

## 일부 28S rRNA 염기서열을 이용한 백합 상과 패류의 계통분류

김세창, 김재진, 홍현철

배재대학교 생물 의학학과

### Molecular Phylogeny of Veneroidea (Bivalvia: Heteroconchia) on the Basis of Partial Sequences of 28S rRNA Gene

Sei Chang Kim, Jae Jin Kim and Hyun Chul Hong

Department of Biology and Medicinal Science, Pai Chai University, Daejeon 302-735, Korea

#### ABSTRACT

To elucidate the phylogenetic relation of the superfamily Veneroidea, we obtained partial 28S rRNA sequences of 14 heterodonts and three pteriomorphs which were collected from Korea and the sequence data of related taxa from GenBank, and analyzed maximum parsimony with PAUP program.

750 of the nucleotide positions were variable, 560 of which were informative under conditions of parsimony. Total tree length was 2,765, and consistency index, homoplasy index (HI), and Retention index was 0.4843, 0.5157, and 0.6291, respectively. Intraspecific variation of 28 rRNA of *Corbicula fluminea* and *Sinonovacula constricta* was 3.1% and 1.3%, respectively. Pitarinae-Cyclininae-Meretrinae group had a clade and Samaranginae, Chioninae, and Dorsininae were clustered.

**Keywords:** Veneridae, 28S rRNA, Phylogeny, Bivalvia, Heterodonta.

#### 서 론

이매패 강, 이치 아강에 속하는 백합 목은 19개 상과 52 과로 구성된 (Vaught, 1989) 조개류 중 가장 거대한 분류군으로 약 500 종의 현생종이 있는 것으로 알려져 있다. 이중 백합 상

과 (Veneroidea) 는 5 과 62 속이 알려져 있으며, 우리나라에는 알려진 472 종의 이매패류 중 백합 목에 속하는 종은 29 과 216 종이 있고 이중 백합 상과 (superfamily Veneroidea) 에는 45 종이 알려져 있다 (Min, 2004).

백합 과 패류는 다양한 해양 환경에 서식하고 있으며 각 판마다 3개의 주치 (cardinal teeth) 를 가지며 간혹 3 개까지의 전치 (anterior teeth) 를 갖는 경우도 있다. 패각의 표면은 평활한 것에서부터 깊고 때로는 분지를 이루는 동심원적 무늬를 갖는다 (Canapa *et al.*, 1996).

백합 과에 대한 분류학적 연구들은 끊임없이 논란이 되고 있는데 (Keen, 1969), 각기 다른 서식 환경에 적응하는 기전과 생활사가 백합 과 패류의 진화에 강한 영향을 주고 있다. 즉 비교적 먼 종간의 패각의 형태는 일부 평형을 이루고 있으며, 비교적 가까운 종 사이에는 패각 형태상 다양화되는 경향이 있다 (Harte, 1992).

백합 과의 분류를 위하여 전기영동 (Borsa *et al.*, 1992), 핵형분석 (Insua and Thiriou-Quévroux, 1992), radio-immunoassay (Harte, 1992) 등이 이루어졌으나 주로 Tapetinae 아과에 국한되어 왔다.

일반적으로 이매패류에 대한 대부분의 계통분류학적 분석은 형태학적 연구에 의존하여왔고 일부 형태학적 형질은 다른 이매패 혈통에서 수렴하는 것으로 알려지고 있다 (Campbell, 2000). 따라서 DNA에 근거한 이매패류의 계통분류학적 연구들이 시도되고 있는데, 상위 분류군에서는 18S rRNA (Adamkewicz *et al.*, 1997, Winnepeninckx *et al.*, 1996; Steiner and Müller, 1996), 28S rRNA (Park and O' Foighil, 2000) 등이, 과 이하의 분류군에서는 mitochondria 16S rRNA (Canapa *et al.*, 2000; Lee and O' Foighil, 2003) 유전자나 cytochrome oxidase 염기서열

Received September 21, 2005; Accepted December 3, 2005

Corresponding author: Kim, Jae Jin

Tel: (82) 42-520-5467 e-mail: jaejkim@pcu.ac.kr

1225-3480/21207

© The Malacological Society of Korea

Table 1. GenBank accession numbers for the taxa used in this study.

Taxa	Voucher specimen No.	GenBank Accession No.	Author
Subclass HETEROCONCHIA	<i>Saxidomus purpuratus</i>	pcu-00255	DQ343859 This study
VENEROIDA	<i>Callista brevisiphonata</i>	pcu-00302	DQ343847 This study
VENEROIDEA	<i>Meretrix petechialis</i>	pcu-00311	DQ343854 This study
VENERIDAE	<i>Cyclina sinensis</i>	pcu-00326	DQ343849 This study
	<i>Ruditapes philippinarum</i>	pcu-00213	DQ343857 This study
	<i>Ruditapes variegates</i>	pcu-00226	DQ343858 This study
	<i>Gomphina aequilatera</i>	pcu-00401	DQ343852 This study
	<i>Dorsinia japonicus</i>	pcu-00510	DQ343851 This study
	<i>Dorsinella corrugata</i>	pcu-00520	DQ343850 This study
	<i>Chione stutchburyi</i>		AF131018 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Mercenaria mercenaria</i>		AF131019 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Mercenaria stimpsoni</i>	pcu-00271	DQ343855 This study
	<i>Protothaca jodoensis</i>	pcu-00273	DQ343856 This study
CORBICULOIDEA:	<i>Corbicula fluminea</i> 1	pcu-00280	DQ343848 This study
CORBICULIDAE	<i>Corbicula fluminea</i> 2		AF131009 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Polymesoda caroliniana</i>		AF131011 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Polymesoda maritima</i>		AF131010 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Neocorbicula limnosa</i>		AF131012 Park and Ó Foighil (2000)
PISIDIIDAE	<i>Pisidium dubium</i>		AF131014 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Musculium lacustre</i>		AF131016 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Pisidium sterkianum</i>		AF131015 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Pisidium dubium</i>		AF131014 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Eupera platensis</i>		AF131017 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Sphaerium corneum</i>		AF131013 Park and Ó Foighil (2000)
MACTROIDEA	<i>Mactra veneriformis</i>	pcu-00347	DQ343853 This study
MACTRIDAE	<i>Rangia cuneata</i>		AF131002 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Mulina lateralis</i>		AF131003 Park and Ó Foighil (2000)
TELLINOIDEA	<i>Sinonovacula constricta</i> 1	pcu-00412	DQ343862 This study
PSAMNOBIIDAE	<i>Sinonovacula constricta</i> 2		AF131005 Park and Ó Foighil (2000)
TELLINIDAE	<i>Macoma balthica</i>		AF131004 Park and Ó Foighil (2000)
DREISSENOIDEA	<i>Dreissena bugensis</i>		AF131008 Park and Ó Foighil (2000)
DREISSENIDAE	<i>Dreissena polymorpha</i> A		AF131006 Park and Ó Foighil (2000)
	<i>Dreissena polymorpha</i> B		AF131007 Park and Ó Foighil (2000)
ASTARTOIDEA	<i>Astarte castanea</i>		AF131001 Park and Ó Foighil (2000)
ASTARTIDAE			
subclass PTERIOMORPHIA	<i>Scapharca subcrenata</i>	pcu-00613	DQ343861 This study
ARCORDA	<i>Scapharca broughtonii</i>	pcu-00621	DQ343860 This study
ARCOIDEA: ARCIDAE			
PTERIOIDA	<i>Atrina pectinata japonica</i>	pcu-00145	DQ343846 This study
PINNOIDEA: PINNIDAE			
OSTREOIDEA			
PECTINOIDEA	<i>Placopecten magellanicus</i>		AF342798 Mallatt and Winchell (2002)
PECTINIDAE			
OSTREOIDEA: OSTREIDAE	<i>Alectryonella plicatula</i>		AF137037 Ó Foighil and Taylor (2000)
GRYPHAEIDAE	<i>Parahyotissa numisma</i>		AF137035 Ó Foighil and Taylor (2000)

을 이용한 연구 (Hoeh *et al.*, 1997) 등이 발표되었다. 특히 Canapa *et al.* (1996) 은 백합 과 패류 9 종을 대상으로 mitochondrial 16S rRNA 유전자 염기서열을 얻어 고생물학

적 자료와 비교한 결과를 보고한 바 있으며, Kim *et al.* (2004) 은 한국에서 채집된 9 종의 백합류의 mitochondrial cytochrome oxidase subunit I의 염기 서열을 분석하여 각

아과 간의 분자계통학적 유연관계를 보고한 바 있다.

본 연구는 이치 아과에 속하는 14 종과 익형 아과의 3 종의 일부 28S rRNA 염기서열을 분석하고 기존에 GenBank에 보고된 자료를 이용하여 백합 상과 내의 아과 (subfamily) 별로 핵 내 유전자 변이에 따른 계통 유연관계를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 패류의 채집 및 보관

본 실험에 사용된 종은 백합 과 (Veneridae), Pitarinae 아과의 *Saxidomus purpuratus* (개조개), *Callista brevisiphonata* (주름백합), Meretricinae 아과의 *Meretrix petechialis* (말백합), Cyclininae 아과의 *Cyclina sinensis* (가무락), Samarangiinae 아과의 *Ruditapes philippinarum* (반지락), *Ruditapes variegates* (에기반지락), *Gomphina aequilatera* (민들조개), Dorsiniinae 아과의 *Dorsinia japonicus* (떡조개), *Dorsinella corrugata* (주름떡조개), Chioninae 아과의 *Mercernaria stimpsoni* (비늘백합), *Protothaca jedoensis* (살조개) 등 11 종을, 재첩과의 *Corbicula fluminea* (재첩), 동죽과의 *Macrta veneriformis* (동죽), Psamnoibiidae 과의 *Sinonovacula constricta* (가리맛조개) 와 비교 그룹으로 익형 아과 (subclass Pteriomorphia) 의 *Scapharca subcrenata* (새꼬막), *Scapharca broughtonii* (피조개) 및 *Atrina pectinata japonica* (키조개) 를 채집을 제외한 해산 패류들은 서남해안에서 각각 채집되었다. 백합 과 패류들을 살아있는 상태로 실험실로 옮긴 후 바로 DNA를 추출 하든가 또는 DNA의 추출 시까지 -70℃의 초저온 냉동고에 보관하였다. 이밖에도 GenBank에 보고된 일부 종의 28S rRNA 염기서열을 비교 대상에 포함하였다 (Table 1).

### 2. DNA 추출

DNeasy Tissue Kit (Quiagen Co.) 를 이용하여, 회사에서 제공하는 protocol에 따라 채집된 패류들의 DNA를 추출 하였다. 즉, 냉동 보관된 패류의 폐각근을 절취하여, 액체질소가 담긴 막자사발에 넣고 마쇄한 후, 여기에 extraction buffer를 첨가하여 suspension시켰다. Proteinase K (20 mg/ml) 를 50  $\mu$ l를 첨가하여 잘 혼합하였다. 50℃에서 2-4 시간 처리한 후 PCI 용액을 첨가, 혼합하여 상온에서 5분간 방치한 후 4,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하였다. 상등액을 wide-bore pipette으로 새로운 tube에 옮겨 ammonium acetate를 첨가한 후 ethyl alcohol을 첨가하였다. 잘 섞은 후 7,000 rpm에서 5분간 원심분리 한 후 absolute ethanol을 첨가하여 DNA를 침전시키고 다시 원심분리 한 후 증발시켰

다. 이 DNA pellet을 ddH<sub>2</sub>O 또는 1 X TE buffer (pH 7.6-8.0) 로 용해시킨 후 DNA의 absorbance 량을 측정 (A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>) 하여 DNA 량을 계산한 다음 PCR 시의 농도를 맞추었다. 추출된 DNA는 tube에 분할한 후 -20℃에 보관하였고 필요시마다 꺼내어 사용하였다.

### 3. Oligo 선정, 합성 및 sequencing

Oligonucleotide primer는 Biv-D (5'-CAAGTACCGTGAGGGAAA-3'), Biv-U (5'-TTTCCCTCACGGTACTTG-3') 을 사용하였다. PCR 반응에 Gene Cyclor (Bio-Rad)를 사용하였으며, PCR premix kit (Super-Bio Co.) 의 protocol에 따라 반응을 실시하였다.

CEQ2000 Dye Terminator Cycling Sequencer (Beckman Co.)를 사용하여 sequencing을 실시하였다. 그 결과들을 확인하고 선정하여 자료 분석에 사용하였다.

### 4. 28S rRNA 분석

본 연구에서 얻은 17 종의 염기서열과 GenBank에서 얻은 23 종의 염기서열을 CLUSTAL X 프로그램 (Thompson *et al.*, 1994) 을 이용하여 정렬한 다음 PAUP 4.0 프로그램을 이용하여 maximum parsimony 방법으로 cladogram을 구하였으며 bootstrap은 500 회를 실시하였다. 기타 모든 설정 값은 각 프로그램의 기본값을 사용하였다.

## 결 과

본 실험에서 밝힌 17 종의 28S rRNA 염기서열의 길이는 최대 1,480 bp (gap 포함) 였으며 (Fig. 1), GenBank에서 얻은 24 종의 염기서열과 함께 최대 절약분석 (maximum parsimony) 분석결과 730 개의 형질은 동일하였고, 서로 다른 750 개 중 560 개의 형질이 유용한 차이 (informative) 를 보였다.

본 실험에서 분석된 한국산 재첩 (*Corbicula fluminea*) 은 미국산 재첩과 2.3% 정도 차이를 나타내었고, 가리맛조개 (*Sinonovacula constricta*) 의 경우 채집지가 동일하게 한국 인데도 불구하고 18 개의 부위에서 차이를 나타내었다. *Dreissena polymorpha*의 경우 3.1%의 차이를 보였다. *Scapharca subcrenata* (새꼬막) 와 *S. broughtonii* (피조개) 는 단지 3 개 부위에서만 차이를 보였다.

전체 tree length는 2,765이었고 consistency index (CI) = 0.4843, homoplasy index (HI) = 0.5157, CI excluding uninformative characters = 0.4406, HI excluding uninformative characters = 0.5594, Retention index (RI) = 0.6291, rescaled consistency

Partial 28S rRNA of Veneroidea

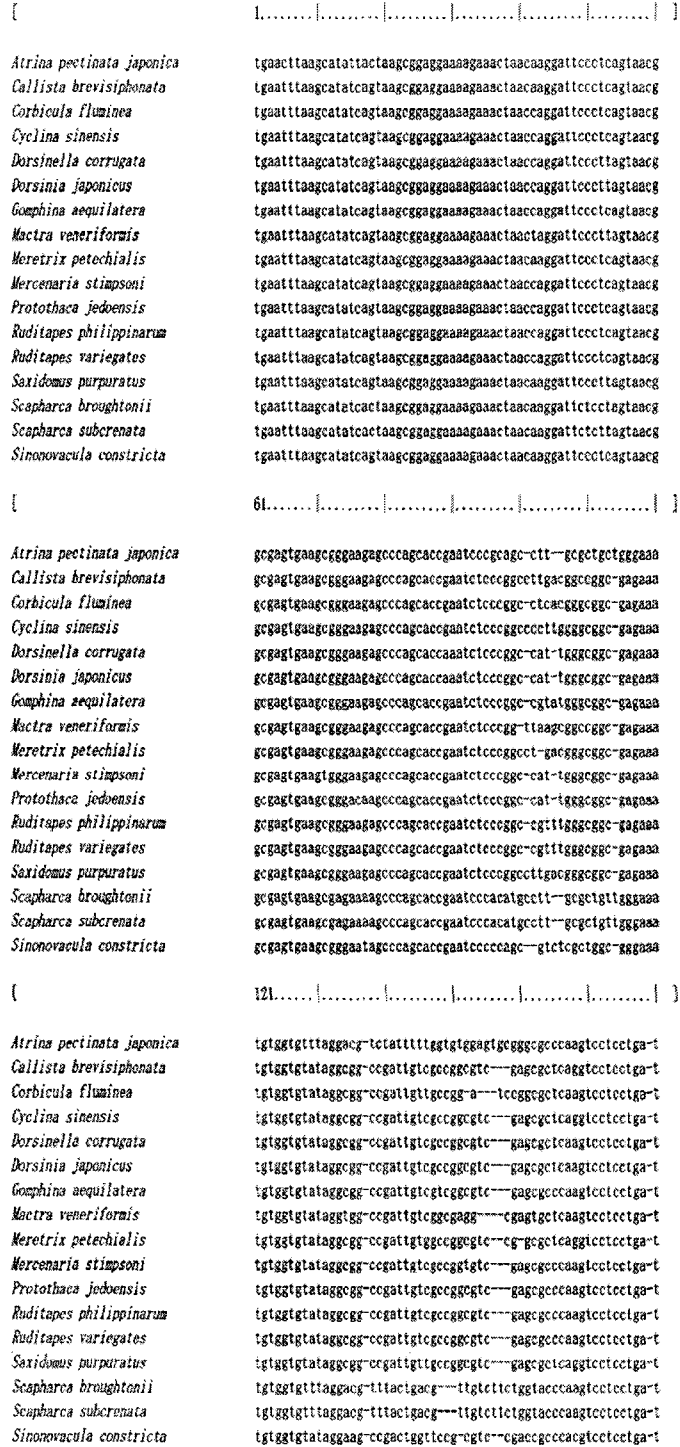


Fig. 1. Aligned partial 28S rRNA sequences for the 14 species of heterodont and 3 pteriomorpha bivalves employed in this study.

[	181.....]
<i>Atrina pectinata japonica</i>	eggge-ctleccagtgagggtcaggecttaccgggacgecte--ttgeceta
<i>Callista brevisiphonata</i>	tggtgc-cttaccagaggggtgtaggcectta-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Corbicula fluminea</i>	cgltgc-cttgcaccagaggggtgtaggcecttgcggcgcttga---gagggcgctt
<i>Cyclina sinensis</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectta-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Dorsinella corrugata</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Dorsinia japonicus</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Gomphina aequilata</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggcgctt
<i>Mastra veneriformis</i>	cgtagc-cttgcaccagaggggtgtaggcecttgcggcgcttgcctgcggcctt
<i>Meretrix petechialis</i>	cgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectta-egggecgaga---ccggcgctt
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Protothaca jodoensis</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggcgctt
<i>Ruditapes philippinarum</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggcgctt
<i>Ruditapes variegatus</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectt-egggecgaga---ccggcgctt
<i>Saxidomus purpuratus</i>	tgtagc-cttaccagaggggtgtaggcectta-egggecgaga---ccggtagctt
<i>Scapharca broughtonii</i>	eggge-cttleccagaggggtgtaggcecttaaccggcaactaga---ggcagcgctt
<i>Scapharca subcrenata</i>	eggge-cttleccagaggggtgtaggcecttaccggcaactaga---ggcagcgctt
<i>Sinonovacula constricta</i>	cgtagc--taccacagaggggtgtaggcecttaccggcgaggcaga---cgggagcctt
[	241.....]
<i>Atrina pectinata japonica</i>	agaaagctctggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-ttggtgtaactca
<i>Callista brevisiphonata</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Corbicula fluminea</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Cyclina sinensis</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Dorsinella corrugata</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Dorsinia japonicus</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Gomphina aequilata</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Mastra veneriformis</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Meretrix petechialis</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Protothaca jodoensis</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Ruditapes philippinarum</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Ruditapes variegatus</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Saxidomus purpuratus</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-aggtagtaactca
<i>Scapharca broughtonii</i>	tggaagccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-tggtagtaactca
<i>Scapharca subcrenata</i>	tggaagccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-tggtagtaactca
<i>Sinonovacula constricta</i>	cgagcgccttggagtcgggtgtttggaaatgcagcccaang-tggtagtaactca
[	301.....]
<i>Atrina pectinata japonica</i>	tctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Callista brevisiphonata</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Corbicula fluminea</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Cyclina sinensis</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Dorsinella corrugata</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Dorsinia japonicus</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Gomphina aequilata</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Mastra veneriformis</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Meretrix petechialis</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Protothaca jodoensis</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Ruditapes philippinarum</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Ruditapes variegatus</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Saxidomus purpuratus</i>	cctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Scapharca broughtonii</i>	tctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Scapharca subcrenata</i>	tctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa
<i>Sinonovacula constricta</i>	tctaaggetaatactggcaagagtcgatagcggaangtaccgtgagggaagttgaa

Fig. 1. continued.

Partial 28S rRNA of Veneroidea

	361.....
<i>Atrina pectinata japonica</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Callista brevisiphonata</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Corbicula fluminea</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Cyclina sinensis</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Dorsinella corrugata</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Dorsinia japonicus</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Gomphina aequilatera</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Mactra veneriformis</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Meretrix petechialis</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Mercenaria simpsoni</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Protothaca jechoensis</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Ruditapes philippinarum</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Ruditapes variegatus</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Saxidomus purpuratus</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Scapharca broughtonii</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Scapharca subcrenata</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
<i>Sinonovacula constricta</i>	aagaacttgaagagagagtcacaggtacctgaacaccgtctagagctaacagggatggat
	421.....
<i>Atrina pectinata japonica</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Callista brevisiphonata</i>	ccgctgngtccgacctgggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Corbicula fluminea</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Cyclina sinensis</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Dorsinella corrugata</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Dorsinia japonicus</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Gomphina aequilatera</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Mactra veneriformis</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Meretrix petechialis</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Mercenaria simpsoni</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Protothaca jechoensis</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Ruditapes philippinarum</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Ruditapes variegatus</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Saxidomus purpuratus</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Scapharca broughtonii</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Scapharca subcrenata</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
<i>Sinonovacula constricta</i>	ccgcaatagtccgcccggaaatcaactctgtcagcagcccgccgcggcagacggtt
	481.....
<i>Atrina pectinata japonica</i>	---gocgatccg---aa---agaagcagctc---gttg---tcggctcggtctc---gctc
<i>Callista brevisiphonata</i>	caaagagtctcgtcgcggaactctccctc---ctgggataaaccagggatctc---ggccg
<i>Corbicula fluminea</i>	caaatgtcggatccgctc---aa---gac---cggc---cagcag---gactcctcgtc---ggccg
<i>Cyclina sinensis</i>	cgc---gggatacctcgcaggaac---ccctc---gcagccagc---gtctc---cggagccg
<i>Dorsinella corrugata</i>	---gggatacctc---aaag---gacccctctc---ggcggc---cgtcagatggccg
<i>Dorsinia japonicus</i>	---gggatacctc---aaag---gacccctctc---ggcggc---cgtcagatggccg
<i>Gomphina aequilatera</i>	---cgggatacctcttacag---gaaactcggaccg---ggcggc---cgtcagatggccg
<i>Mactra veneriformis</i>	---ggcgatc---tgt---aaagagccagcagccgg---ggcagctccgggtgctg
<i>Meretrix petechialis</i>	---caggatccatccg---ggacctctcgc---gtgctg---cgtcagcagccg
<i>Mercenaria simpsoni</i>	---agggatctctaacg---gaaacctccg---ggcggc---cgtcagcagccg
<i>Protothaca jechoensis</i>	---agggatctctaacg---gaaacctccg---ggcggc---cgtcagcagccg
<i>Ruditapes philippinarum</i>	---cgggatacctc---aaag---gacccctctc---ggcggc---cgtcagatggccg
<i>Ruditapes variegatus</i>	---cgggatacctc---aaag---gacccctctc---ggcggc---cgtcagatggccg
<i>Saxidomus purpuratus</i>	caaagagtctc---cgtgagctctcctcgtcagggtaa---aaagcagactggc---ggccg
<i>Scapharca broughtonii</i>	---atttgatctcaaa---gacct---gtcg---tagtctcgc---cgtcagccg---g
<i>Scapharca subcrenata</i>	---atttgatctcaaa---gacct---gtcg---tagtctcgc---cgtcagccg---g
<i>Sinonovacula constricta</i>	---ttcaaggtcaaacst---ggcagccagccagccgc---c---ctcagc---caga---g

Fig. 1. continued.

[ 541..... ]

<i>Atrina pectinata japonica</i>	g t g c a c t t t t i g e g g --- g c a g a g e c e a c g a c c g g t t t c t --- e g g g t c a g a a g c c
<i>Callista brevisiphonata</i>	g g t g c a c t t t e t c o g g t t e t g t c g a a c g e c a c a c g a t t c t g --- c g g g g t c u g a a g c c
<i>Corbicula fluminea</i>	g g t g c a c t t t e t c o g e g --- g t c g a g t g e t a c g a c c g g t t t t g --- e g g e g t c a g a a g c c
<i>Cyclina sinensis</i>	g g t a p a c t t t e t c o g e c --- g t c g a a t g c e c a c g a c g a t t c t g --- c g g e g g t c a g a a g c c
<i>Dorsinella corrugata</i>	g g t g e a c t t t e t c o g e c --- g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Dorsinia japonicus</i>	g g t g e a c t t t e t c o g e c --- g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Gomphina aequilatera</i>	g g t g e a c t t t e t c o g a c --- e g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Maetra veneriformis</i>	g g t g e a c t t t e t p a g --- a g a c g a a t g e c a c g a c c g g t t c t g --- g c c g g t c a t a a g e c c
<i>Meretrix petechialis</i>	g g t g e a c t t t e t c o g e c --- g t e g a a t g e c a c g a c c g a t t c t g --- c g g e g g t c a c a a g c c
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	g g t g e a c t t t e t c o g e c --- g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Protothaca jedoensis</i>	g g t g e a c t t t e t c o g e c --- g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Ruditapes philippinarum</i>	g g t g e a c t t t e t c o g g t --- e g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a c a a g c c
<i>Ruditapes variegates</i>	g g t g e a c t t t e t c o g g t --- e g t e g a g t g e c a c g a c c g a t t c t g --- c g g e g g t g a c a a g c c
<i>Saxidomus purpuratus</i>	g g t g e a c t t t e t c o g g t t t t g t e g a a c g e c a c g a c c g a t t c t g --- e g g e g g t g a g a a g c c
<i>Scapharca broughtonii</i>	t g t g e a c t t t e t c e g g --- g t a g a g e c e c a c g a c c g t t c g t --- c g g e g g t c a g a a g e t
<i>Scapharca suberenata</i>	t g t g e a c t t t e t c e g g --- g t a g a g e c e c a c g a c c g t t c g t --- c g g e g g t c a g a a g e t
<i>Sinonovacula constricta</i>	g g t g e a c t t t e t c e g g --- t g --- e g a g a g e c a c a c g a c c a g a g --- c g g e g g c a g a g a t c

[ 601..... ]

<i>Atrina pectinata japonica</i>	c o e l g --- g g a a g g t --- g a c c t e g --- c e c --- c t t e g --- a g a g a g --- g a g t t a --- a g c c e a e g
<i>Callista brevisiphonata</i>	e g a c g --- g c a a g g t a g e t t e g e t e --- t e --- t g g e g g a g t g t a t a g e o e t e
<i>Corbicula fluminea</i>	e g g e g g t --- a a g g t a g e c --- g e c c c t l o g g g t --- g l e g t g --- t a t a g a c e g c c
<i>Cyclina sinensis</i>	e g g e g --- g g a a g g t a g e c e g e g e c --- e g t c a a a e g g e g g g g t g t a c a g e o e g c
<i>Dorsinella corrugata</i>	e g g e g --- g c a a g g t a g e t e g g --- t e c t t --- e g g a c c g a g t g t a t a g e o e t e
<i>Dorsinia japonicus</i>	e g g e g --- g c a a g g t a g e t e g g t --- e --- e t t e g --- g g a d e g --- a g t g t a t a g e o e t e
<i>Gomphina aequilatera</i>	e g g e g t g c a a g g t a g e t t g a c e c c --- e t --- e g g g --- g e c --- g a g t g t a t a g e o e g c
<i>Maetra veneriformis</i>	e c e a c --- g c a a g g t a g e t t e c --- e --- c t t --- e g g g e e c g t g t a --- a g g e t g e g
<i>Meretrix petechialis</i>	e g g e g --- g c a a g g t a g e c a g e e c --- t --- t e g g e c e c g --- g t g t --- a t a g e o e t e
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	e g g t g --- g c a a g g t g e t e --- g e t e --- c t t e g e g g a --- g e a g t g t --- a t a g e o e c
<i>Protothaca jedoensis</i>	e g g t g --- g c a a g g t g e t e --- g e t e --- c t t e --- g g g e g a g t g t --- a t a g e o e a c c
<i>Ruditapes philippinarum</i>	e g g e g t g c a a g g t a g e t e g e c e c --- t --- e g g g --- a c c --- g a g t g t a t a g e o e g c
<i>Ruditapes variegates</i>	e g a g t g c a a g g t a g e t e g g e --- e --- e t e g g a c --- e g a e g t --- a t a g e o e g c
<i>Saxidomus purpuratus</i>	e g g e g --- g c a a g g t a g e t e g e g e t --- t e --- t g e g e g a g t g t a t a g e o e t e
<i>Scapharca broughtonii</i>	g g t g e g --- a a g g t a g e --- e t --- t g t --- e t t e --- g g a a g --- g t g t a t a g a c e a c
<i>Scapharca suberenata</i>	g g t g e g --- a a g g t a g e --- e t --- t t t --- e t t e --- g a g a a g --- g t g t a t a g a c e a c
<i>Sinonovacula constricta</i>	e g g e g g --- a a g g t a g e t e g g e a c e --- e t --- e g g t g t e --- t e g t g t a t a g e o e t e

[ 661..... ]

<i>Atrina pectinata japonica</i>	g a e g t g a g e t e g t e g g a e c g a g --- g t e t --- t e c o g a c e t t t g e c t e g t e
<i>Callista brevisiphonata</i>	g --- e g t g g a c e g e t g e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e g e t e g e c t e g g e c
<i>Corbicula fluminea</i>	g --- e g t g g a c a c g e c e g a g e c g a g a c g e t t --- g e c e g c o g a g e g t e c e g g e c
<i>Cyclina sinensis</i>	g a --- a g t g a a c e g e c e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e g e t e g g e c g g g e c
<i>Dorsinella corrugata</i>	g a --- g t g a c a c e t e g g a g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Dorsinia japonicus</i>	g a --- g t g a c a c e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Gomphina aequilatera</i>	g --- e g t g g a e t e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Maetra veneriformis</i>	g a --- e g t g g a e t e g e g e g a c g a g a c g a t --- g e c e g t e c e g g e c t e g g t e
<i>Meretrix petechialis</i>	g a --- g t g a c e g e t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e c e g g e t e g g e c
<i>Mercenaria stimpsoni</i>	g --- e g t g g a c a e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Protothaca jedoensis</i>	g --- e g t g g a c e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Ruditapes philippinarum</i>	g --- t g t g g a e t e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Ruditapes variegates</i>	g --- t g t g g a c e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e a c e g g e c t e g g e c
<i>Saxidomus purpuratus</i>	g a --- g t g a c a c e g t e g g a t c g a g a c g e t t --- g e c e g t e g e t e g g e c t e g g e c
<i>Scapharca broughtonii</i>	c a e g t t g --- e t e g t g a t g a c c g a g a a --- e t --- g e c g l e a t g e c t g e c t e g g e t
<i>Scapharca suberenata</i>	u a e g t t g --- e t e g t g a t g a c c g a g a a --- e t --- g e c g l e a t g e c t g e c t e g g e t
<i>Sinonovacula constricta</i>	g a --- g e c a n e a g t e t t e g t e g a g a g a a a r a g a c e g e c a c e g g e c t e g g e c

Fig. 1. continued.

Partial 28S rRNA of Veneroidea

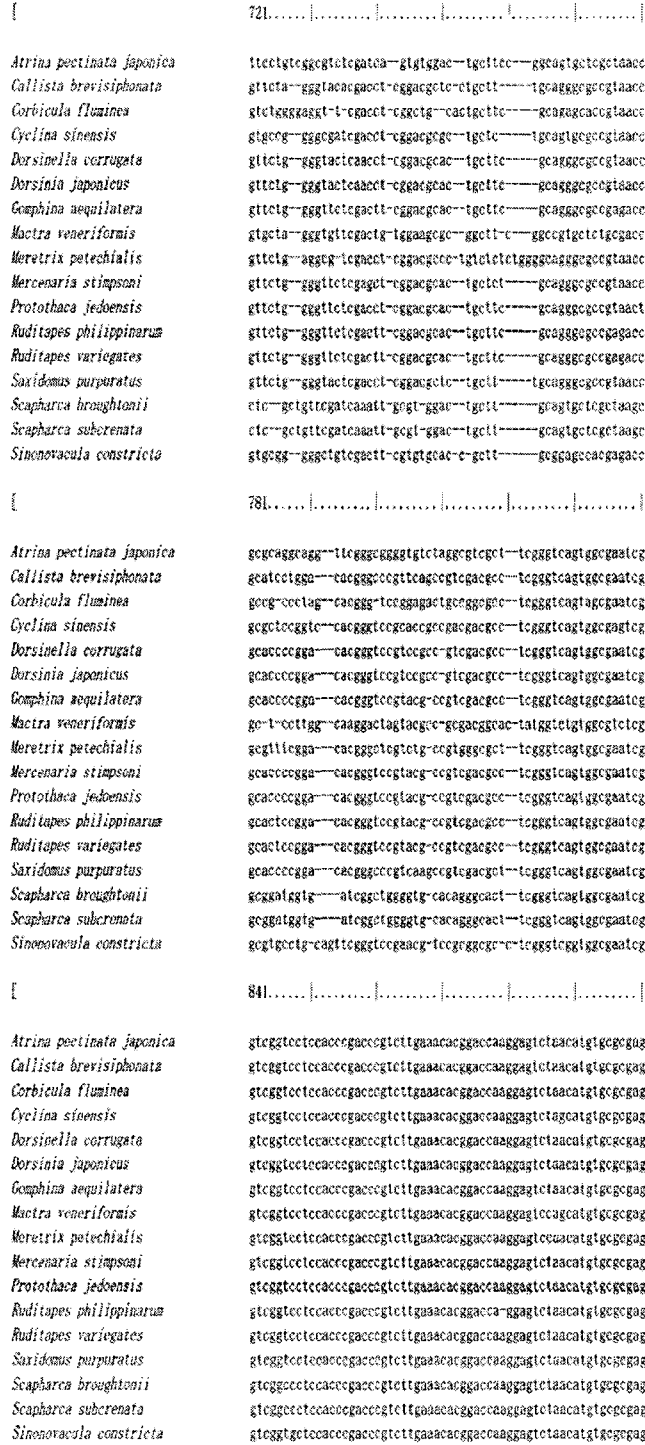


Fig. 1. continued.









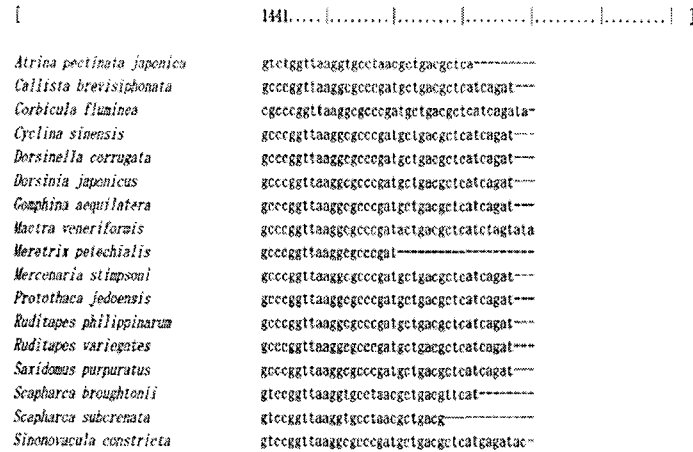


Fig. 1. continued.

index (RC) = 0.3047으로 나타났다.

백합 상과 (Veneroidea), Mactroidea, Dreissenoidea, Tellinoidea는 각각 하나의 clade를 이루고 있었으나 채첩 상과 (Corbiculoidea)는 채첩 과 (Corbiculidae)와 산골조개과 (Pisidae) 두 개의 다분지 양상을 보였다 (Fig. 2).

백합 상과는 다시 1) *Dorsinella corrugata* (주름떡조개), *Dorsinia japonicus* (떡조개), *Chione stutchburyi*, *Mercenaria stimpsoni* (비늘백합), and *Prototharca jodoensis* (살조개), 2) *Ruditapes philippinarum* (바지락), *R. variegatus* (아기바지락), and *Gomphina aequilatera* (대복), 3) *Mercenaria mercenaria* 4) *Callista brevisiphonata* (주름백합), *Saxidomus purpuratus* (개조개), *Cyclina sinensis* (가무락조개), and *Meretrix petechialis* (발백합) 등 4 개의 분지를 이루고 있었는데 4) 그룹과 1-3) 그룹이 먼저 분지 하고 이어서 *M. mercenaria* 와 1), 2) 그룹이 분지하는 모양을 보였다.

### 고 찰

본 실험은 mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (mtCOI) 유전자 염기서열을 이용한 백합 과 패류의 계통분류학적 연구 (Kim *et al.*, 2004) 에 이어서 핵 내 유전자를 비교 분석하여 이들 패류의 계통분류학적인 유연관계를 알아보고자 시도 되었다. 한국에서 채집이 비교적 용이한 종만을 대상으로 하였고 Park and Ó Foighil (2000) 이 발표한 염기서열을 위주로 이치 아강에 속하는 패류들의 자료를 함께 분석하였다.

먼저 *Corbicula fluminea*, *Sinonovacula constricta* 및 *Dreissena polymorpha* 등 3 종은 두 개의 다른 염기 서열이

보고 되었는데 *C. fluminea*의 경우는 Park and Ó Foighil (2000) 은 미국에서 채집한 표본의 염기를 보고한 반면 금번에 수행된 연구에 사용된 재료는 국내에서 채집된 것으로 지역에 따른 염기 변이로 생각될 수 있을 것이나, *S. constricta*의 경우 문헌상 채집지가 한국으로 동일하고 일반적으로 유생들의 이동 범위가 넓은 해산종을 감안할 때 이들의 핵내 일부 염기서열의 차이가 무엇에 기인하는지 살펴볼 필요가 있다. 이와 유사한 결과는 이미 Park and Ó Foighil (2000) 등에 의하여 *Dreissena polymorpha*에서도 관찰된 바 있다. 이들은 핵 유전자는 다수의 리보솜 유전자 복제물을 가지고 있지만 이들 유전자가 종내 변이에 적절한 수준의 기여를 하는 것으로 알려져 있다 (Gonzalez *et al.*, 1985).

아과 수준에서 백합 과 패류의 계통을 살펴보면 Pitarinae (*Callista brevisiphonata*, *Saxidomus purpuratus*), Cyclininae (*Cyclina sinensis*) Meretrinae (*Meretrix petechialis*) 가 하나의 분지를 이루고 있었고, Samaranginae (*Ruditapes philippinarum*, *R. variegates*, *Gomphina sequilatera*), Chioninae (*Mercenaria stimpsoni*, *Prototharca jodoensis*, *Chione stutchburyi*), Dorsininae (*Dorsinella corrugata*) 가 다른 하나의 분지를 이루고 있었으며, 이 분지에서 Chioninae에 속한 *Mercenaria mercenaria*가 paraphyletic한 분지를 이루고 있었다. Bootstrap 결과 이 두 분지는 90의 지지를 받고 있었으나, *M. mercenaria* 분지와 Pitarinae-Cyclininae-Meretrinae 분지는 73 정도의 지지를 받아 Samaranginae-Chioninae-Dorsininae 그룹의 bootstrap 지지도에 비해 상당히 약한 결과를 보였다. 이러한 결과를 Kim *et al.* (2004) 의 mtCOI을 이용한 분석 결과와 비교해 보면, Samaranginae가 Chioninae와 자매군을 형성한 결과와는

달리 급번 핵 유전자 분석에서는 Samaranginae와는 단분지를 이루긴 하였으나 Chioninae가 오히려 Dorsininae와 자메

군을 이루었다. Pitarinae, Cyclininae 및 Meretrinae 그룹은 mtCOI 분석 결과와 같이 하나의 단분지를 형성하였다.

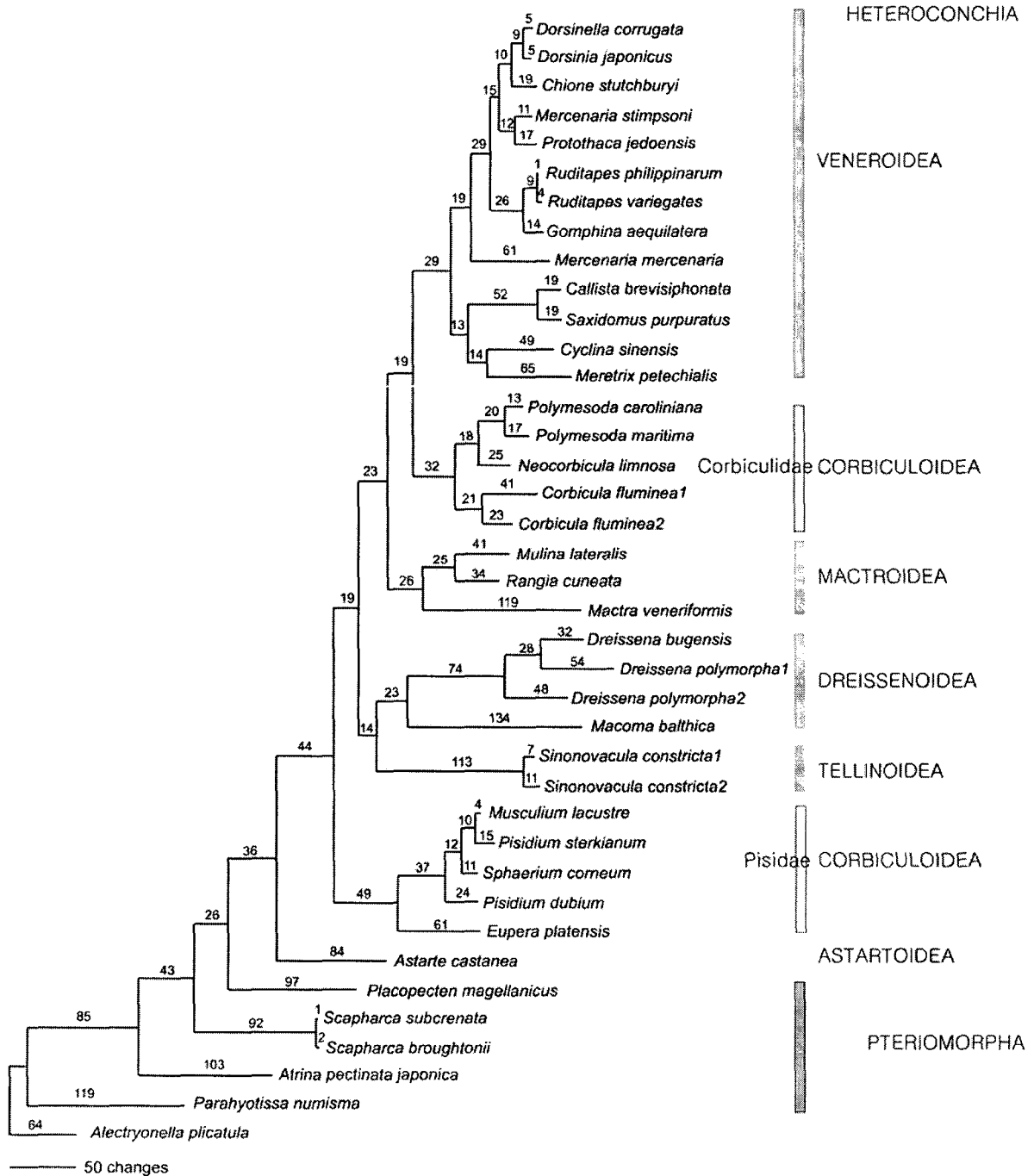


Fig. 2. The single most-parsimonious tree obtained by a heuristic PAUP analysis based on 28SrRNA sequences of 35 heterodont bivalve specimens and 6 pteriomorphs. Tree length = 2,765, CI = 0.4843, HI = 0.5157, RI = 0.6291.

Kim *et al.* (2004) 은 *Ruditapes philippinarum*과 *R. variegatus*의 경우 mtCOI 유전자가 3 부위에서 transition 이, 2 곳에서 tranversion이 일어난 것으로 보고하여 이 두 종이 유전학적으로 매우 가까운 종임을 보고한 바 있다. 본 연구 결과에서도 mitochondria 유전자에 비해 비교적 안정적인 것으로 알려진 28S rRNA 염기서열이 5 곳에서 상이하여 이러한 종전의 결과를 강하게 뒷받침해주고 있다.

재첩 상과 (superfamily Corbiculoidea) 내의 Corbiculidae와 Pisidae의 다분지 양상은 염색체 연구뿐만 아니라 염기서열 분석 등을 통하여 이미 잘 알려져 있으며 (Park and Ó Foighil, 2000), 본 연구에서 직접 취득한 자료가 아니므로 다루지 않았다.

또 한가지 흥미로운 것은 익형 아강의 *Scapharca subcrenata* (새꼬막) 와 *S. broughtonii* (피조개) 는 형태학적으로 크기에서 상당한 차이를 보이지만 본 실험에서 분석한 핵 내의 28S rRNA 염기서열은 큰 차이를 보이지 않았다.

### 요 약

백합 상과의 계통분류학적 유연관계를 알아보기 위하여 14 종의 이치 아강 이매패류와 3 종의 익형 아강 패류를 대상으로 28S rRNA의 일부 염기서열을 분석한 뒤 GenBank에 등록된 관련 종들의 염기서열을 취득하여 PAUP 프로그램을 이용하여 최대 절약분석을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었

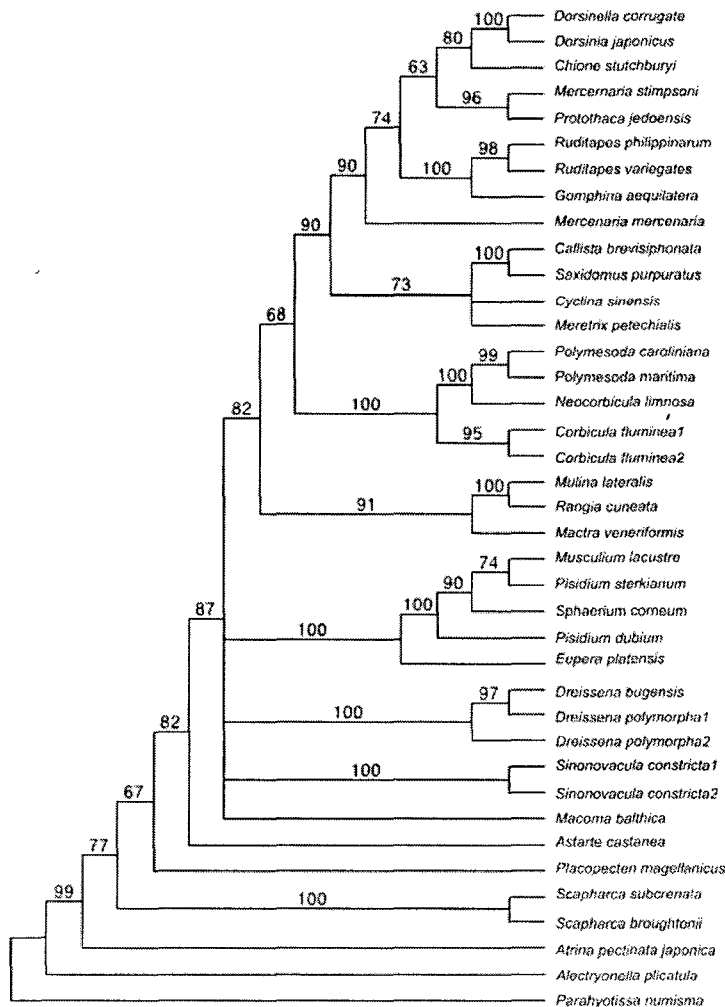


Fig. 3. Bootstrap values of 500 replicates.

다.

분석된 1,480 개의 형질 (gap 포함) 중 560 개의 형질이 parsimony 결과 informative하였다. 하나의 가장 절약적인 분지도를 구했을 경우 전체 분지의 길이는 2765였고 consistency index (CI) = 0.4843, homoplasy index (HI) = 0.5157, Retention index (RI) = 0.6291 로 나타났다.

동일 종 표본, *Corbicula fluminea*와 *Sinonovacula constricta*의 경우 각각 3.1 %, 1.2%의 차이를 보였다.

Pitarinae-Cyclininae-Meretrinae가 하나의 분지를 이루고 있었고, Samaranginae-Chioninae-Dorsininae가 다른 하나의 분지를 이루고 있었다.

## REFERENCES

- Adamkewicz, S.L., Harasewych, M.G., Blake, J., Saudel, D. and Bult, C.J. (1997) A molecular phylogeny of the bivalve mollusks. *Molecular Biology and Evolution*, **14**: 619-629.
- Borsa, P., Joussetin, Y. and Delay, B. (1992) Relationships between allozymic heterozygosity, body size, and survival to natural anoxic stress in the palourde *Ruditapes decussatus* (Bivalvia: Veneridae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **155**: 169-181.
- Campbell, D.C. (2000) Molecular evidence on the evolution of the Bivalvia. In: *The Evolutionary Biology of the Bivalvia*. (ed. by Harper, E.M., Taylor, J.D. & Crane, J.A.), Geological Society, London, Special Publications, **177**, pp. 31-46.
- Canapa, A., Marota, I., Rollo, F. and Olmo, E. (1996) Phylogenetic analysis of Veneridae (Bivalvia): Comparison of molecular and palaeontological data. *Journal of Molecular Evolution*, **43**: 517-522.
- Canapa, A., Barucca, M., Marinelli, A and Olmo, E. (2000) Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Journal of Molecular Evolution*, **50**: 93-97.
- Gonzalez, I.L., Gorski, J.L., Campen, T.J., Dorney, D.J., Ericson, J.M., Sylvester, J.E., and Schmickel, R.D. (1985). Variation among human 28S ribosomal RNA genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **82**: 7666-7670.
- Harte, M.E. (1992) A new approach to the study of bivalve evolution. *American Malacological Bulletin*, **9**: 199-206.
- Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Saavedra, C., Sutherland, B.W. and Zouros, E. (1997) Phylogenetic evidence for role-reversals of gender-associated mitochondrial DNA in *Mytilus* (Bivalvia: Mytilidae). *Molecular Biology and Evolution*, **14**: 959-967.
- Insua A, Thiriou-Quie'vreux C (1992) Karyotypes of *Cerastoderma edule*, *Venerupis pullastra* and *Venerupis rhomboides* (Bivalvia, Veneroidea). *Aquatic Living Resources*, **5**: 1-8.
- Keen, A.M. (1969) Veneridae. In: *Treatise of Invertebrate Paleontology*. (ed. by Moore, R.C.) pp. N671-N688, Geological Society of America and University of Kansas Press, Lawrence.
- Kim, J.J., Kim, S.C. and Hong, H.C. (2004) Molecular Phylogeny of Veneridae (Bivalvia: Heteroconchia) on the Basis of Partial Sequences of Mitochondrial Cytochrome Oxidase I. *The Korean Journal of Malacology*, **20**(2): 171-181. [in Korean]
- Lee, T. and O' Foighil, D. (2003) Phylogenetic structure of the Sphaeriinae, a global clade of freshwater bivalve molluscs, inferred from nuclear (ITS-1) and mitochondrial (16S) ribosomal gene sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **137**: 245-260.
- Min, D.-K. (2004) Mollusks in Korea (revised supplementary ed.). pp. 464-471. Hangeul Co., Busan. [in Korean]
- Ó Foighil, D. and Taylor, D.J. (2000) Evolution of parental care and ovulation behavior in oysters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **15**(2): 301-313.
- Park, J.-K. and Ó Foighil, D. (2000) Sphaeriid and corbiculid clams represent separate heterodont bivalve radiations into freshwater environments. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14**(1): 75-88.
- Steiner, G. and Müller, M. (1996) What can 18S rDNA do for bivalve phylogeny. *Journal of Molecular Evolution*, **43**: 58-70.
- Vaught, C. (1989) A Classification of the Living Mollusca. pp. 124-137, American Malacologists Inc., Melbourne, Florida.
- Winnepenninckx, B., Backeljau, T. and De Wachter, R. (1996) Investigation of molluscan phylogeny on the basis of 18S rRNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, **13**: 1306-1317.