

한국 주변해역 가리비로부터 분리한 18S rDNA의 염기서열 분석

김미정 · Long-Guo JIN · 진형주 · 조지영
박중연* · 장영진** · 홍용기+
부경대학교 생물공학과, *국립수산진흥원 생물공학과
**부경대학교 양식학과

Sequence Analysis of the 18S rDNA from Scallops Collected around Korean Sea

Mi-Jung KIM, Long-Guo JIN, Hyung-Joo JIN, Ji-Young CHO
Jung-Youn PARK*, Young Jin CHANG** and Yong-Ki HONG+
Department of Biotechnology, Pukyong National University, Namku, Pusan 608-737, Korea
*Biotechnology Division, National Fisheries R & D Institute, Pusan 619-900, Korea
**Department of Aquaculture, Pukyong National University, Namku, Pusan 608-737, Korea

Sequences of partial 18S rDNA have been analyzed to elucidate genetic diversity of scallops collected around Korean sea. The scallops used in genetic comparison are *Argopecten irradians concentricus*, *Amusium japonicum japonicum*, *Chlamys farreri farreri*, *Chlamys (Swiftopecten) swifti* and *Patinopecten yessoensis*. The 18S rDNA sequences were aligned by Clustalx program. Phylogenetic tree was drawn by Treecon program. The scallops were divided into two groups-the Family Pectinidae containing *A. japonicum japonicum* and the Family Propeamussiidae containing *Argopecten*, *Chlamys* and *Patinopecten* genera. The Family Propeamussiidae was also divided into the Supergenera *Aequipecten* containing *A. irradians concentricus* and Supergenera *Chlamys* containing *C. farreri farreri*, *C. swifti* and *P. yessoensis*. The species of *C. swifti* was closer to the *P. yessoensis* rather than *C. farreri farreri* in respect to nuclear 18S rDNA sequence.

Key words: 18S rDNA, Korean sea, PCR, Scallop, Sequence analysis

서 론

저서성 조개류인 가리비는 분류학상 연체동물문 (Mollusca), 이매패각 (Bivalvia), 익각목 (Pteroida)에 속하며 (National Fisheries R & D Institute, 1999), 전세계적으로는 360여종이 분포한다 (Hardy, 1991). 우리나라에는 동해안에 분포하는 참가리비 혹은 큰가리비 (*Patinopecten yessoensis*)와 고랑가리비 (*Chlamys swifti*; *Swiftopecten swifti*), 전 연안에 분포하는 비단가리비 혹은 파래가리비 (*Chlamys farreri farreri*), 제주도 연안에 분포하는 해가리비 (*Amusium japonicum japonicum*) 및 혼한가리비 (*Chlamys nobilis*), 동해안과 경남 연안에 서식하는 국자가리비 (*Pecten albicans*) 등 6종의 분포가 보고된 바 있다 (Son, 1997; Park, 1998). 가리비류는 산업적으로 매우 중요한 양식대상 패류 중의 하나로 특히, 육질부에 해당하는 껍각근은 맛이 좋아 세계인의 사랑을 받고 있는 기호 식품이다. 가리비류에 관한 연구는 굴류, 담치류와 함께 오래된 역사를 가지고 있으며, 유럽이나 미국에서는 자연산 가리비류를 대상으로 자원 생태 및 생리에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다 (Shumway, 1991). 우리나라에서는 가리비 양식 기술의 발전에 의해 1996년도에는 102 M/T의 생산량으로 4억 6천만원의 생산고를 올렸으며 (The Fisheries Association of Korea, 1997),

참가리비의 종묘 생산 및 양성은 산업적 단계까지 성공적으로 이루어지고 있다. 그러나 수입 자유화의 물결에 따라 미국에서 수입하여 양식된 중국산 해만가리비 (*Argopecten irradians concentricus*)가 식용으로 수입되거나 양식용 종패로 반입되고 있으며, 또한 일본산 참가리비 (*Patinopecten yessoensis*)의 종패를 수입하여 양식하고 있어 기존의 재래종 가리비 자원에 대한 유전적 교란이 일어날 가능성이 높다 (Kenchington et al., 1993). 따라서 우리나라 자연에서 서식하거나 또는 양식되고 있는 가리비류의 유전자원에 대한 평가가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 우리나라에 많이 분포하고 있는 가리비 및 인접국에서 주로 양식되어지고 있는 가리비의 품종들에 대한 유전적 차이점을 18S rDNA의 염기서열을 통해 비교함으로써 장차 상호간의 유전적 교란이 일어날 가능성에 대한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시료채집 및 전처리

본 실험에서 사용된 가리비는 비교적 생산량이 많은 국내산과 해외에서 종묘를 수입해 현재 우리나라에서 양식하고 있는 것 등을 종별로 구하여 사용하였다 (Table 1). 시료는 살아있을 때 급속 냉동시켜 -20°C에서 보존하면서 부위별로 DNA를 추출 비교한

*Corresponding author: ykhong@pknu.ac.kr

Table 1. Morphological characteristics of scallops used in this study. Abbreviations: A, anterior auricle; P, posterior auricle; LV, left valve; RV, right valve; BV, both valve

Origin (Collection site)	Common name	Scientific name	Morphological characteristics and shell color			
			Auricle comparison	Valve convexity & shape	Phical number & characteristics	Valve color & growth line
Korea (Kangwon, Korea; farm)	참가리비, 큰가리비 Yesso scallop	<i>Patinopecten yessoensis</i>	A ≈ P large shallow byssal notch	LV < RV round fan shape	LV-21, RV-23 lower & round ribs	LV-light brown, RV-white
Korea (Kangwon, Korea; wild)	참가리비, 큰가리비 Yesso scallop	<i>Patinopecten yessoensis</i>		LV < RV round fan shape	LV-21, RV-22 lower & round ribs	LV-light brown, RV-white
China (Kangwon, Korea; farm)	참가리비, 큰가리비 Yesso scallop	<i>Patinopecten yessoensis</i>		LV < RV round fan shape	LV-17, RV-18 lower & round ribs	LV-brown, RV-yellowish white
Japan (Kangwon, Korea; farm)	참가리비, 큰가리비 Yesso scallop	<i>Patinopecten yessoensis</i>		LV < RV round fan shape	LV-14, RV-17 lower & round ribs	LV-brown, RV-yellowish white
Russia (Vladivostok, Russia; wild)	참가리비, 큰가리비 Yesso scallop	<i>Patinopecten yessoensis</i>		LV < RV round fan shape	LV-18, RV-21 lower & round ribs	LV-brown, RV-white
Korea (Paeklyong Island, Korea; wild)	비단가리비, 파래가리비 Farrer's scallop	<i>Chlamys farreri farreri</i>	A >> P deep byssal notch	LV > RV fan shape	LV-15, RV-26 be frilly projection	BV-yellowish red
Korea (Kangwon, Korea; wild)	비단가리비, 파래가리비 Farrer's scallop	<i>Chlamys farreri farreri</i>	persitent ctenolium oblique posterior	LV > RV fan shape	LV-11, RV-22 be frilly projection	BV-yellowish red
Korea (Kangwon, Korea; wild)	고랑가리비 Furrow scallop	<i>Chlamys swifti</i> , <i>Swillopecten swifti</i>	A >> P deep byssal notch oblique posterior	LV > RV fan shape	LV-5, RV-4 higher & large ribs	LV-pink brown, RV-light brown, BV-3 rising growth lines
U.S.A. (Namhae Island, Korea; farm)	해만가리비 Carolina bay scallop	<i>Argopectem irradians concentricus</i>	A < P shallow byssal notch	LV > RV round fan shape	LV-16, RV-16 lower & round ribs	BV-grayish blue
Korea (Cheju Island, Korea; wild)	해가리비 Sun & Moon scallop	<i>Amusium japonicum japonicum</i>	A = P	LV ≥ RV nearly flat, round shape, smooth valves	LV-41, RV-46 interior-pair	LV-reddish brown with lighter concentric line, RV-yellowish white

후, 추출된 DNA의 순도가 높은 폐각근 (adductor muscle)을 재료로 사용하였다.

가리비 종별 폐각의 형태 비교

가리비 종별 형태는 폐각의 형태에 따라 전이 (anterior auricle) 및 후이 (posterior auricle)의 크기, 폐각의 부푼 정도, 방사륜의 형태, 성장맥의 형태, 좌각 및 우각의 크기 비교, 폐각의 색깔 등을 기준으로 관찰하여 비교하였다 (Kata, 1960; Kata, 1971; Feinberg, 1979; Arzamastsev, 1997; National Fisheries R & D Institute, 1999).

DNA 추출

DNA 추출은 proteinase K-phenol 방법 (Jackson et al., 1991; Patwary et al., 1994)을 따랐다. 우선 가리비의 여러 조직 (폐각근, 아가미, 생식소, 소화낭, 신장)에서 total DNA를 추출해서 Mini Fluorometer (Hoefer, Model TKO 100)로 정량하였으며, DNA의 순도는 비색계로 A_{260}/A_{280} 를 측정하여 조사하였다 (Lee et al., 1997). 각 조직에서 0.2 g씩 채취해서 마쇄한 후 lysis buffer (100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 25 mM EDTA, 0.5% SDS)와 proteinase K (0.1 mg/mL)를 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 phenol/chloroform을 처리하여 단백질을 제거하였다. 이 후 ethanol 처리로 DNA를 침전시키고, 침전된 DNA는 Tris-EDTA buffer (TE buffer: 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 녹였다.

TE buffer에 녹인 DNA는 0.7% agarose gel 전기영동상에서 확인하였으며, 추출한 DNA를 PCR의 주형으로 사용하기 위하여 최종 농도를 2 ng/μL로 조정하였다.

PCR 증폭

가리비의 폐각근에서 DNA를 추출한 다음 PCR 증폭은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Co.)를 사용하여 수행하였다. 부분적인 18S rDNA 영역을 증폭하기 위하여 specific한 primer인 M 13-20-F (GAAACTTAAAGGAAT; Frischer et al., 2000)와 NS 8 (TCCGCAGGTTACCTACGGA; White et al., 1990)을 사용하였다. PCR 반응액은 25 μL당 1 μL의 template DNA (2 ng/μL), 1 μL의 각 primer (50 pmol/μL), 1 μL의 2.5 mM dNTPs, 2 μL의 25 mM MgCl₂, 2.5 μL의 10×PCR buffer, 1 μL의 12.5% Tween 20, 0.3 μL의 Taq DNA polymerase (5 u/μL)를 첨가하였다. PCR 반응조건은 94°C에서 5분간 초기반응 시킨 다음, 94°C에서 1분간 DNA denaturation, 50°C에서 1분간 primer annealing, 72°C에서 2분간 DNA extension의 cycle로 35회 반응시키고, 마지막으로 72°C에서 10분간 PCR 생성물들을 충분히 extension시켰다.

전기영동

PCR 생성물 (10 μL)을 0.5 μg/mL의 EtBr가 포함된 1% agarose gel에 loading하여 0.5×TAE buffer (20 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA, pH 8.0)에서 100V 전압으로 30분간 전기영동하였다 (Sa-

mbrook et al., 1989). 전기영동후 원하는 DNA band만을 agarose gel에서 오려내어 DNA extraction kit (Boehringer Mannheim Co.)의 protocol에 따라 DNA를 회수하였다.

형질전환 및 Plasmid 추출

DNA ligation과 대장균 INVaF'로의 형질전환은 Invitrogen사의 Topo TA cloning kit의 protocol에 따라 수행하였으며, plasmid 추출은 High Pure Plasmid Isolation Kit (Boehringer Mannheim Co.)의 protocol에 따라 추출하였다. Plasmid를 추출한 다음 원하는 PCR product가 삽입되었는지의 여부를 확인하기 위하여 EcoRI 제한효소로 분해하여 DNA 삽입을 확인하였다.

DNA 염기서열 분석

DNA 염기서열은 DNA Auto Sequencer (ABI PRISM 377, Perkin Elmer Co.)로 분석하였으며, 염기 상동성은 NCBI의 BLAST search program (Altschul et al., 1997)을 이용하여 비교하였다. 부분적인 18S rDNA sequence는 Clustalx1.81 program (Jeannot et al., 1998)을 이용하여 alignment시켰고, alignment view는 GeneDoc program (Nicholas et al., 1997)을 사용하였다. 그리고 phylogenetic tree는 Treecon program (Van de Peer and de Wachter, 1994)을 이용하여 그렸다.

결 과

가리비의 중간 패각의 형태 비교

실험재료의 가리비를 우선 패각의 형태에 따라 형태적으로 분류하였다. 그 중 참가리비의 패각 (Fig. 1A, B, C, D, E)은 원형에 가까우며, 전이와 후이는 매우 발달하였으며 크기가 비슷하다. 얇은 byssal notch를 가지고 우각이 좌각보다 크다. 좌각은 자갈색으로 편평한 편이고 우각은 백색으로 약간 부풀어 있다. 표면은 거칠고 20개 내외의 낮은 방사륵을 가진다. 비단가리비의 패각 (Fig. 1F, G)은 부채형으로 전이는 크게 발달하였으나 후이는 작은 특징을 가지고 있다. 깊은 byssal notch를 가지며 좌각이 우각보다 크다. 좌우각 모두 부풀어 있으나 좌각이 우각보다 약간 더 볼록하다. 15줄 내외의 굵은 방사륵은 비늘모양의 강한 돌기를 내고 그 사이 사이에 한두 줄의 가는 방사륵이 있다. 개체마다 색의 변이가 심하다. 고랑가리비의 패각 (Fig. 1h)은 부채형으로 전이는 크게 발달하였으나 후이는 작다. 깊은 byssal notch를 가지고 좌각이 우각보다 크다. 좌우각이 모두 부풀었으나 좌각이 우각보다 더 볼록하다. 5줄의 굵고 큰 방사륵이 있고, 이것은 성장맥에 의해 3단으로 크게 봉기된 특징이 있다. 해만가리비의 패각 (Fig. 1i)은 원형에 가까운 부채꼴이며 후이는 전이보다 크고 후연은 직선을 나타낸다. 얇은 byssal notch를 가지고 좌각이 우각보다 크다. 좌각보다 우각이 더 부풀어 있고 회청색이다. 방사륵의 단면은 둥글고 뚜렷하며 성장맥은 조밀하게 전면을 덮고있어 거칠어 보인다. 그리고 해가리비의 패각 (Fig. 1j)은 원형에 가깝고 매끄러우며, 전이와 후이는 각정을 중심으로 대칭이다. 좌각은 적갈색으로 편

평한 편이고 우각은 백색으로 약간 볼록하다. 좌각에는 매우 가늘고 조밀한 성장맥이 동심원을 그리고 패각의 내면에는 방사륵이 두 줄씩 뻗어나 비교적 구별이 용이하다.

이들의 산지와 형태적 특징을 전·후이, 패각의 부분 정도, 형태, 색 및 방사륵 수 등을 비교 정리하면 Table 1과 같다. 참가리비와 해가리비는 전이와 후이의 크기가 비슷한 반면, 비단가리비와 고랑가리비는 전이가 후이보다 매우 크며, 해만가리비는 후이가 전이보다 크다. 참가리비와 해가리비는 좌각보다 우각이 약간 더 크며, 비단가리비와 고랑가리비, 해만가리비는 좌각이 우각보다 더 크다. 그리고 참가리비, 비단가리비, 해만가리비는 20개 내외의 방사륵을 가지는 반면 해가리비는 패각 안쪽에 방사륵이 두 줄씩 짝을 지어 존재하고, 고랑가리는 다른 가리비보다 훨씬 굵고 높은 방사륵이 좌각에 5줄, 우각에 4줄이 존재한다. 그리고 고랑가리비는 성장맥에 의해서 높게 봉기되어 있고, 해가리비는 가는 성장맥이 동심원을 그리며 좌각 표면을 덮고 있는 특징을 나타내어 서로의 형태적 구별이 가능하다.

가리비 조직 부위별 DNA 정량 및 순도

가리비 조직 부위별로 Proteinase K-phenol 추출법에 따른 DNA 검출량은 각 조직 0.2 g당 패각근에서 0.27 mg, 아가미 조직에서 0.48 mg, 생식소 조직에서 1.55 mg, 소화맹낭에서 0.60 mg, 신장에서 0.17 mg의 DNA가 검출되었으며 (Table 2), 추출된 total DNA는 PCR 반응에 사용하기에 매우 충분한 양으로 추출이 잘 되었다. 그러나 A₂₆₀/A₂₈₀ 측정 결과, 패각근에서 1.81로서 가장 순도가 높았으므로, PCR에 사용할 주형 DNA는 조직 외피에 부착되어 있을 여러가지 오염원이 적고 또한 가리비의 주된 상품으로서 판매되기도 하면서 DNA의 순도가 가장 높은 패각근을 사용하여 추출하였다.

염기서열 분석

이 실험에서 사용된 가리비 종들에 대한 18S rDNA 영역의 PCR 생성물을 대상으로한 부분적인 염기서열은 NCBI의 DNA homology 검색을 통하여 비교 분석하였다. 조사된 18S rDNA 영역의 염기서열은 Clustalx program을 사용하여 alignment시킨 결과, Fig. 2와 같이 한국, 중국, 일본이 원산지인 참가리비는 모두 667개의 염기를 가지는 반면, 러시아산 참가리비만 675개의 염기를 가지고 있는 것으로 구별되었다. 그리고 비단가리비는 강원도산의 경우는 667개, 백령도산은 668개의 염기로 구성되었다. 조사된 고랑가리비, 해만가리비 및 해가리비는 669개로 동일하였다. 그러나 중간 및 종내의 개체에 따라 어느 정도의 염기 개수에는 변이가 있는 것으로 보인다. G+C의 함량은 참가리비의 경우 48.1~48.5%, 비단가리비는 2개체간에도 48.0% 및 48.4%로 차이가 나며, 고랑가리비, 해만가리비, 해가리비도 각각 48.4%, 47.7%, 48.1%로 나타나 종간이나 개체간의 변이 차이가 거의 같은 범위내에 있으므로 이 G+C%는 종간 구별의 indicator가 될 수 없을것 같다. 염기서열에서는 참가리비가 99.0~99.7%, 비단가리비는 99.3~99.9%, 고랑가리비는 98.8%, 해만가리비는 98.8%로서 대부분이 99% 전후로 공통적인 염기서열과 일치하였으나, 해가리비는 96.6%

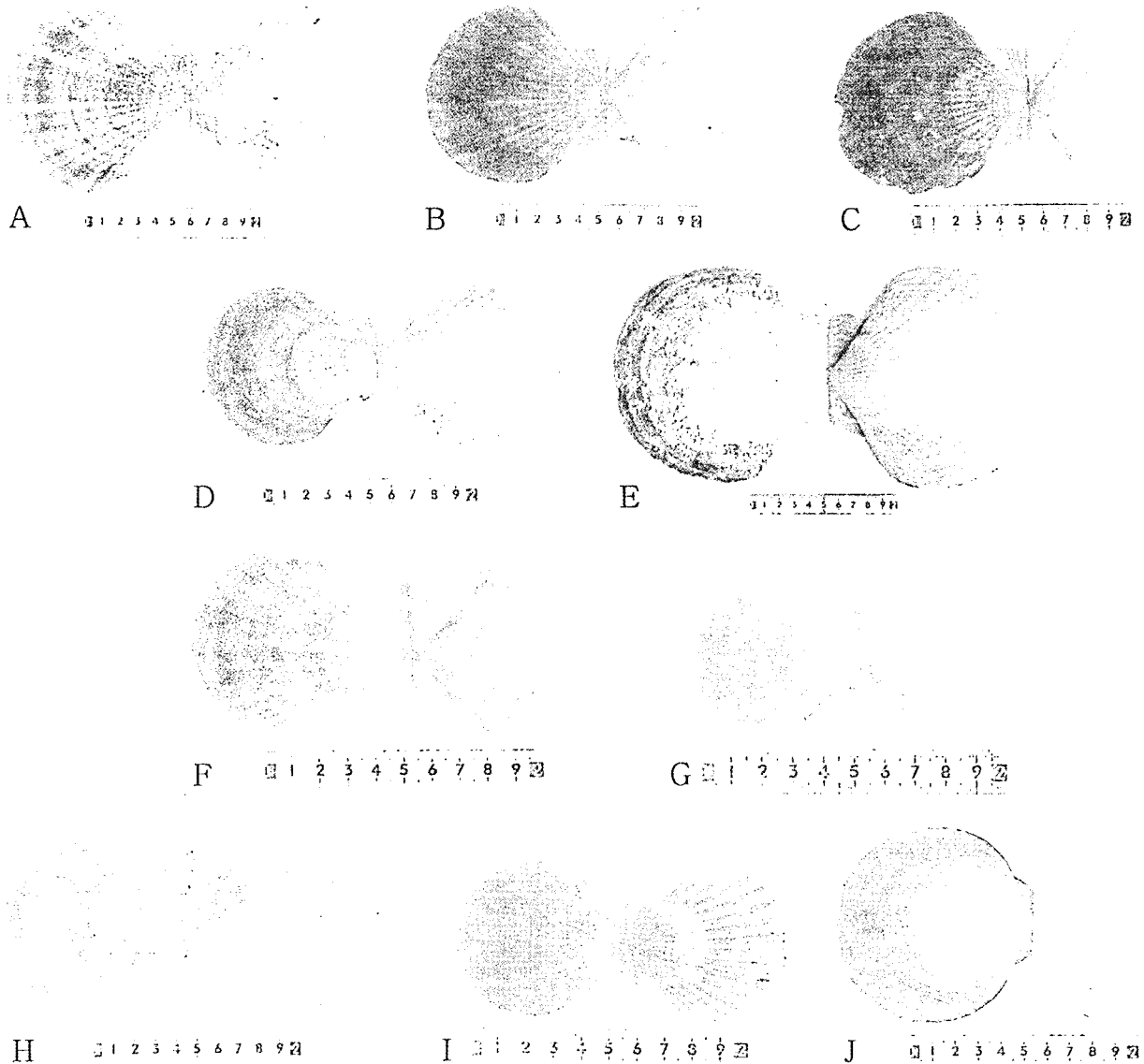


Fig. 1. Outer shell shape of typical scallops used in this study. A: *Patinopecten yessoensis* (aquacultured at Kangwondo, Korea), B: *Patinopecten yessoensis* (wild at Kangwondo, Korea), C: *Patinopecten yessoensis* (aquacultured at Kangwondo; originated from China), D: *Patinopecten yessoensis* (aquacultured at Kangwondo; originated from Japan), E: *Patinopecten yessoensis* (wild at Vladivostok, Russia), F: *Chlamys farreri farreri* (wild at Paeklyong Island, Korea), G: *Chlamys farreri farreri* (wild at Kangwondo, Korea), H: *Chlamys swifti* (wild at Kangwondo, Korea), I: *Argopecten irradians concentricus* (aquacultured at Namhae Island, Korea; originated from U.S.A), J: *Amusium japonicum japonicum* (wild at Cheju Island, Korea).

로 낮은 상동성을 보였다. 해가리비는 분류상으로 가리비과 (Family Pectinidae)에 속하는 반면 그 외 종들은 큰집가리비과 (Family Propeamussiidae)에 속하는 것으로 과 단위에서 나누어지는 것과 일치한다. 그리고 참가리비 중에서는 러시아산 참가리비만이 염기들의 insertion 5곳, deletion 2곳, transversion 6곳, transition 5곳 등 다양한 유전적 변이를 볼 수 있다. 중국산 참가리비는 transversion 5곳 및 transition 2곳, 일본산 참가리비는 insertion 1곳, deletion 1곳, transition 1곳 등으로 우리나라 강원도 산과는 비교적 변이 차이가 거의 없다. 비단가리비는 지역 개체간에 insertion 1곳,

transversion 1곳, transition 2곳으로 상대적인 변이가 적다.

그리고 이들 염기서열들을 대상으로 Treecon W program을 이용하여 종 및 개체 상호간의 유전적 유사성을 그룹짓기 위하여 phylogenetic tree를 그려 보았다 (Fig. 3). 그 결과 크게 두 그룹 즉, 가리비과에 속하는 해가리비와 큰집가리비과에 속하는 나머지 가리비들로 나뉘어지고, 이 큰집가리비과 그룹은 다시 Supergenera *Aequipecten*에 속하는 해만가리비와 Supergenera *Chlamys*에 속하는 고랑가리비, 비단가리비, 참가리비로 나뉘어졌다. 우선 참가리비를 살펴보면 강원도에서의 양식산과 자연산 종이 일치함을

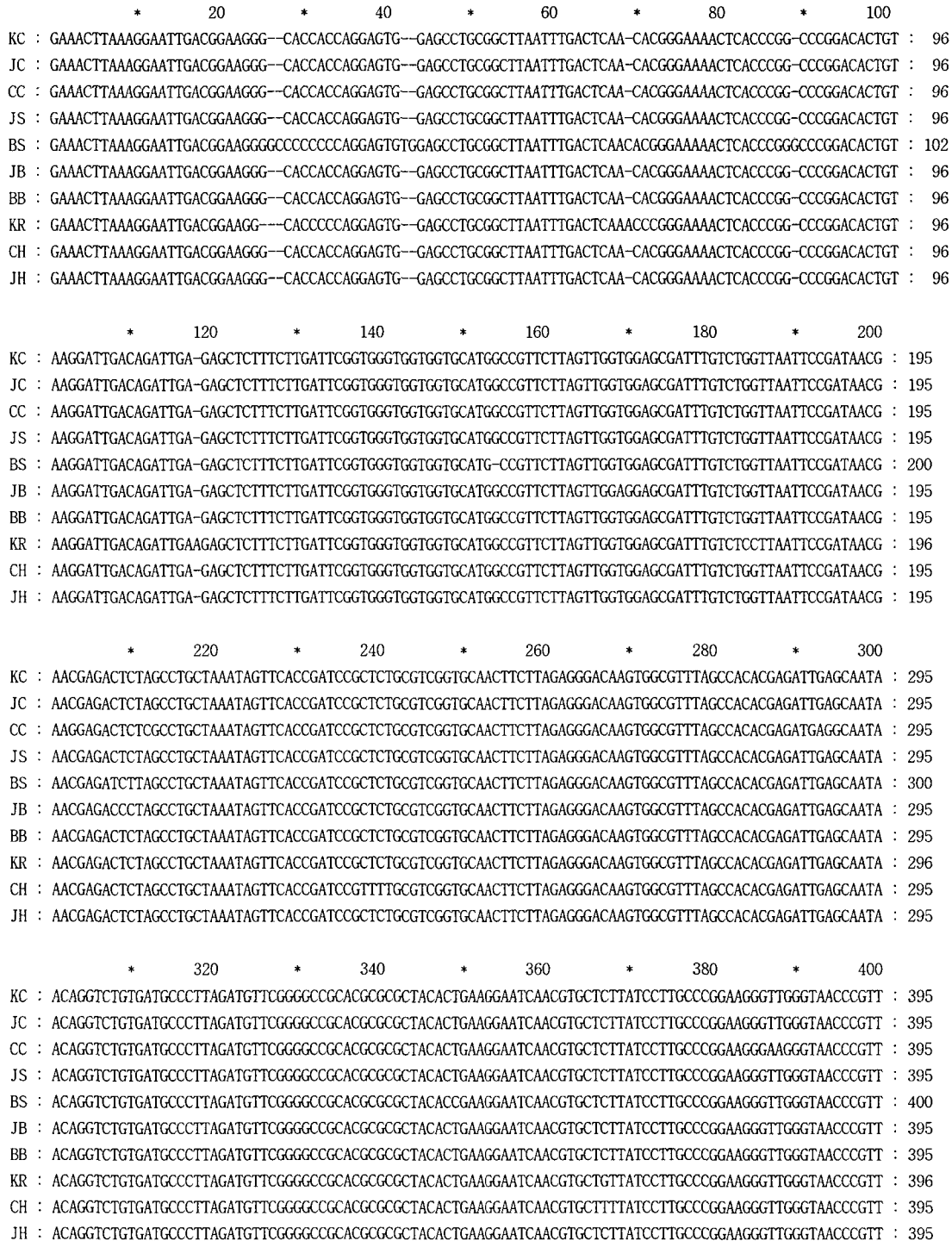


Fig. 2. Aligned partial 18S rDNA sequences of scallops used in this study. Alignment was adjusted using the Clustalx 1.81 program. Numbers refer to nucleotide position. Dashes denote alignment gap. Symbols: KC, *Patinopecten yessoensis* (aquacultured at Kangwondo, Korea). JC, *Patinopecten yessoensis* (wild at Kangwondo, Korea). CC, *Patinopecten yessoensis* (aquacultured at Kangwondo; originated from China). JS, *Patinopecten yessoensis* (wild at Japan). BS, *Patinopecten yessoensis* (wild at Vladivostok, Russia). JB, *Chlamys farreri farreri* (wild at Kangwondo, Korea). BB, *Chlamys farreri farreri* (wild at Paeklyong Island, Korea). KR, *Chlamys swifti* (wild at Kangwon, Korea). CH, *Argopecten irradians concentricus* (aquacultured at Namhae Island, Korea; originated from U.S.A). JH, *Amusium japonicum japonicum* (wild at Cheju Island, Korea).

* 420 * 440 * 460 * 480 * 500

KC : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 JC : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 CC : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 JS : GAACCTNCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATNCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTACCGTCCCT : 495
 BS : GAACCTCCTTCGRGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 499
 JB : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 BB : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 KR : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 495
 CH : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494
 JH : GAACCTCCTTCGTGCTAGGGATTGGGGCTTGAATTCCTCCCATGAACGAGGAATCCCAGTAAGCGCGAGTCATAAGCTCGCGTTGATTAC-GTCCCT : 494

* 520 * 540 * 560 * 580 * 600

KC : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 JC : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 CC : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 JS : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 BS : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCTTTTTCGAGTCGGT : 598
 JB : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 BB : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589
 KR : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 591
 CH : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 590
 JH : GCCCTTTGTACACACCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGTTTAGTGAGCTCCTCGGATTGGTCCC-GACACGGGGGCAACCCT----CGAGTCGGT : 589

* 620 * 640 * 660 * 680

KC : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 667
 JC : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 667
 CC : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 667
 JS : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 667
 BS : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 675
 JB : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAACCAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 668
 BB : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 667
 KR : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAA-GTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 669
 CH : GTGCC-GAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAAAGTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 669
 JH : GTGCCGAAAAGACGAGCAAACCTTGATTATTTAGAGGAAAGTAAAAGTCGTAAC-AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA : 669

Fig. 2. Continued

Table 2. DNA amount and purity extracted from organ tissues of the scallop *Patinopecten yessoensis*. Each tissue (0.2 g) was used to extract DNA using proteinase K-phenol procedure

Tissue	Extracted DNA amount (mg/g)	Purity (A ₂₆₀ /A ₂₈₀)
Adductor muscle	1.35	1.81
Digestive diverticulum	3.00	1.15
Gill	2.40	1.24
Gonad	7.75	1.00
Kidney	0.85	1.73

알 수 있었다. 그리고 이것은 중국과 일본에서 종묘를 수입하여 양식되고 있는 것과 러시아의 자연산과도 다소 차이가 있음을 볼 수 있지만 전체적으로는 참가리비 종으로 그룹지워진다. 그러나 고랑가리비는 Supergenera *Chlamys*에 같이 속하지만 18S rDNA 염기서열 구조에서는 러시아산의 참가리비와 가장 가깝게 나타났

으며 그 외 강원도, 중국, 일본산의 참가리비 그룹과도 유사하게 묶여졌다. 그리고 비단가리비의 강원도산과 백령도산은 동일 종에 속하며, 18S rDNA 염기서열도 서로 유사하여 지리적인 변이보다는 유전생물학적 유사성이 더 높은 것으로 나타났다.

고 찰

최근 우리나라에서는 패류 성장에 좋은 입지 조건과 가리비의 양식 기술 개발에 의해 참가리비의 종묘 생산 및 양성이 산업적 단계까지 성공적으로 이루어지고 있으며, 양식 생산은 1991년에 6.2톤을 기록한 이래 1998년에는 573톤의 생산을 보임으로써, 앞으로는 연간 1,000톤 이상의 생산이 가능한 것으로 예측된다 (Lee et al., 2000). 그러나 최근에는 대부분의 양식산업에 단기간의 수익성에 목적을 두고 저가, 저품질의 외국산 종묘를 무분별하게 수입하여 방치함으로써 기존에 서식하고 있는 국내 고유종 및 토

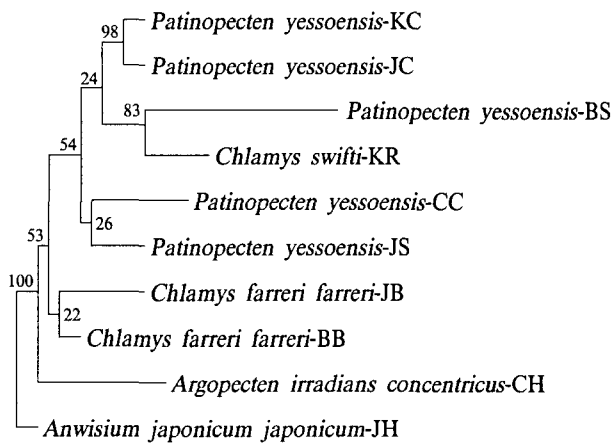


Fig. 3. A molecular phylogenetic tree of scallop individuals in the class Pteroida based on the neighbor-joining method with values for each internal branching. It is determined by bootstrap analysis with 1000 replications. The values indicate percentages along the branches. Symbols of KC, JC, CC, JS, BS, JB, BB, KR, CH, and JH are same as Fig. 2.

착종과 직·간접적으로 유전적 혼란뿐만 아니라 생태계에 변화조래 가능성 등 부정적인 요인을 배제할 수 없는 실정이다. 따라서 현재 우리나라에 많이 서식하고 있는 가리비류의 유전자원에 대한 평가와 고유종의 관리 및 보존을 위한 유전자원 연구가 절실하다. 그럼에도 불구하고 우리나라에서는 종에 대한 분류에 있어서 The Korean Classification Society (1997)는 한국동물명칭에 가리비과에 속하는 해가리비 1종과 큰집가리비과에 속하는 고랑가리비, 비단가리비, 참가리비 등을 비롯한 20종의 가리비 이름을 소개하고 있으나, National Fisheries R & D Institute (1999)의 한국 연근해 유용 연체동물도감에는 가리비과에 속하는 해가리비 1종과 큰집가리비과에 속하는 비단가리비, 참가리비를 비롯한 7종만을 소개하고 있을 뿐이다. 종명은 소개되어 있으나 그 형태적 특징을 알 수 없는 것들도 있어 가리비류의 분류에 어려움이 많다.

고랑가리비, 비단가리비, 참가리비, 해가리비, 해만가리비 등 5종의 유전적 유사도를 비교한 결과, 가리비과에 속하는 해가리비와 큰집가리비과 중의 Supergenera *Aequipecten*에 속하는 해만가리비와 Supergenera *Chlamys*에 속하는 고랑가리비, 비단가리비, 참가리비는 유전적으로 큰 차이가 있음을 알 수 있다. Supergenera *Chlamys*에 속하는 종들을 살펴보면, 강원도에서의 양식산 가리비와 자연산 가리비가 유전적으로 일치함을 알 수 있다. 이것으로 보아 지금 강원도에서 양식 중인 가리비들이 자연계로 많이 유출되었거나 혹은 이 지역 자연산 종묘를 양식에 사용하는 것으로 확인된다. 그리고 중국산과 일본산 참가리비가 유전적으로 비슷하나 강원도에서 양식하고 있는 것과는 다소 차이가 있음을 알 수 있었다. 우리나라 강원도산 참가리비도 러시아 블라디보스톡산 참가리비와는 유전적 유사성이 일본 혹은 중국산 참가리비들 보다 더 높다. 이는 지리적으로 블라디보스톡산 참가리비들의 유생들이 동해안 한류를 타고 북에서 남쪽으로 이동하면서 자연적인 유전교잡이 보다 많이 이루어져 왔을 것으로 추정된다. 실험에 사용된

중국산 참가리비는 명확한 근거는 없지만 18S rDNA 염기서열 구조에서 일본산과 서로 가장 유사하므로 아마 일본산 참가리비 종패를 이식하여 양식한 것이 아닌가도 여겨진다. 고랑가리비, 비단가리비, 참가리비는 같은 속은 아니지만 상위 속인 Supergenera *Chlamys*에 속해서 하나의 group을 이루고 있다. 여기서 고랑가리비는 다른 *Chlamys complex* (강원도산 및 백령도산 비단가리비) 보다는 참가리비에 더 가까운 18S rDNA의 구조를 보이며, 이 결과는 동위효소를 이용하여 한국산 가리비과 패류의 계통분류학적인 연구의 결과와도 일치한다 (Kim and Park, 1999). 이런 사실들로 미루어보아 장차 고랑가리비와 참가리비는 18S rDNA 뿐만 아니라 다른 유전자들과의 비교와 더불어 생물학적인 분류가 재검토되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 해양수산부에서 시행한 수산특정연구사업으로 수행된 결과입니다. 시료 채집에 도움을 주신 홍성윤 교수 및 이정미 박사, 이정용 박사 등 여러분에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

Altschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucl. Acids Res.*, 25, 3389~3402.

Arzamastsev, I.S. 1997. Atlas of Commercial Marine Invertebrates, Grasses and Algae of Primorsii Krai. Citiiprint Company, Vladivostok, Russia. p. 52.

Feinberg, H.S. 1979. Simon and Schuster's Guide Shells. Simon & Schuster Inc., New York, 512pp.

Frischer, M.E., J.M. Ddanforth, L.C. Tyner, J.R. Leverone, D.C. Marelli, W.S. Arnold and N.J. Blake. 2000. Development of an *Argopeten-specific* 18S rRNA targeted genetic probe. *Mar. Biotechnol.*, 2, 11~20.

Hardy, D. 1991. Scallop Farming. Fishing News Books, Oxford, England, 237pp.

Jackson, D.P., J.P. Hayden and P. Quirke. 1991. Extraction of nucleic acid from fresh and archival material. In *PCR: A practical approach*. M.J. McPherson, P. Quirke and G.R. Taylor, eds. IRL Press, New York, pp. 1~49.

Jeanmougin, F., J.D. Thompson, M. Gouy, D.G. Higgins and T.J. Gibson. 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem. Sci.*, 23, 403~405.

Kata, Y. 1960. Encyclopedia Zoologica Illustrated in Colours. Vol. III. Hokuryu-kan Publishing Co. Ltd., Tokyo, p. 200.

Kata, Y. 1971. New Illustrated Encyclopedia of the Fauna of the Japan. Hokuryu-kan Publishing Co. Ltd., Tokyo, p. 803.

Kennington, E., K.S. Naidu, D.L. Roddick, D.I. Cook and E. Zouros. 1993. Use of biochemical genetic marker to discriminate between adductor muscles of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) and the Iceland scallop (*Chlamys islandica*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50, 1222~1228.

Kim, J.J. and G.M. Park. 1999. Systematic study on the family Pectinidae

- (Bivalvia) in Korea. Allozyme variability. Kor. J. Malacol., 15, 63~69.
- Lee, J., B.S. Kim, D.W. Park and Y.B. Moon. 2000. Present status and future prospect of aquacultural technique for the scallop *Patinopecten yessoensis*. Fisheries Research of National Fisheries R & D Institute. 2, 50~53.
- Lee, J.M., J.W. Park, M.S. Yoo and Y.K. Hong. 1997. Morphological characteristics and genetic diversity using the RAPD technique in the arkshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) from Korea and China. J. Korean Fish. Soc., 30, 297~304.
- National Fisheries R & D Institute. 1999. Commercial Molluscs from the Freshwater and Continental Shelf in Korea. Kudock Publishing Co., Pusan, Korea, p. 197.
- Nicholas, K.B., H.B. Nicholas Jr. and D.W. Deerfield. 1997. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. EMBNEW News, 4, 14.
- Park, Y.J. 1998. Biological studies on aquaculture of the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). Cheju National University. Ph. D. dissertation. 187pp.
- Patwary, M.U., E.L. Kenchington, C.J. Bird and E. Zouros. 1994. The use of random amplified polymorphic DNA markers in genetic studies of the sea scallop *Placopecten magellanicus* (GMELIN, 1971). J. Shell. Res., 13, 547~553.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning; A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, p. 18.88.
- Shumway, S.E. 1991. Scallop: Biology, Ecology, and Aquaculture. Elsevier Science Publishing company Inc., New York, p. 1095.
- Son, P.W. 1997. Biological studies on aquaculture of the sun and moon scallop *Amusium japonicum japonicum* (Bivalvia, Pectinidae). Cheju National University. Ph. D. dissertation. 128pp.
- The Fisheries Association of Korea. 1997. Korean Fisheries Yearbook 1996. Vol. 29. Dongyang Nunwha Publishing Co., Seoul, Korea. p. 583.
- The Korean Classification Society. 1997. List of Animals in Korea (Excluding Insects). Academy Publishing Co., Seoul, Korea. p. 489.
- Van de Peer, Y. and R. de Wachter. 1994. TREECON for windows: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the microsoft windows environment. Comput. Applic. Biosci., 10, 569~570.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White. eds. Academic Press, San Diego, pp. 315~322.

2001년 1월 31일 접수

2001년 3월 10일 수리