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **2**: 129-136.
- Banks, M. A., D. J. McGoldrick, W. Borgeson and D. Hedgecock, 1994. Gametic incompatibility and genetic divergence of Pacific and Kumamoto oysters, *Crassostrea gigas* and *C. sikamea*. *Mar. Biol.*, **121**: 127-136.
- Birnboim, H. C. and J. Doly, 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucl. Acids Res.*, **7**: 1513-1523.
- Bonnaud, L., R. Boucher-Rodoni and M. Monnerot, 1994. Phylogeny of decapod cephalopods based on partial 16S rDNA nucleotide sequences. *C. R. Acad. Sci. (III)*, **317**: 581-588.
- Bonnaud, L., R. Boucher-Rodoni and M. Monnerot, 1997. Phylogeny of cephalopods inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **7**(1): 44-54.
- Corpet, F., 1988. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucl. Acids Res.*, **16**(22): 10881-10890.
- Felsenstein, J., 1993. Phylogeny inference package (PHYLIP) 3.5c. University of Washington, Seattle.
- Foighil, D. O., B. A. Marshall, T.J. Hilbish and M. A. Pino, 1999. Trans-Pacific range extension by rafting is inferred for the flat oyster *Ostrea chilensis*. *Biol. Bull.*, **196**: 122-126.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3**: 294-299.
- Jozefowicz, C. J. and D. O. Foighil, 1998. Phylogenetic analysis of southern hemisphere flat oysters based on partial mitochondrial 16S rDNA gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **10**(3): 426-435.
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei, 1993. MEGA. Molecular Evolutionary Genetics Analysis. The Pennsylvania State Univ., University Park, PA.
- Laure, B., B. R. Renata and M. Monnerot, 1997. Phylogeny of cephalopods inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **7**(1): 44-54.
- Littlewood, D. T., 1994. Molecular phylogenetics of cupped oysters based on partial 28S rRNA gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **3**(3): 221-229.
- Palva, T. K. and E. T. Palva, 1985. Rapid isolation of animal mitochondrial DNA by alkaline extraction. *FEBS*, **192**: 267-270.
- Saitou, N. and M. Nei, 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 406-425.



- 류성규, 유명숙, 1973. 굴의 양식에 관한 생물학적 연구 (II): 참굴의 산지별 특성. 한수지. **6**: 65-75.
- 박미선, 유호영, 박두원, 지영주, 임현정, 1995. 양식굴의 품종개량에 관한 연구. 수진사업보고.
- 한국동물분류학회, 1997. 한국동물명집. 아카데미서적.

RECEIVED: 3 September 2000

ACCEPTED: 4 October 2000

## Phylogenetic Relationship Among Four Species of Korean Oysters Based on Mitochondrial 16S rDNA and COI Gene

Sang Youp Lee, Doo Won Park\*, Hye Suck An\*\* and Sang Hae Kim  
(School of Biotechnology and Biomedical Science, Inje University, Kimhae,  
Kyongnam 621-749, Korea; \*Aquaculture Division and \*\*Biotechnology Division,  
National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-900, Korea)

### ABSTRACT

Partial mitochondrial 16S rDNA and COI gene were amplified using PCR and sequenced for four species of oysters in Korea. Phylogenetic relationships among them were inferred from their aligned sequences by neighbor-joining method. The sequence comparison data of two mitochondrial genes showed that the genetic distinction between two oyster genera (*Crassostrea* and *Ostrea*) was obvious. Phylogenetic analysis based on the nucleotide sequences and A+T percentage of two genes indicates that *C. gigas* and *C. nippona* strongly formed a sister group and then *C. ariakensis* was clustered with the clade although that based on amino acid sequences of COI gene by neighborjoining method represented different phylogenetic tree.