

한국산 및 중국산 피조개, *Scapharca broughtonii* (Schrenck)의 형태적 특성과 RAPD 기법을 이용한 유전적 분석

이정미 · 박지원* · 유명숙 · 홍용기*
부경대학교 해양생물학과, *생물공학과

Morphological Characteristics and Genetic Diversity Using the RAPD Technique in the Arkshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) from Korea and China

Jeong Mee LEE, Ji-Won PARK*, Myung Suk YOO and Yong-Ki HONG*
Department of Marine Biology, *Department of Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608~737, Korea

Morphological and genetic comparison were studied for the arkshell populations of Korea and China. The shell was collected from commercial arkshell bed in Jinhae Bay, Korea and from an hatchery in Young Seong, China. Shell parameters, number of radial ribs and random amplified polymorphic DNA (RAPD) band were measured. The two populations had morphological and genetic differences.

There was significant morphological difference ($P \leq 0.05$) in the ratio of the longest radial rib to the shell length. Posterior parts of the Chinese arkshell were more elongated than those of the Korean arkshell. Number of radial ribs were 36~41 for the Korean arkshell and 39~43 for the Chinese arkshell. RAPD markers generated by each of 19 primers were 2~6 bands. Genetic diversity between the two populations was clear since the genetic similarity was very low, not exceeding 0.29. The genetic similarity among the Korean arkshells (0.58~0.40) was higher than that of the Chinese arkshells (0.48~0.32).

Key words : morphological difference, genetic diversity, *Scapharca broughtonii*, RAPD technique

서 론

피조개, *Scapharca broughtonii* (Schrenck)는 돌조개과 (Arcidae) 꼬막아과 (Anadarinae)에 속하며, 북서태평양 연안에 위치한 일본, 한국, 중국 내만에 서식하는 유용 패류이다 (Kuroda and Habe, 1981; Wang et al., 1988; Gi et al., 1989; Yoo, 1991).

일반적으로 이매패류의 지역개체군들은 형태변이 (Hamai, 1934, 1935; 新川, 1959; 花岡·鳥津, 1949; Yoo, 1971)와 유전적 차이 (Ozaki and Fujio, 1985; Meehan et al., 1989)에 의해 각 집단의 고유한 특성을 지닌다. 이 특성은 유용 이매패류 경우 양식생물관리 측면에서 중요시 되어왔다. 그러나 이 특성은 지역개체군간의 이주나 이식에 의해 유전자 가 침가되거나 제거되어 고유성을 잃게 된다 (Weaver and Hedrick, 1989).

피조개에 대한 연구는 부유생조사 (田中, 1971; Yoo et al., 1977; Park and Kwon, 1982), 자연채묘 및 중간육성 시험 (Yoo and Yoo, 1974; Kim and Yoon, 1980; Kim et al., 1981), 인공종묘생산 (Pyen et al., 1976; 中村·岩本, 1977; Kim et al., 1980) 등 양식생물학적인 측면에서 주로 연구되고 있으나, 지리적 형태변이 (Yoo, 1970; Yoo

and Park, 1978), 생식주기 (Dzyubu and Maslennikova, 1983)에 대한 연구는 부족하다. 더욱이 지역개체군의 유전적 차이에 대한 연구는 전무하다.

PCR (Polymerase Chain Reaction) 기술은 실험관내에서 DNA를 증폭하는 것으로 Mullis and Faloona (1987)에 의해 고안되어 생물공학분야에서 널리 사용되어왔다. 최근에 이 기법은 유전적, 계통발생적 그리고 집단유전적 연구 (Caetano-Anolles et al., 1991; Hadrys et al., 1992; Tingey and del Tufo, 1993; Patwary et al., 1993, 1994) 등 다양한 학문 분야에서 응용되어져 오고 있다.

한국산 피조개는 최근 연안어장의 노화와 오염으로 모패생산이 격감하고, 종패채묘의 부진등으로 양식에 상당한 어려움을 겪고 있다. 이러한 문제점의 개선방안으로 밀식에 의한 어장노화와 환경오염에 의한 어장의 황폐화 방지 그리고 중국의 인공종묘산 치폐에 대한 수입의 필요성이 거론되고 있는 실정이다. 만약 수입된 중국산 피조개가 한국연안에서 양식되어 여러 세대를 거친다면 개체군간 유전자의 교류 및 잡종형성에 따라 한국산 피조개의 고유한 생물학적 특성에 변화를 초래할 것이다.

본 연구는 중국산 및 한국산 피조개 집단의 형태적, 유전적 특성을 파악하기 위해 폐각형태의 차이점과 PCR

반응 중 10-mer로 구성된 arbitrary primer를 사용한 arbitrary primered PCR, 즉 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA: Williams et al., 1990; Williams et al., 1993) 패턴의 비교에 의한 유전적 차이점을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시료

본 실험에 사용된 피조개의 부착치패는 경남 진해만에 서 천연채묘된 것과 중국 산동성 영성시에서 인공채묘된 것으로 1994년 3월 채집하여 사용하였다.

2. 한국산과 중국산 피조개 패각의 형태적 형질 측정

두 집단의 패각형태 차이점을 알기위해 채집한 부착치패중 무작위로 30마리를 선택하여 각각에 대하여 각장 (SL: shell length), 각폭 (SB: shell breadth), 최대방사능 길이 (LR: length of longest radial rib), 전중 (TW: total weight), 육중 (MW: meat weight)을 조사하였다. 각장, 각폭, 최대방사능길이는 1/10 mm까지 젤수 있는 Vernier caliper로 측정하였고, 전중, 육중의 무게는 0.1 mg감도의 전자저울로 측정하였다. 방사능수는 육안으로 전수를 헤아렸다.

두 집단의 패각형태 차이를 알기위하여 각장에 대한 최대방사능 길이, 각폭의 회귀관계식을 구하고, 비만도의 차이는 각장에 대한 육중의 회귀관계식을 구한 뒤 이들 값이 갖는 차이를 검정하기 위하여 공분산분석을 실시하였다. 두 집단의 방사능수에 대한 변이의 정도는 변이계수 (CV: coefficient of variation)로 나타내었다.

3. 피조개 조직 부위별 DNA추출

RAPD-PCR에 사용할 주형 DNA 추출은 proteinase K-phenol방법 (Jackson et al., 1991)을 따랐다.

먼저 proteinase K-phenol방법에 따른 DNA분리의 용이성 검정을 위해 피조개의 여러조직 (아가미, 외투막, 인대, 소화낭, 발)에서 각각 50 mg 씩 조직을 채취하였다. 채취된 조직은 마쇄후 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 반응시킨후 phenol/chloroform을 처리하여 단백질을 제거하였다. 이후 EtOH 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 0.5% agarose gel 전기영동상에 주입하였고, 비색계에서 OD₂₆₀/OD₂₈₀ (A_{260/280}) 측정하여 DNA의 순수도를 조사하였다.

이렇게 정량된 DNA는 1 ng/μl, 0.1 ng/μl 농도로 희석하여 PCR반응생성물을 얻기위한 주형 DNA로 사용하였다.

4. RAPD-PCR반응

중국산과 한국산 피조개 치패를 각각 8개체씩 무작위로 선택하여 발의 근육조직으로부터 DNA를 추출하여, arbitrary primered PCR반응 (Williams et al., 1990; Williams et al., 1993)을 행하였다. PCR 반응에 사용된 primer는 10개의 염기들로 이루어진 Operon제품의 arbitrary primer kit A의 20가지 primer였다. PCR반응용액은 16.5 μl의 증류수, 1 μl의 2.5 mM dNTPs, 2.5 μl의 10 × PCR buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3), 2 μl의 25 mM MgCl₂, 1 μl의 12.5% Tween 20, 0.2 μl의 Taq polymerase (5u/μl)와 1 μl의 template DNA (0.1 ng/μl) 그리고 1 μl의 primer (5 pM/ml)로 구성되어졌다. DNA증폭은 thermal cycler (Perkin Elmer Cetus)을 사용하여 94°C에서 5분간 1회 반응후, 94°C에서 5초, 36°C에서 2분, 72°C에서 2분의 반응을 45회 반복한 후 72°C에서 10분간 마지막 반응으로 종료하였다. PCR생성물 확인은 2% agarose gel에 증폭된 DNA생성물을 주입후 0.5 × TAE buffer solution 내에서 100V전압으로 1시간 동안 전기영동을 실시한 후 자외선 하에서 확인하였다.

5. 한국산과 중국산 피조개의 유전적 유사도

두 지역 개체간의 polymorphic DNAs들의 유사도는 PCR 반응으로생성된 predominant band가 각 개체에 대하여 동일하게 생성되는지의 여부에 따라 구해졌다. 유사도 값은 Jaccard의 식에 따라 $J_{ij} = C_{ij} / (n_i + n_j - C_{ij})$ 로 계산하였으며 여기서 C_{ij}는 비교되는 두 지역 개체 모두에서 나타나는 band들의 수이고, n_i와 n_j는 비교되는 두 지역 각각에서 나타나는 총 band수이다 (Sneath and Sokol, 1973). 이 유사도 값을 이용해 개체간의 유사관계가 완전 일치하는 경우를 1로, 불일치하는 경우를 0으로 하여 dendrogram으로 각 개체간의 유전적 유사정도를 표시하였다 (Nei, 1987).

결 과

1. 한국산과 중국산 피조개의 형태적 특성

한국산 피조개 부착치패의 평균각장은 17.57 (± 1.63) mm였고, 중국산은 17.19 (± 1.44)mm로 각장의 크기는 비슷하였다. 각장 (SL)에 대한 최대방사능 길이 (LR)와의 상관관계를 살펴보면, 한국산은 LR=0.7499SL+1.1671 (r²=0.9414)이고 중국산은 LR=0.9208SL-1.0284 (r²

Table 1. Analysis of covariance between Korean and Chinese arkshell for partial lengths and weight to shell length

Items	Korea	China	Test of slopes	Test of elevations
SL/LR	LR=0.7499SL+1.1671	LR=0.9208SL-1.0284	F (1,58)=10.6688**	F (1,59)=81.7856**
SL/SB	SB=0.5320SL-0.6541	SB=0.5734SL-1.7732	F (1,58)=0.4725	F (1,59)=19.5993**
SL/MW	MW=4.95×10 ⁻⁵ SL ^{3.1476}	MW=2.32×10 ⁻⁵ SL ^{3.1560}	F (1,58)=2.9474×10 ⁻⁴	F (1,59)=158.8917**

SL: Shell length LR: Length of longest radial rib SB: Shell breadth MW: Meat weight

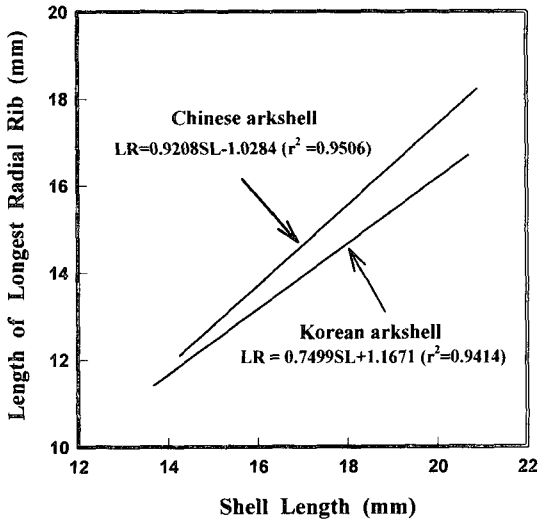


Fig. 1. *Scapharca broughtonii*. Relationship between the shell length and the length of longest radial rib of the arkshell from Korea and China.

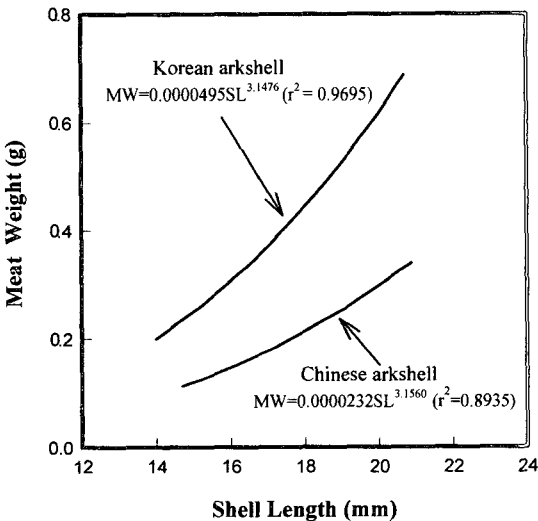


Fig. 2. *Scapharca broughtonii*. Relationship between the shell length and the meat weight of the arkshell from Korea and China.

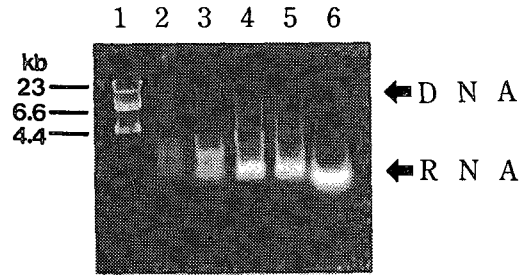


Fig. 3. DNA extracted from 5 tissues (50 mg) of Korean arkshell using proteinase K-phenol procedures. Tissues are adductor muscle (lane 2), foot (lane 3), gill (lane 4), mantle membrane (lane 5) and digestive diverticula (lane 6). Lane 1 is a standard molecular size of lambda-Hind III fragments.

=0.9506)로 나타났다 (Fig. 1). 이 두 직선의 기울기와 절편에 대해 유의성 검정을 한 결과 95% 수준에서 유의한 차이가 있었다 (Table 1). 두 집단은 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장률에 있어 뚜렷한 차이를 보였고, 같은 각장 크기에 있어 중국산의 최대방사능길이가 한국산보다 길었다. 각장 (SL)에 대한 각폭 (SB)의 상관관계는 한국산이 $SB=0.5320SL-0.6541$ ($r^2=0.8376$)이고 중국산이 $SB=0.5734SL-1.7732$ ($r^2=0.7843$)이었다. 이 두 직선의 유의성 검정결과 상대성장률에 있어서는 95% 수준에서 유의한 차이가 나타나지 않았고, 시원성장계수 있었서는 95% 수준에서 유의한 차이가 나타났다 (Table 1).

피조개의 방사능수를 살펴보면 한국산은 평균 38.74 (± 1.46)조로 나타났고, 중국산은 40.77 (± 1.14)조로 나타났으며, 변이계수는 한국산이 3.77 (%), 중국산이 2.80 (%)로서 중국산보다 한국산이 방사능수의 변이 정도가 넓었다.

2. 한국산과 중국산 피조개의 비만도 특성

각장 (SL)과 육중 (MW)의 상관관계는 한국산이 $MW=0.0000495SL^{3.1476}$ ($r^2=0.9695$)이고, 중국산이 $MW=0.0002320SL^{3.1560}$ ($r^2=0.8935$)이었다 (Fig. 2). 이 두 직선의 유의성 검정결과 상대성장률에 있어서는 95% 수준에서

Table 2. *Scapharca broughtonii*. PCR compatibility of DNA extracted from 5 different tissues

Tissue	DNA (μg)	$A_{260/280}$	PCR	
			1 ng/ μl	0.1 ng/ μl
Adductor muscle	2.5	1.06	+	+
Foot	5	1.12	+	+
Gill	1	1.16	-	+
Mantle membrane	1	1.04	+	+
Digestive diverticula	0.5	1.10	-	-

Table 3. *Scapharca broughtonii*. The list of arbitrary primers and average number of PCR products

Primer	Sequence of primer	G+C %	Number of PCR products	Primer	Sequence of primer	G+C %	Number of PCR products
OPA-01	CAGGCCCTTC	70	3	OPA-11	CAATCGCCGT	60	3
OPA-02	TGCCGAGCTG	70	3	OPA-12	TCGCGGATAG	60	4
OPA-03	AGTCAGCCAC	60	4	OPA-13	CAGCACCCAC	70	5
OPA-04	AATCGGGCTG	60	4	OPA-14	TCTGTGCTGG	60	3
OPA-05	AGGGTCTTG	60	3	OPA-15	TTCCGAACCC	60	5
OPA-06	GGTCCCTGAC	70	0	OPA-16	AGCCAGCGAA	60	2
OPA-07	GAAACGGGTG	60	5	OPA-17	GACCGCTTGT	60	2
OPA-08	GTGACGTAGG	60	2	OPA-18	AGGTGACCGT	60	6
OPA-09	GGGTAACGCC	70	3	OPA-19	CAAACGTCGG	60	3
OPA-10	GTGATCGCAG	60	3	OPA-20	GRRGCGATCC	60	4

유의한 차이가 없었고, 시원성장계수에 있었서는 95% 수준에서 유의한 차이가 있었다 (Table 1). 따라서 한국산이 중국산 피조개 보다 같은 각장크기에 있어서 육질의 중량이 월등히 높았다.

3. 유전자 분석

① 피조개 조직부위별 DNA의 정량 및 순도

Proteinase K-phenol추출법에 따라 추출된 DNA의 agarose gel 전기영동 결과 모든 시료에서 DNA의 분자량이 23 kb 이상으로 나타났으며, 다량의 RNA도 함께 추출되었다 (Fig. 3). 각 부위별 DNA 검출량은 폐각근에서 2.5 $\mu\text{g/g}$, 발의 근조직에서 5 $\mu\text{g/g}$, 아가미조직에서 1 $\mu\text{g/g}$, 외투막에서 1 $\mu\text{g/g}$, 소화맹낭에서 0.5 $\mu\text{g/g}$ 추출되어 발의 근조직에서 가장 많은 DNA가 검출되었다. 그리고 OD_{260}/OD_{280} ($A_{260/280}$) 측정결과 폐각근에서 1.06, 발의 근조직에서 1.12, 아가미 조직에서 1.16, 외투막에서 1.04, 소화맹낭에서 1.10으로 나타났다. DNA의 희석 농도별 PCR 반응 결과는 1 ng/ μl 의 주형 DNA의 농도에서는 아가미, 소화맹낭의 조직부위를 제외하고 PCR생성물을 얻을 수 있었고, 0.1 ng/ μl 농도에서는 소화맹낭을 제외한 모든 부위에서 PCR생성물을 얻을 수 있었다 (Table 2). 따라서 PCR에 사용할 주형 DNA는 조직외피에 부착되어 있을 여러가지 오염원이 가장 적은 발의 근육조직에서 추출하

였다. 그리고 주형DNA의 농도는 0.1 ng/ μl 농도가 가장 이상적인 것으로 밝혀졌다.

② 한국산과 중국산 피조개의 개체별 polymorphic pattern

한국산과 중국산 피조개 각각 8 개체로부터 발 근육조직에서 추출된 DNA를 10개의 염기로 구성된 arbitrary primer 20 종류를 단일로 사용하여 PCR반응 실험결과 primer OPA-06 (GGTCCCTGAC)를 제외한 19개의 단일 primer에서 증폭이 일어났고, 전반적으로 primer의 종류에 따라 개체별 최소 2에서 최대 6의 band가 생성되었다 (Table 3). PCR반응 생성물은 primer의 특성에 따라 similar pattern (OPA-3, AGTCAGCCAC), specific pattern (OPA-08, GTGACGTAGG), polymorphic pattern (OPA-19, CAAACGTCGG)을 나타내었다 (Fig. 4).

③ 개체별 유사도

한국산과 중국산 피조개 두 집단간의 유전적 유사도는 0.29로 낮아 두 집단간의 유전적 구분이 명확하게 나타났다. 또한 한국산 피조개의 개체별 유전적 유사도는 0.58~0.40 범위였고, 중국산 피조개의 개체별 유사도는 0.48~0.32 범위로 한국산 피조개 보다 개체별 유전적 유사도가 낮게 나타났다 (Table 4, Fig. 5).

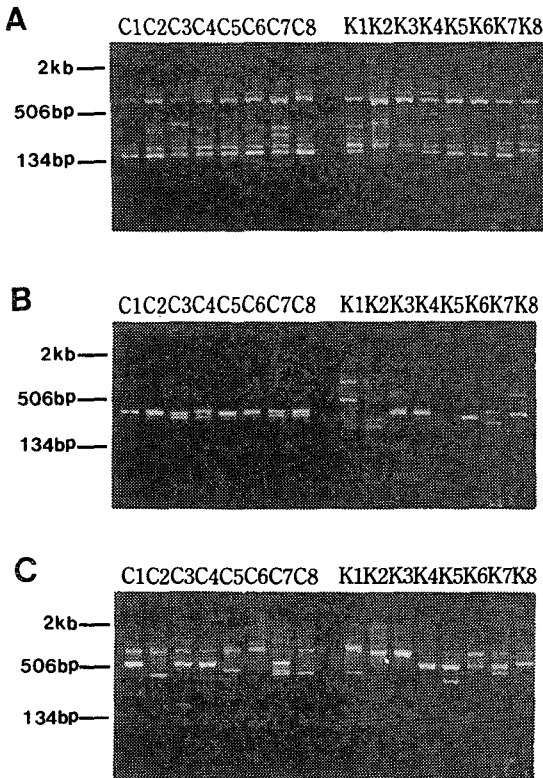


Fig. 4. Diversity of random amplified polymorphic DNA bands synthesized from arbitrary primers. Total DNA from Chinese arkshell (lane C1 to C8) and Korean arkshell (lane K1 to K8) was amplified by 10-nucleotide primers with sequence AGTCAGCCAC (panel A), GT-GACGTAGG (panel B) and CAAACGTCGG (panel C). Eight individuals were collected randomly from each arkshell population.

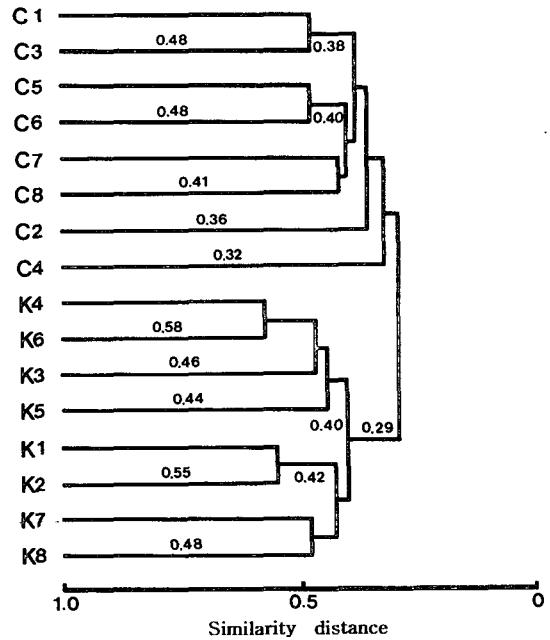


Fig. 5. Dendrogram based on the similarity matrix data. Letters of C1 to C8 and K1 to K8 are represented as Chinese arkshell and Korean arkshell, respectively.

저서 잠입생활을 하는 이매패류에 있어, 패각의 형태 변이는 서식처의 물리적, 화학적, 생물학적 요인들에 의해 유발된다 (Hamai, 1934, 1935). 각장, 최대방사능, 각고 그리고 각폭의 길이가 이러한 형태 변이를 예측할 수 있는 형질로 이용되고 있으며, 형태변이는 주로 이들 형질의 상대적인 성장차이에 의해 파악되고 있다 (Yoo, 1970, 1977; Yoo and Park, 1978).

Table 4. Similarity matrix based on the Jaccard's equation

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
C2	0.37														
C3	0.48	0.36													
C4	0.28	0.30	0.40												
C5	0.33	0.35	0.39	0.32											
C6	0.35	0.35	0.42	0.40	0.48										
C7	0.37	0.33	0.45	0.30	0.39	0.40									
C8	0.32	0.37	0.41	0.34	0.42	0.35	0.41								
K1	0.27	0.33	0.32	0.22	0.32	0.32	0.28	0.32							
K2	0.29	0.33	0.53	0.25	0.34	0.41	0.28	0.31	0.55						
K3	0.30	0.32	0.35	0.29	0.41	0.37	0.29	0.31	0.40	0.45					
K4	0.26	0.29	0.33	0.28	0.31	0.35	0.26	0.33	0.48	0.46	0.44				
K5	0.23	0.30	0.31	0.30	0.29	0.29	0.34	0.39	0.38	0.38	0.42	0.45			
K6	0.37	0.28	0.31	0.28	0.28	0.35	0.34	0.34	0.44	0.48	0.48	0.58	0.46		
K7	0.33	0.29	0.40	0.26	0.29	0.31	0.30	0.28	0.43	0.35	0.34	0.42	0.38	0.45	
K8	0.30	0.29	0.29	0.24	0.33	0.37	0.33	0.29	0.44	0.46	0.45	0.41	0.38	0.51	0.48

Letters of C1 to C8 and K1 to K8 are represented as Chinese arkshell and Korean arkshell, respectively.

이들 형질에 대한 지역별 형태변이에 관한 연구를 살펴보면, Yoo (1970)는 간조선과 수심 2~4m에 서식하는 두 지역의 피조개에 대한 형태변이 조사에서 각장에 대한 각폭의 상대성장과 각장에 대한 전중의 상대성장은 두 지역에서 차이를 보였으나, 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장은 지역적인 차이를 보이지 않았다고 하였다. 또한 새고막의 산지별 형태변이에 대한 연구에서, Yoo (1977)는 동일한 모 집단에서 발생된 치패를 여러 장소에 양성할 시에도 각장에 대한 각폭의 상대성장은 양호한 양성장소에 따라 지역별로 차이가 나타났으나, 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장에는 변화가 없음을 확인하였다. 이러한 사실은 각장에 대한 각폭의 상대성장은 저서생활 이후 양식장의 환경에 따라 상당한 영향을 받는 형질이며, 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장은 서식환경의 변화에 영향을 받지 않은 안정된 형질임을 말해주고 있다.

본 연구결과 각장에 대한 각폭의 상대성장식은 한국산이 $SB=0.5320SL-0.6541$ ($r^2=0.8376$)이었고, 중국산이 $SB=0.5734SL-1.7732$ ($r^2=0.7843$)으로 각장에 대한 각폭의 상대성장율은 두 지역이 비슷한 경향을 나타내었다. 이에 반해 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장식은 한국산이 $LR=0.7499SL+1.1671$ ($r^2=0.9414$), 중국산이 $LR=0.9208SL-1.0284$ ($r^2=0.9506$)로 두 지역간에 뚜렷한 차이를 나타내어, 외부형태로 두 집단 간에 구분이 가능하다고 인정된다. 그러나 Yoo (1970, 1977)의 연구결과와는 반대현상을 보였는데, 이는 본 연구에 사용하였던 표본이 저서생활이전의 부차치패였기 때문에 각장에 대한 각폭의 상대성장이 비슷한 경향을 보이는 것이라 여겨지며, 뚜렷한 차이를 보인 각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장은 유전적인인 요인에 의해 결정되어지는 것으로 사료된다 (Stirling and Okumus, 1994).

한국산과 중국산 피조개 치패의 각장에 대한 육종의 상대성장을 살펴보면, 각장에 대한 육종의 상대성장율에서는 차이가 없었으나, 동일한 각장크기에 대해서 한국산이 중국산보다 육중값이 높아 한국산 치패의 비만이 좋을 수 있었다. 또한 방사능수에 대한 변이의 폭도 한국산 천연치패가 중국산 인공치패보다 넓었는데, 이러한 사실은 Yoo (1970)가 인공채묘한 피조개의 방사능수가 자연산 피조개의 방사능수보다 변화의 폭이 좁다고 보고한 사실과 일치하였다. 따라서 중국산은 실내에서 사육된 치패로 한정된 공간에서 한정된 먹이를 섭취함에 따라 비만이 좋지 못했고, 인공채묘에 의해 채묘된 치패임으로 자연산에 비해 교잡의 폭이 넓지않은 탓으로 추측된다 (Yoo, 1970).

한국산 및 중국산 피조개 집단간의 유전적 유사도를 조사하기 위해, 신선한 동물조직으로부터 유전자를 추출하는 일반적인 방법인 Proteinase K-phenol추출법은 본 연구의 실험결과 패류를 대상으로 행하였을때도 가능함을 알 수 있었다. 또한 DNA분자량도 23kb이상의 큰 유전자들을 획득할 수 있었으므로 PCR주형으로는 충분한 크기였다 (Sogin, 1990). 이 방법에 의한 총 DNA의 추출 원액은 $A_{260}/_{280}$ 상에서 1.1 정도로 나타나 많은 단백질의 혼입을 볼 수 있었으나, 일반적으로 단백질 분순물은 PCR 반응에 크게 영향을 미치지 않으므로 본 실험에서도 문제가 되지 않았다.

유전자 수준에서의 종간 혹은 개체간의 유사도 비교는 대상생물의 유전정보가 알려져 있지 않아도, arbitrary primer들을 사용하여 특정 유전자 부분들을 대량 증폭하고 증폭된 DNA fragment들만을 서로 비교함으로써 쉽게 유사도를 구할수 있다 (Goodwin and Annis, 1991; Fekete et al., 1992; Patwary et al., 1993, 1994).

한국산과 중국산 피조개 두 집단의 유전적 유사도는 0.29로 매우 낮아, 두 집단간의 유전적 구별이 명확하게 나타났다. 그리고 한국산 피조개 각각의 개체별 유전적 유사도는 0.58~0.40 범위로 나타났고, 중국산 피조개 개체별 유사도는 0.48~0.32 범위로 나타났다. 따라서 중국산이 한국산보다 개체별 유전적 유사도가 낮았다. 한국산 피조개는 그 동안 한정된 지역내에 서식하는 모패로부터 발생된 치패를 이용하여 수십년간에 걸쳐 양식됨으로서 inbreeding에 의해 개체간 유사도가 증가되어진 것으로 추정된다. 그러나 inbreeding 유무에 대해서는 한국산 피조개의 지역개체군간 유전적 연구가 더 이루어져야만 명확해 질 것이다.

중국산 및 한국산 피조개 집단간의 형태 및 유전적 차이가 보이는 것은 오랜시간 지리적인 격리에 의해 고유한 지역개체군을 형성해 온 결과라 여겨진다.

요 약

한국산과 중국산 피조개를 대상으로 형태적 차이와 RAPD (Random amplified polymorphic DNA) 기법을 이용한 유전적 차이점을 비교 연구하였다.

실험에 사용한 피조개는 경남 진해만에서 천연채묘된 치패와 중국 산동성 영성시에서 인공채묘된 치패를 채집하여 사용하였다. 두 집단의 형태적 차이는 패각형질의 부위별 길이와 무게를 측정하여 측정형질별 상관관계로 조사하였다. 그리고 유전적 차이점은 primer 종류별로 생성된 RAPD band 들간의 유사정도로 비교하였다.

각장에 대한 최대방사능길이의 상대성장율이 두 집단에서 뚜렷한 차이 ($P \leq 0.05$)를 나타내어, 중국산이 한국산보다 껍질의 후단부가 길다는 것을 알 수 있었다. 방사능의 수는 한국산 피조개가 36~41 였고, 중국산이 39~43조 였다.

RAPD-PCR 결과 19가지의 primer들로 부터 각각 2~6개의 band를 볼 수 있었다. 한국산과 중국산 피조개간의 유전적 유사도는 0.29로 매우 낮아 두 집단 간의 유전적 구별이 명확하게 나타났다. 또한 한국산 피조개 개체별 유전적 유사도는 0.58~0.40로, 중국산은 0.48~0.32로 한국산 피조개가 중국산보다 개체별 유전적 유사도가 높았다.

사 사

이 연구는 한국과학재단 지정 우수공학 연구센터인 부경대학교 해양산업개발 연구소의 연구비 지원에 의해서 수행되었다.

참 고 문 헌

- Caetano-Anolles, G., B.J. Bassam and P.M. Gresshoff. 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/Tech.*, 9, 553~557.
- Dzyubu, S.M. and L.A. Maslennikova. 1983. Reproductive cycle of bivalve mollusks *Anadara broughtonii* in the southern part of Peter the Great Bay (Sea of Japan). *Sov. J. Mar. Biol.*, 8, 148~155.
- Fekete, A., J.A. Bantle, S.M. Halling and R.W. Stich. 1992. Amplification fragment length polymorphism in *Brucella* strains by use of polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J. Bacteriol.*, 174, 7778~7783.
- Gi, Z.Y., X.T. Ma, Z.R. Wang, G.Y. Lin, F.S. Xu, Z.Z. Dong, F.L. Li, R.H. Lu. 1989. Mollusca of Huanghai and Bohai. Agricultural Publishing House, Beijing, pp 157~158 (in Chinese).
- Goodwin, P.H. and S.L. Annis. 1991. Rapid identification of genetic variation and pathotype of *Leptosphaeria maculans* by random amplified polymeric DNA assay. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 2482~2486.
- Hadrys, H., M. Balick and B. Schierwater. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Mol. Ecol.*, 1, 55~63.
- Hamai, I. 1934. On the local variation in the shells of *Meretrix meretrix* (L.) with special reference to the growth of organism. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Biol.*, 9, 131~158.
- Hamai, I. 1935. A study of one case in which different environmental conditions produce different types of *Meretrix meretrix* (L.). *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Biol.*, 10, 485~498.
- Jackson, D.P., J.D. 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.
- Kim, D.K., S.C. Cheong and H.W. Kang. 1980. Studies on the artificial mass seed production of the arkshell, *Anadara broughtonii* (Schrenck). (II) On the intermediate culture of the artificial seed. *Bull. Fish. Res. Dev. Agency*, 25, 45~53 (in Korean).
- Kim, Y. and D.S. Yoon. 1980. On the spat collection of arkshell, *Anadara broughtonii* Schrenck. *Bull. Fish. Res. Dev. Agency*, 23, 219~227 (in Korean).
- Kim, Y., J.S. Hue and J.H. Koo. 1981. On the spat collection of the arkshell, *Anadara broughtonii* Schrenck. (II) Efficiencies of collectors made of different materials. *Bull. Fish. Res. Dev. Agency*, 27, 161~167 (in Korean).
- Kuroda, T. and T. Habe. 1981. A catalogue of Molluscs of Wakayama Prefecture, the Province of KII. I. Bivalvia Scaphopoda and Cephalopoda. Nakanishi Printing Co., Ltd, Kyoto, Japan. p 36.
- Meehan, B.W., J.T. Carlton and R. Wenne. 1989. Genetic affinities of the bivalve *Macoma balthica* from the Pacific coast of North America: Evidence for recent introduction and historical distribution. *Mar. Biol.*, 102, 235~241.
- Mullis, K.B. and F.A. Faloona. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. In *Methods in enzymology*, R. Wu, ed. 155, 335~350.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, 512pp.
- Ozaki, H. and Y. Fujio. 1985. Genetic differentiation in geographical populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) around Japan. *Tohoku J. Agric. Res.*, 36, 49~61.
- Park, K.Y. and W.S. Kwon. 1982. Distribution of drifting larvae of the arkshell, *Anadara broughtonii*, in Dukyang bay. *Bull. Tong-yeong Fish. Jr. Coll.*, 17, 33~36 (in Korean).
- Patwary, M.U., R.M. Mackray and J.P. Vander Meer. 1993. Revealing genetic markers in *Gelidium vagum* (Rhodophyta) through the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *J. Phycol.*, 29, 216~222.
- 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. Shellfish Res.*, 13, 547~553.
- Pyen, C.K., U.G. Rho and Y.K. Yoo. 1976. Studies on spat collection and rearing of the larvae, *Anadara broughtonii* (Schrenck) in tank. *Bull. Fish. Res. Dev. Agency*, 15,

- 7~18 (in Korean).
- Sneath, P.H. and R.R. Sokol. 1973. Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco, 635pp.
- Sogin, M.L. 1990. Amplication of ribosomal RNA genes for molecular revolution studies. In PCR protocols; A guided to methods and applicatons, M.A. Gelfane, D.H. Sninsky and T.J. White, eds. Academic Press, New York, pp 307~314.
- Stirling, H.P. and I. Okumus. 1994. Growth, Mortality and shell morphology of cultivated mussel (*Mytilus edulis*) stocks cross-planted between two Scottish sea lochs. Mar. Biol., 119, 115~123.
- Tingey, S.V. and J.P. del Tufo. 1993. Genetic analysis with random amplified polymorphic DNA markers. Plant Physiol., 101, 349~352.
- Yoo, J.S. 1991. Korean shells in colour. lil Ji Press, Seoul, Korea, 110 pp. (in korean).
- Yoo, M.S. and S.K. Yoo. 1974. Spat collection and the growth of *Anadara broughtonii* Schrenck. Bull. Korean Fish. Soc., 7, 79~86 (in Korean).
- Yoo, S.K. 1970. Biological studies on the propagation of important bivalves. 2. Growth and morphological variations of *Anadara broughtonii* (Schrenck). Bull. Pusan Fish. Coll., 10, 81~89 (in Korean).
- Yoo, S.K. 1971. Biological studies on the propagation of important bivalves. 3. Growth and morphological variations of the arkshell *Anadara granosa bisenensis* Schrenck et Reinhart. Publ. Mar. Lab., Pusan Fish. Coll., 4, 19~27 (in Korean).
- Yoo, S.K. 1977. Biological studies on the propagation of important bivalves. 5. Morphological characteristics of the arkshell, *Anadara subcrenata*. Bull. Nat. Fish. Univ. Busan, 17, 71~78 (in Korean).
- Yoo, S.K., K.Y. Park and M.S. Yoo. 1977. Biological studies on arkshell culture. I. Distribution of drifting larvae of the arkshell, *Anadara broughtonii* Schrenck. J. Ocean. Soc. Korea, 12, 75~81 (in Korean).
- Yoo, S.K. and K.Y. Park. 1978. Biological studies on arkshell culture. 2. Growth of the *Anadara broughtonii*. Bull. Nat. Fish. Univ. Busan, 18, 83~88 (in Korean).
- Wang, R.C., Q.N. Zhang, X.C. Qu, Y.Y. Cai, Y.R. Zhang. 1988. Coloured illustrations of aquatic mollusks on China. Zhejiang Xinhua Printing Factory, Hangzhou, China pp 142~143 (in chinese).
- Weaver, R.F. and P.W. Hedrick. 1989. Genetics. WCB Press, Dubuque, pp571~593.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafolski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res., 18, 6351~6535.
- Williams, J.G.K., M.K. Hanafey, J.A. Rafolski and S.V. Tingey. 1993. Genetics analysis using random amplified polymorphic DNA markers. In Methods in enzymology, R. Wu, ed. 218, 704~740.
- 新川英明. 1959. カキ殻の變異について. 日生態誌, 9, 214~220.
- 花岡資・島津忠秀. 1949. 東京灣産パカガイの變異について. 日本誌, 15, 311~317.
- 田中彌太郎. 1971. 軟体動物幼生の研究 III. マカガイ. 貝雜, 30, 29~35.
- 中村雅人・岩本哲二. 1977. 昭和 49年度 マカガイの室内採苗と中間育成について. 山口縣内海水試報告, 6, 46~53.

1996년 7월 19일 접수

1997년 3월 8일 수리