

## 보성 연안해역에서 꼬막과 새꼬막 부유유생 출현의 변화

김현정<sup>1</sup>, 강준수<sup>1,2</sup>, 정승원<sup>1,\*</sup>, 박용주<sup>3</sup>

<sup>1</sup>한국해양과학기술원 해양시료도서관, <sup>2</sup>부경대학교 해양학과, <sup>3</sup>한국해양과학기술원 통영해양생물자원기지

## Changes in planktonic bivalve larvae of *Tegillarca granosa* and *Anadara kagoshimensis* in the Boseong coastal waters of South Korea

Hyun-Jung Kim<sup>1</sup>, JunSu Kang<sup>1,2</sup>, Seung Won Jung<sup>1,\*</sup> and Yong-Joo Park<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Library of Marine Samples, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Geoje 53201, Republic of Korea,

<sup>2</sup>Department of Oceanography, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

<sup>3</sup>Tongyoung Marine Living Resources Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Tongyoung 53087, Republic of Korea

### \*Corresponding author

Seung Won Jung

Tel. 055-639-8430

E-mail. diatoms@kiost.ac.kr

Received: 30 June 2019

First Revised: 7 August 2019

Second Revised: 1 September 2019

Revision accepted: 2 September 2019

**Abstract:** To investigate the temporal distribution of planktonic larvae of *Tegillarca granosa* and *Anadara kagoshimensis* in the Boseong coastal waters of South Korea, samples of planktonic bivalve larvae were taken from the coastal waters from June to September 2018 (this consisted of monthly sampling in June, July, and September with three- or four-day interval sampling in August). The samples were analyzed using metagenomic next-generation sequencing methods (target gene: mitochondria cytochrome c oxidase 1 region). In this study, a total of 21 bivalve operational taxonomic units (OTUs) were detected with the most abundant bivalve OTUs (relative mean abundance > 1%) belonging to *Magallana sikamea*, *Xenostrobus atratus*, *Musculista senhousia*, *Magallana gigas*, *Sinonovacula constricta*, *Anadara kagoshimensis*, *Kurtiella* aff. *bidentata*, and *Tegillarca granosa*. In particular, *Tegillarca granosa* and *Anadara kagoshimensis* (the main fishery resources on the Boseong coast) accounted for 0.51–12.50% (average 4.00%) and 0.01–12.50% (1.92%), respectively. The planktonic bivalve larvae were most abundant from July to August. *Anadara kagoshimensis* was most abundant in early August but rare in the other investigated periods, whereas *Tegillarca granosa* was more abundant in late August. Bivalve larvae monitoring is important to predict the production of bivalve fisheries. Therefore, intensive monitoring is needed to understand the changes in planktonic bivalve larvae because potentially rapid turnover can respond to the ecological interaction of spawning bivalves.

**Keywords:** bivalve larvae, *Tegillarca granosa*, *Anadara kagoshimensis*, metagenomic next generation sequencing (mNGS), Boseong coast

## 서 론

돌조개과(Arcidae)에 속하는 꼬막(*Tegillarca granosa*), 새꼬막(*Anadara kagoshimensis*) 그리고 피조개(*Scapharca broughtonii*)는 방사륜의 개수에 따라 분류되며, 이들 꼬막류는 일시적인 부유유생기와 부착치패기를 거친 후 부착치패기에서 탈락하여 갯벌 속에서 저서생활을 한다. 종에 따라 차이는 있으나, 최적의 성장 조건에서 꼬막(*T. granosa*)의 수정란은 부화 후 약 3~4주 동안 부유유생기를 거친 후 200~450  $\mu\text{m}$ 의 크기가 되면 착저 및 부착유생기를 거친 후 치패로 성장한다. 그러나 꼬막(*T. granosa*) 치패의 생존율은 낮기 때문에 성패로 성장할 때까지의 생존율은 10% 이내로 보고되고 있다(Moon et al. 2004; Kim 2012). 특히, 양식장에 살포된 새꼬막(*A. kagoshimensis*)의 치패는 1개월 이내에 많은 양이 폐사하며, 이는 해적 생물의 포식, 먹이생물의 감소, 살포지의 물리적·이화학적 요인에 의한 것으로 알려져 있다(Kim et al. 1980; Kwon and Cho 1986; Chun et al. 1991).

꼬막(*T. granosa*)은 우리나라뿐만 아니라 일본, 중국을 비롯한 동남아시아부터 인도양과 서태평양의 여러 나라에서 식용으로 인기 높은 양식 이매패류이다(Yoo 2000). 국내에서 꼬막(*T. granosa*)은 순천만, 보성만, 강진만, 득량만, 여자만 등의 전남지방이 위치한 남해안에서 주로 생산되며, 전국 생산량의 약 70%를 점유하고 있다(MIFAFF 2008). 전라남도의 꼬막(*T. granosa*) 생산량은 1970년에 약 1,900톤으로 국내 생산량의 약 98%를 차지하였고 1970년대 중반부터 1990년대 중반까지 5,000~10,000톤 이상을 유지하였으나, 1990년대 후반에 들면서 급격히 감소하여 2016년에는 244톤, 2018년에는 47톤으로 급감하는 추세이다(Jang et al. 2006; KOSIS 2019). 이러한 현상의 원인으로 연안환경 및 양식장 저서환경의 악화와 같은 꼬막(*T. granosa*) 서식환경의 변화 등이 알려져 있다(Park et al. 1998; Sato and Koh 2004; Jeon et al. 2018).

우리나라와 함께 중국과 일본 등의 동남아시아는 꼬막(*T. granosa*)의 성장에 유리한 수온 조건을 갖추고 있어 갯벌 양식을 통한 연중 생산이 가능하며, 양식과 관련된 연구가 활발히 진행되어 꼬막(*T. granosa*)의 식성(Lam and Hai 1998), 성장(You et al. 2002), 양성(Narasimham 1980; Sanchai 1996) 그리고 성 성숙(Zheng et al. 1994)에 관한 연구 결과가 보고되어 있다. 우리나라 또한 꼬막(*T.*

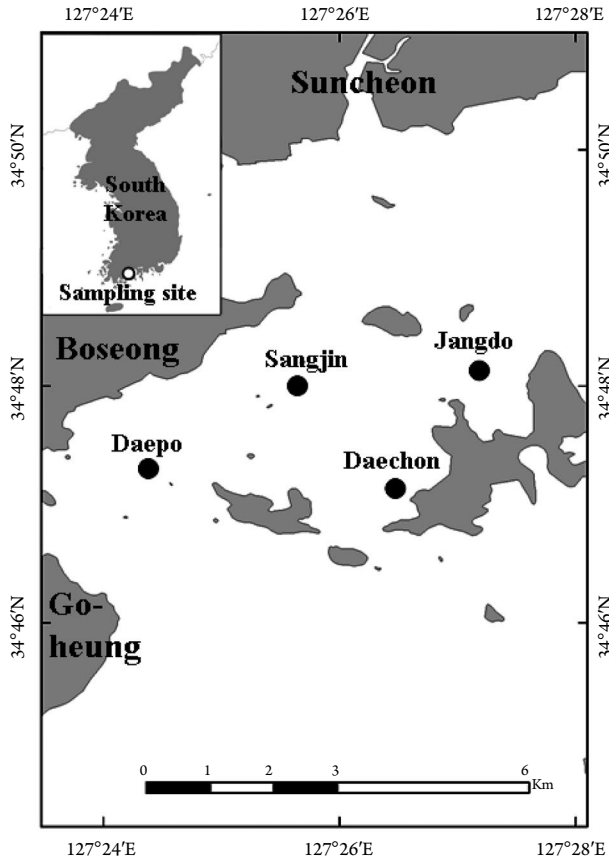
*granosa*)의 형태변이(Yoo 1971), 양식(Bae 1986), 생식주기와 산란유발(Lee 1998), 유생(You et al. 2001; You et al. 2002), 환경내성(Shin et al. 2002), 연령과 성장(Jang et al. 2006), 난 발생 및 유생 성장(Kim et al. 2012) 등의 활발한 연구가 이루어지고 있다. 특히 보성의 주요 수산자원인 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*) 부유유생의 변화는 국내의 꼬막(*T. granosa*) 및 새꼬막(*A. kagoshimensis*) 양식산업 및 종패생산기술의 중요 기초자료로 사용되어, 양식장의 관리 및 안정적인 생산성 향상에 기여할 수 있을 것으로 판단되나, 형태학적 동정이 매우 어렵기 때문에 그 연구는 아직까지 미비하다(Jung et al. 2018).

본 연구해역인 보성 바다목장은 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)이 주요 수산자원이다. 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)의 수산자원량을 가름할 수 있는 중요 기초자료인 부유유생량의 변동량을 파악하고자, 주 부유유생기로 추정되는 8월에 주 2회 집중조사를 실시하였다. 특히, 차세대염기서열 분석법을 통하여 형태학적으로 동정이 어려운 꼬막(*T. granosa*) 및 새꼬막(*A. kagoshimensis*) 부유유생의 상대적인 출현량 및 그 출현시기를 파악하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 지역

우리나라 남해안 중서부에 위치한 전남 보성군 벌교읍은 고흥반도와 여수반도로 둘러싸여 있으며, 해안가 주위에는 낮은 구릉들이 발달해 있고 만의 북서쪽에서 위치한 벌교천에 의해 담수의 유입이 발생한다(Fig. 1). 본 연구지역은 벌교천 하류지역 일대의 습지보호지역으로, 인근에 위치한 장도 및 지주도 등의 크고 작은 섬에 의하여 조류 및 해류의 유출입이 원활하지 않다. 이곳은 모래와 자갈의 함량이 적고 매우 세립한 니질의 퇴적물이 우세하여 패류 양식이 주종을 이루며, 보성 벌교 갯벌로 불리기도 한다. 보성 벌교 갯벌은 국내 최대의 꼬막(*Tegillarca granosa*)과 새꼬막(*Anadara kagoshimensis*)의 생산지로 알려져 있다. 또한 습지보전법에 의거하여 보성군 벌교읍 호동, 장양, 영등, 대포 일원은 2003년에 습지보호지역 제 4호로 지정되었으며, 2006년에는 랍사르에 등록되었다(Park 2016).



**Fig. 1.** Location of the sampling sites in the Boseong coastal waters of South Korea.

## 2. 이매패류 부유유생의 채집 및 전처리

꼬막 (*T. granosa*)과 새꼬막 (*A. kagoshimensis*)을 중심으로 한 이매패류 부유유생의 출현 양상을 파악하기 위하여 2018년 6월부터 9월에 보성 연안해역의 4개 지역(대포, 장도 상진, 대촌; 만조 시 평균 수심 4~6 m)에서 채집을 실시하였다. 특히, 꼬막 (*T. granosa*)과 새꼬막 (*A. kagoshimensis*)의 산란 후 부유유생기를 가지는 8월에는 주 2회(3~4일 간격)의 집중채집을 실시하였다. 이매패류 부유유생의 채집은 어선을 이용하여 유속계(Hydro-Bios, Germany)를 부착한 네트(직경 45 cm, 망목 78  $\mu$ m)를 약 2 kn의 속도로 5분간 수심 1 m에서 수평 예인하였다. 채집된 시료는 선상에서 70% 에탄올로 즉시 고정하였다.

연구실로 운반된 시료의 일부는 실체현미경(Axio Imager A2, Carl-Zeiss, Germany)으로 관찰하여 이매패류 유생의 유무를 확인하였으며, 이후 500  $\mu$ m 망목의 체로 불

순물을 제거하고 100  $\mu$ m 체를 통해 이매패류 부유유생의 분석을 위한 시료로 농축하였다. 농축된 시료는 genomic DNA를 추출하기 위한 시료로 사용하였다.

## 3. 이매패류 부유유생의 차세대 염기서열 (metagenomics next-generation sequencing, mNGS) 분석

Genomic DNA (gDNA)를 추출하기 위하여 농축된 시료는 액체질소에 급속 냉동시킨 후, Homogenizer (Daihan Scientifics, WiseMix, HG-15D, Korea)를 사용하여 균질하게 분쇄하였다. 이렇게 균질화된 시료는 60°C dry oven에서 건조 후, 1 g dry weight을 취하여 QIAGEN Power Soil Kit (Qiagen, Hilden, Germany)으로 gDNA를 추출하였다. 이때 분석 결과의 정확도를 높이기 위하여 동일한 시료에서 gDNA를 3회 반복 추출한 후 실험에 이용하였다.

본 연구에서 부유유생들의 분자학적 분류를 위한 유전자 마커로 미토콘드리아의 cytochrome c oxidase 1 (CO1) 유전자를 선정하였으며, 미토콘드리아 유전체는 동물의 분류 체계를 확립하거나 계통유연관계를 규명하는 데 매우 유용한 유전자 마커로 널리 이용되어 왔다 (Jung *et al.* 2018). 미토콘드리아의 CO1 유전자를 증폭하기 위하여 forward primer (LCO-1490; 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3')와 reverse primer (HCO-2198; 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')를 사용하였다 (Folmer *et al.* 1994; Jung *et al.* 2018). 1차 PCR을 수행하기 위하여 template 10 ng에 10 $\times$  PCR buffer 2.5  $\mu$ L, dNTP mixture 2  $\mu$ L, 1 unit Ex Taq (TaKaRa, EX Taq, Kyoto, Japan), 각각의 primer 1  $\mu$ L (10 pM) 및 증류수를 넣어 총 25  $\mu$ L로 맞추었다. 1차 PCR (BioRad, Hercules, CA, USA)에서 30회 증폭을 실시하였으며, 조건은 94°C에서 5분, 94°C 30초, 55°C 40초 그리고 72°C 60초, 마지막으로 72°C에서 10분간 반응시켰다. PCR product는 1%의 agarose gel에서 전기영동을 실시하여 CO1 유전자의 증폭 여부를 판단하였다. 증폭이 완료된 1차 PCR product는 Nextera XT Index Kit (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA)로 2차 PCR을 수행하였으며, 조건은 1차 PCR과 동일하게 설정한 후 10회 증폭을 실시하였다. 반응이 완료된 2차 PCR 산물은 Qiaquick PCR purification Kit (No. 28104, Qiagen Inc.)로 정제하였으며, 이후 Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)을 이용하여 quality control (QC) test를

**Table 1.** Summary of reads (cut-off: 97%), operational taxonomic units (OTUs), and alpha-diversity indices (Shannon diversity and Simpson evenness) obtained from the mitochondrial CO1 region using metagenomic next-generation sequencing of larvae from the Boseong coastal waters of South Korea. The results were analyzed by one-way ANOVA tests

Sampling date	Site	Reads (bivalve)	OTUs (bivalve)	Shannon diversity	Simpson evenness	F value
June 16	Daepo	14,080 (1)	36 (1)	1.48	0.69	No significance
	Sangjin	8,324 (3)	32 (1)	1.50	0.72	
	Jangdo	6,556 (4)	30 (2)	1.43	0.68	
	Daechon	6,331 (0)	31 (0)	1.47	0.66	
	Mean ± S.D	8,822 ± 3,616 (2 ± 1)	32 ± 2 (1 ± 0)	1.47 ± 0.03	0.69 ± 0.03	
July 12	Daepo	6,672 (70)	30 (3)	1.50	0.64	No significance
	Sangjin	22,276 (31)	46 (7)	1.52	0.69	
	Jangdo	8,211 (106)	39 (4)	1.69	0.69	
	Daechon	24,721 (31)	44 (6)	1.47	0.67	
	Mean ± S.D	15,470 ± 9,345 (59 ± 36)	39 ± 7 (5 ± 1)	1.54 ± 0.10	0.67 ± 0.03	
August 02	Daepo	6,866 (1,836)	43 (7)	2.43	0.89	No significance
	Sangjin	4,373 (777)	48 (7)	1.84	0.71	
	Jangdo	8,807 (1,758)	46 (9)	1.95	0.80	
	Daechon	7,838 (2,566)	55 (12)	2.58	0.88	
	Mean ± S.D	6,971 ± 1,904 (1,734 ± 734)	48 ± 5 (8 ± 2)	2.20 ± 0.36	0.82 ± 0.08	
August 06	Daepo	9,006 (3,043)	43 (13)	2.21	0.83	No significance
	Sangjin	1,310 (695)	38 (9)	1.92	0.75	
	Jangdo	8,107 (2,909)	56 (13)	2.59	0.89	
	Daechon	5,672 (574)	41 (8)	1.02	0.36	
	Mean ± S.D	6,023 ± 3,443 (1,805 ± 1,353)	44 ± 7 (10 ± 2)	1.94 ± 0.67	0.71 ± 0.24	
August 09	Daepo	67,806 (384)	38 (11)	0.47	0.18	No significance
	Sangjin	18,388 (5,393)	56 (14)	2.44	0.88	
	Jangdo	22,639 (11,780)	49 (14)	1.96	0.79	
	Daechon	21,256 (6,257)	49 (12)	2.28	0.86	
	Mean ± S.D	32,522 ± 23,589 (5,953 ± 4,668)	48 ± 7 (11 ± 1)	1.78 ± 0.90	0.68 ± 0.33	
August 13	Daepo	14,639 (257)	51 (13)	1.39	0.61	No significance
	Sangjin	10,406 (85)	30 (6)	0.54	0.19	
	Jangdo	8,567 (931)	52 (9)	1.65	0.63	
	Daechon	5,923 (1306)	47 (12)	2.10	0.80	
	Mean ± S.D	9,883 ± 3,665 (644 ± 572)	45 ± 10 (10 ± 3)	1.42 ± 0.66	0.56 ± 0.26	
August 16	Daepo	3,167 (533)	35 (9)	1.80	0.76	No significance
	Sangjin	15,700 (2,441)	50 (12)	1.60	0.63	
	Jangdo	13,721 (6,060)	41 (15)	1.62	0.70	
	Daechon	4,827 (1,487)	43 (11)	1.95	0.75	
	Mean ± S.D	9,353 ± 6,274 (2,630 ± 2,415)	42 ± 6 (11 ± 2)	1.74 ± 0.17	0.71 ± 0.06	
August 20	Daepo	10,347 (500)	43 (9)	0.80	0.30	No significance
	Sangjin	9,447 (53)	41 (6)	0.35	0.11	
	Jangdo	17,365 (172)	44 (7)	1.02	0.52	
	Daechon	10,518 (48)	41 (7)	0.84	0.34	
	Mean ± S.D	11,919 ± 3,660 (193 ± 212)	42 ± 1 (7 ± 1)	0.75 ± 0.29	0.32 ± 0.17	
August 22	Daepo	13,240 (174)	48 (13)	0.51	0.16	No significance
	Sangjin	15,104 (192)	57 (13)	0.76	0.25	
	Jangdo	9,141 (307)	48 (11)	1.12	0.38	
	Daechon	4,319 (182)	48 (10)	1.43	0.51	
	Mean ± S.D	10,451 ± 4,787 (213 ± 62)	50 ± 4 (11 ± 1)	0.96 ± 0.40	0.33 ± 0.15	

Table 1. Continued

Sampling date	Site	Reads (bivalve)	OTUs (bivalve)	Shannon diversity	Simpson evenness	F value
August 27	Daepo	8,619 (380)	50 (13)	1.48	0.64	No significance
	Sangjin	9,222 (758)	67 (16)	1.77	0.65	
	Jangdo	9,591 (2,396)	56 (12)	2.18	0.83	
	Daechon	4,510 (793)	59 (14)	2.49	0.84	
	Mean ± S.D	7,985 ± 2,351 (1,081 ± 895)	58 ± 7 (13 ± 1)	1.98 ± 0.45	0.74 ± 0.11	
September 14	Daepo	1,380 (14)	29 (5)	1.41	0.55	No significance
	Sangjin	4,214 (10)	25 (5)	1.67	0.75	
	Jangdo	31,072 (18)	45 (6)	0.86	0.43	
	Daechon	1,995 (18)	38 (7)	1.80	0.72	
	Mean ± S.D	9,665 ± 14,322 (15 ± 3)	34 ± 8 (5 ± 0)	1.44 ± 0.42	0.61 ± 0.15	

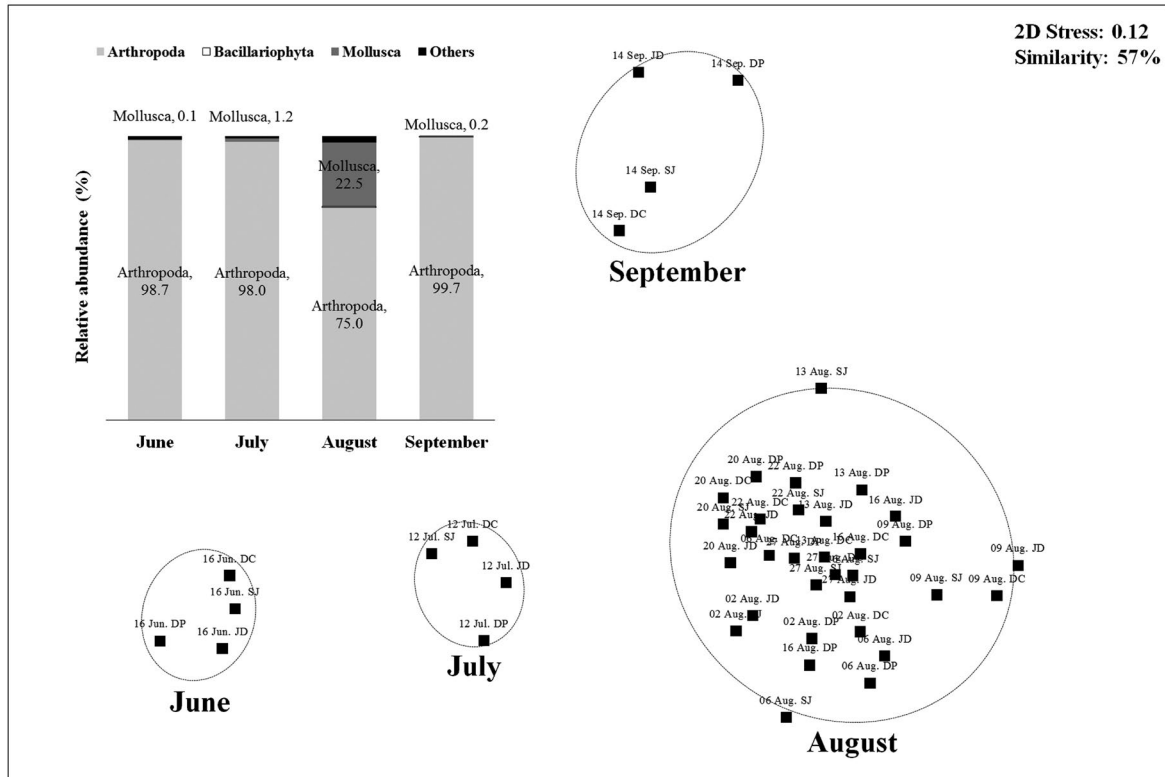
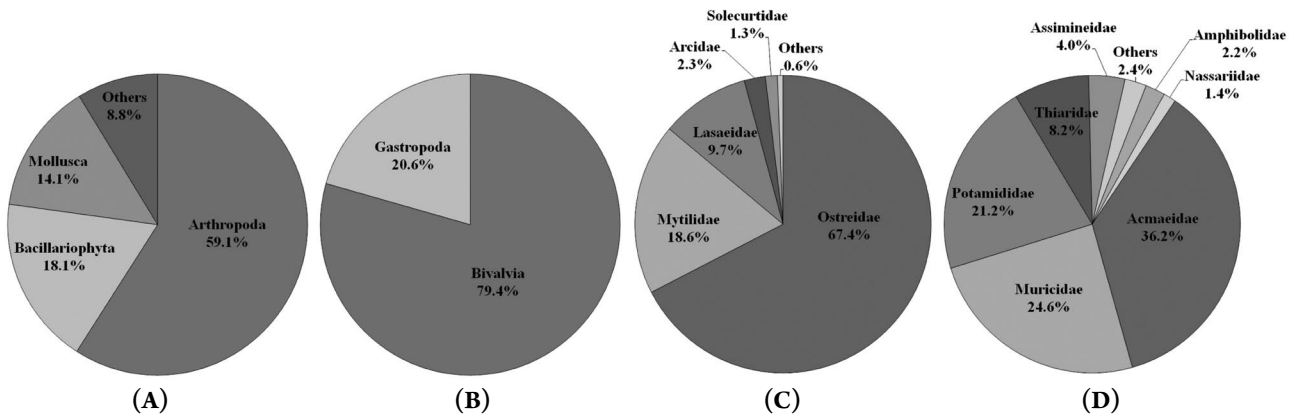


Fig. 2. Nonmetric multi-dimensional scaling (nMDS) scatter plot of the Bray-Curtis dissimilarity at 0.2 of the stress levels of the planktonic organisms obtained from the mitochondrial CO1 region using metagenomic next-generation sequencing of larvae from the Boseong coastal waters of South Korea. The hand-drawn lines indicate statistical support. The bar charts show the mean relative abundances of the taxa classified at the phylum level. DP: Daepo, SJ: Sangjin, JD: Jangdo, DC: Daechon.

실시하였다. QC test가 완료되면 동량의 3회 반복된 2차 PCR product를 모아서 pooling 한 후 Illumina Mi-Seq platform으로 분석하였다. Mi-Seq platform에서 분석된 결과는 Mi-Seq Control Software (MCS, ver. 2.4.1)의 Fast

QC를 수행하여 poor-quality 염기서열을 제거하였다. 또한 fast length adjustment of short reads (FLASH) Software로 short sequence reads (< 150 bp), low-quality sequences (score < 33), singletons 및 non-target sequences를 제거





**Fig. 3.** Taxonomic composition of the bivalve larvae obtained from the mitochondrial CO1 region using metagenomic next-generation sequencing of larvae from the Boseong coastal waters of South Korea. A: phylum level, B: class level of mollusca, C: family level of bivalve, D: family level of gastropoda.

하였다(Magoč and Salzberg 2011). 이렇게 처리된 염기서열은 CD-HIT-OTU program을 이용하여 97% 수준에서 clustering을 실시하였고(Li *et al.* 2012), 이후 Mothur program을 통해 alpha-diversity (Shannon diversity, Simpson evenness)를 계산하였다(Schloss 2009).

#### 4. 통계 분석

보성 연안에 위치한 대포, 장도, 상진, 대촌의 4개 지역에서 CO1 유전자의 metagenomic next generation sequencing (mNGS) 결과 차이를 살펴보기 위하여 statistical package for the social sciences (SPSS, ver. 24)를 사용하여 one-way analysis of variance (one-way ANOVA) 분석을 하였다. 또한 mNGS 결과를 기반으로 부유유생 군집의 시·공간적 차이를 분석하기 위하여 Bray-Curtis similarity methods 와 analysis of similarity (ANOSIM)를 사용하여 nonmetric multi-dimensional scaling (nMDS)을 수행하였다. 일련의 nMDS 분석은 PRIMER 6.0을 통해 분석하였다.

### 결 과

#### 1. 부유생물의 군집 분석

보성 연안에서 채집한 시료를 mNGS로 분석한 결과, 염기서열은 98,0553~156,539,416 (45,563,530 ± 36,152,001) 이고 reads (97% cut-off)값은 1,310~67,806 (11,733 ± 10,861)이었다(Table 1). 각 시료의 rarefaction curve는

reads값과 operational taxonomic units (OTUs)의 결과가 포함되어 데이터의 신뢰성을 확보하였다. OTUs는 25~67 (44 ± 9)으로 나타났고, 다양도 지수는 0.35~2.59 (1.57 ± 0.59), 균등도 지수는 0.11~0.89 (0.62 ± 0.22)으로 나타났다(Table 1). 부유생물의 군집 구성은 정점 간 유의한 차이를 보이지 않았고(ANOVA,  $p > 0.05$ ) nMDS로 수행된 군집분석의 결과는 유사도 57%를 기준으로 6월, 7월, 9월과 8월이 각각 구분되었다(Table 1, Fig. 2). 채집기간 중 절지동물(Arthropoda)이 최우점 분류군이었으나, 연체동물(Mollusca)이 6월부터 점차 증가하여 8월에 최고 구성비율을 보인 후 9월에 급감하였다.

채집기간 중 부유생물은 크게 14개의 분류군이었으며, 이 중 절지동물(59%), 규조류(Bacillariophyta; 18%), 연체동물(14%)이 90% 이상을 차지하였고 나머지 분류군은 각각 1% 이하의 낮은 구성비율을 보였다(Fig. 3). 이 중 연체동물은 이매패류(Bivalvia; 79%)와 복족류(Gastropoda; 21%)로 구성되어 있었다. 이매패류 중 굴(Ostreidae)은 이매패류의 평균 67%를 차지하는 최우점 분류군이었고 홍합(Mytilidae)은 19%로, 이 두 분류군이 전체 이매패류의 86%를 차지하였다(Fig. 3). 그 외 가재더부살이 조개류(Lasaeidae), 돌조개류(Arcidae), 발가리맛조개류(Solecurtidae)가 낮은 출현비율을 보였다.

#### 2. 이매패류 부유유생의 출현량 및 출현시기

보성 연안에서 출현하는 이매패류는 21종이고 이 중 8종이 이매패류 군집의 1% 이상을 차지하였다(Fig. 4). 최우

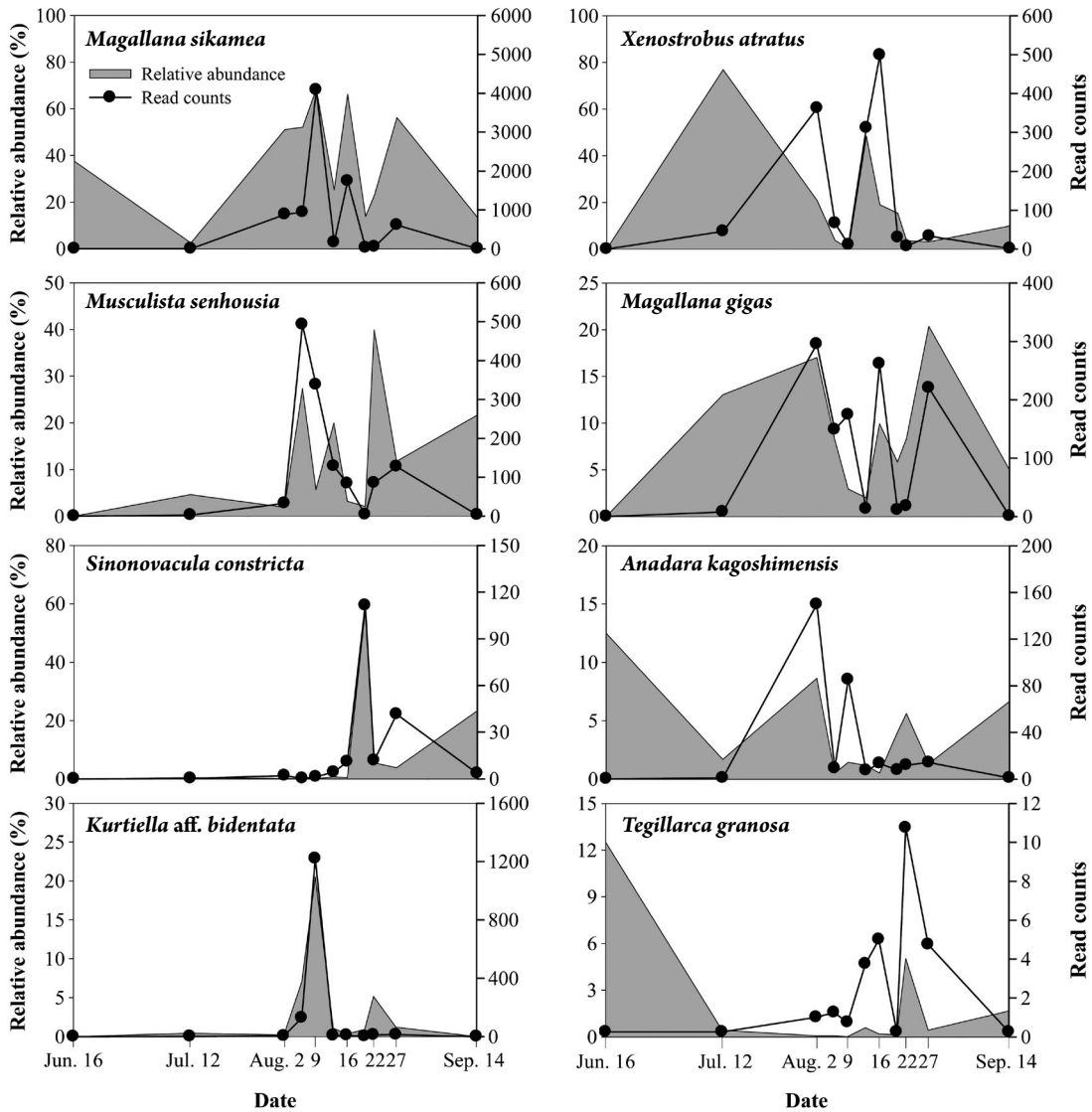


Fig. 4. Temporal variation in the composition of bivalve larvae obtained from the mitochondrial CO1 region using metagenomic next-generation sequencing of larvae from the Boseong coastal waters of South Korea.

점종은 구마모토굴 (*Magallana sikamea*)로, 이매패류 군집에서 평균 37.25%를 차지하였다. 구마모토굴 (*M. sikamea*)은 집중 조사 기간인 8월에 50% 이상의 높은 구성비율을 보였으며, 특히 8월 9일에 최대값인 68.59%를 보이다가 9월에 급감하였다. 왜홍합 (*Xenostrobus atratus*)은 평균 18.27%의 구성비율을 보였고 최대값은 7월 12일에 76.89%로 나타났다. 종뿔 (*Musculista senhousia*)은 평균 12.55%의 구성비율을 보였고, 8월 6일부터 증가하여 8월 22일에 39.88%의 최대값을 보인 후 감소하였다. 참굴 (*Magallana gigas*)은 평균 8.42%의 구성비율로 출현하였고, 8월 27일

에 20.36%의 최대값을 보였다. 가리맛조개 (*Sinonovacula constricta*)는 평균 8.36%로, 6~7월까지 거의 출현하지 않았으나, 8월 20일에 급격히 증가하여 67.70%의 구성비율을 보였다. 새꼬막 (*Anadara kagoshimensis*)은 평균 4.00%를 차지하였으며, 6월을 제외하고 8월 2일에 8.63%로 가장 높았다. 연구기간 동안 새꼬막 (*A. kagoshimensis*)의 read값은 8월 2일에 가장 높았다. *Kurtiella* aff. *bidentata*는 평균 3.35%로 6월과 9월에는 출현하지 않았고 8월 9일에 20.50%로 급격한 증가를 보이다가 감소하였다. 꼬막 (*Tegillarca granosa*)은 평균 1.92%로, 6월을 제외하고 8

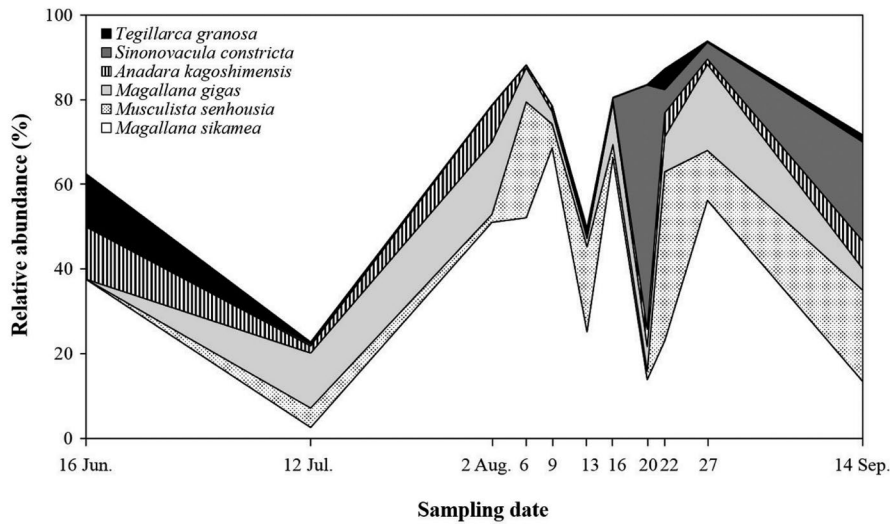


Fig. 5. Changes in the common bivalve larvae obtained from the mitochondrial CO1 region using metagenomic next-generation sequencing of larvae from the Boseong coastal waters of South Korea.

월 22일에 5.03%의 가장 높은 구성비율을 보였다. 꼬막(*T. granosa*)의 read값 또한 8월 22일에 가장 높았다.

## 고찰

우리나라에서 꼬막(*T. granosa*)의 양식을 위한 종패는 대부분 보성을 비롯한 전남해역에서 생산되어 전국으로 공급되므로, 꼬막(*T. granosa*)의 산란 및 생육장의 역할을 담당하는 보성 연안해역에서 산란에서부터 종패에 이르는 꼬막(*T. granosa*)의 생활사에 대한 연구는 반드시 수행되어야 한다. 특히 꼬막(*T. granosa*)을 포함한 해양 무척추동물의 분포는 부유유생기와 매우 밀접하게 연관되어 있으며(Jung et al. 2010), 부유유생기를 통한 산란기의 추정은 금어기 지정 등의 자원보호를 위한 근거 제시를 위해 필요하다. 본 연구 결과, 꼬막(*T. granosa*)을 비롯한 이매패류 부유유생은 하계인 7~8월에 높은 출현빈도를 보였으며, 이는 대부분의 이매패류가 여름철에 산란하는 하계 산란형으로 알려진 기존의 연구 결과와 일치한다(Booolootian et al. 1962; Yoo 2000). 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*) 부유유생의 상대개체수(relative abundance)는 비록 6월에 가장 높았지만(Fig. 4), 6월의 이매패류 부유유생의 read값이 매우 낮기 때문에 상대개체수가 높게 분석되었다. 따라서 이매패류의 유의한 read값을 고려하면, 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)

의 부유유생은 각각 8월 초와 8월 말에 가장 높은 출현율을 보였다(Table 1). 꼬막류의 산란 후 부유유생기가 약 3~4주임을 감안하면(Moon et al. 2004), 본 연구의 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)은 각각 7월과 6월에 산란을 시작하는 것으로 판단되며, 이는 꼬막(*T. granosa*)의 생식소 발달 시기와 일치한다(2018년 보성바다목장 사업, 미발표 자료). 꼬막(*T. granosa*)은 빠르게 성숙하며, 수온이 증가하는 7월 중에 집중적으로 산란을 마치지만 일부 환경의 변화에 따라 수온이 높은 8월까지 산란을 계속하기도 한다(Yoo 1971). 반면 새꼬막(*A. kagoshimensis*)은 7~9월까지 꼬막보다 긴 산란시기를 가지고 있으나 주산란기는 7~8월로 알려져 있다(Kim et al. 2008). 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)의 생식소 역시 7~8월에 발달하는 것으로 보고되어 있다(Moon et al. 2004; Kim et al. 2008; Shin et al. 2011). 본 연구에서 새꼬막(*A. kagoshimensis*)의 산란시기가 다른 연구 결과에 비해 다소 빠른 것으로 확인되었으나, 꼬막(*T. granosa*)의 성숙시기는 성패의 서식환경 및 수온 등에 영향을 받아 동일한 종에서도 다소 차이를 보이는 것으로 보고되어 있다(Yoo 1971; Kim et al. 2008).

본 연구기간 동안 꼬막(*T. granosa*), 새꼬막(*A. kagoshimensis*)과 함께 구마모토굴(*M. sikamea*), 종뭇(*M. senhousia*), 참굴(*M. gigas*) 그리고 가리맛조개(*S. constricta*) 등이 중요 유생으로 확인되었다(Fig. 5). 본 연구에서 가장 높은 출현을 보인 구마모토굴(*M. sikamea*)은 보성해



역 인근에 위치한 순천만에서 출현이 확인되어(Hong *et al.* 2012), 순천만과 본 연구지역은 유사한 서식환경을 가진 것으로 판단된다. 일반적으로 8~11월에 부유유생이 관찰되는 것으로 보고되는 종뭇(*M. senhousia*)은 오염지표생물로서 유기물이 풍부한 환경에서 대량으로 출현하고 저서환경을 혐기성 상태로 변화시켜 다른 생물들의 성장을 방해하는 해적생물로 보고되고 있다(Morton 1974; Lim and Park 1998; Crooks 1992; Kim *et al.* 2006). 따라서 종뭇(*M. senhousia*) 유생의 높은 출현은 현재 양식장의 피해를 주고 있거나 피해를 유발할 수 있어, 주요 수산자원의 증대 및 관리를 위해 향후 이에 따른 대책이 필요하다. 남해 득량만에서 참굴(*M. gigas*) 유생은 조사기간인 7~8월에 높게 관찰되었고(Kim *et al.* 2008), 본 연구 결과와 일치하였으나, 서해 곰소만에서는 참굴(*M. gigas*)의 유생은 6월에 특이적으로 높게 출현하여 지역 및 환경의 차이에 따라 출현의 차이를 보였다(Jung *et al.* 2018). 가리맛조개(*S. constricta*)의 유생은 8월에 최대 출현율을 보였으며 이는 Han *et al.* (2005)에 의해 보고된 가리맛조개(*S. constricta*)의 산란기(8월~10월 초)와 유사하다.

부유유생기의 이매패류는 형태가 유사하기 때문에, 숙련가라 하더라도 이매패류의 부유유생을 정확히 동정하기에는 어려움이 따른다. 한 예로 미국 동부 연안의 200여 종 이상의 패류들이 서식하고 있으나 각 유생의 형태를 구분할 수 있는 종들은 50여 종에 지나지 않는다(Lutz *et al.* 1982). 이러한 문제를 해결하기 위하여 mNGS 연구가 시도되고 있으나(Hajibabaei *et al.* 2007), 이매패류의 부유유생을 대상으로 한 연구는 아직 미비하다(Jung *et al.* 2018). 본 연구는 보성 연안해역에 분포하는 부유유생의 출현량을 토대로 이매패류의 산란시기를 추정하고자 하였으며, 이러한 연구 결과는 양식 자원의 자연 증대를 위한 채묘 시기의 제한 등과 같은 규제의 근거가 될 수 있을 것으로 판단된다. 뿐만 아니라 본 연구에서는 형태학적으로 동정하기 어려운 이매패류 부유유생의 군집을 종 수준으로 분류하여 연구해역의 높은 종다양성을 확인하였고 이를 통해 보성 연안해역이 여러 이매패류의 산란장으로 이용되고 있음을 확인하였다. 그러나 본 연구 결과는 이매패류의 생활사 중 일부만을 언급하고 있으며, 장기적으로 이매패류의 자연증대와 같은 생산성 향상을 위해서는 부유유생기 뿐만 아니라 이매패류의 산란, 부착유생기 등의 모든 생활사를 포함한 연구가 반드시 필요하다.

## 적 요

이매패류의 부유유생은 성패(양식자원)에 직접적인 영향을 미치고 있어, 부유유생의 출현시기 및 출현량에 관한 연구는 자연 채묘량의 증대와 인공종묘의 생산을 위해서 매우 중요하다. 이에 본 연구에서는 유전자 분석기법을 이용하여 보성 연안에서 총 21종의 이매패류 부유유생을 확인하였으며, 이 중 구마모토굴(*M. sikamea*), 왜홍합(*X. atratus*), 종뭇(*M. senhousia*), 참굴(*M. gigas*), 가리맛조개(*S. constricta*), 새꼬막(*A. kagoshimensis*), *Kurtiella aff. bidentata* 그리고 꼬막(*T. granosa*)이 중요 부유유생으로 관찰되었다. 특히, 보성 연안해역의 주요 수산자원인 새꼬막(*A. kagoshimensis*)과 꼬막(*T. granosa*)은 각각 이매패류의 0.51~12.50% (평균 4.00%), 0.01~12.50% (평균 1.92%)의 구성비율을 차지하며 다른 이매패류보다 낮은 출현량을 보였다. 꼬막(*T. granosa*)과 새꼬막(*A. kagoshimensis*)의 부유유생은 6월부터 9월까지 관찰되었으나, 각각 8월 초와 8월말에 가장 높은 출현율을 보였다.

## 사 사

본 연구는 “2018년도 보성군 연안바다목장 꼬막 가리맛조개 자원량 및 꼬막 폐사원인 규명”(PG50540) 및 “해양바이오 기반 청정 기능성·산업소재 대량생산 기술 개발”(PE99722)의 사업 지원을 받아 수행하였음.

## REFERENCES

- Bae SW. 1986. Origin and development process of ark-shell culture industry in Korea. Bull. Korean Fish. Soc. 19:72-82.
- Booolootian RA, A Farmanharmaian and AC Giess. 1962. On the reproductive cycle and breeding habits of two western species of *Haliotis*. Biol. Bull. 122:183-192.
- Chang DS, TS Moon and MM Jung. 2006. Shell height frequency using of age and growth of blood cockle, *Tegillarca granosa* (Linnaeus) in Yeosu Bay, southern coast of Korea. Korean J. Malacol. 22:135-141.
- Chun YY, GH NA and WJ Choi. 1991. Mass mortality of arkshell, *Anadara broughtonii* Schrenck seedlings with marine ecological characteristics. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 24:70-78.

- Crooks JA. 1992. The ecology of the introduced bivalve, *Musculista senhousia*, in Mission Bay, San Diego. MS theses. San Diego State University.
- Folmer O, M Black, W Hoeh, R Lutz and Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3:294-299.
- Hajibabaei M, GAC Singer, PDN Hebert and A Donal. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends Genet. 23:167-172.
- Han JS, JB Kim, CH Lee and EY Chung. 2005. Changes in biochemical components of several tissues in *Sinonovacula constricta*, in relation to gonad developmental phases. Korean J. Malacol. 21:121-132.
- Hong JS, M Sekino and S Sato. 2012. Molecular species diagnosis confirmed the occurrence of Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* in Korean waters. Fish. Sci. 78:259-267.
- Jeon SR, S Heo, YS Cho, YH Choi and GR Oh. 2018. A study on suitable site selection of blood clams (*Tegillarca granosa*) using habitat suitability factors in tidal flat, Cheonsu and Garolim Bays. Korean Soc. Mar. Environ. Saf. 24:764-772.
- Jung SW, CS Kim, JW Yoo, YO Kim, JH Lee and JS Hong. 2010. Identification of *Ruditapes philippinarum* and *Meretrix lusoria* larvae using single cell PCR analysis and microscopic observation. Ocean Polar Res. 32:247-254.
- Jung SW, HJ Kim, JS Park, TK Lee, K Shin, SY Jeong, SY Hwange and JW Yoo. 2018. Planktonic bivalve larvae identification and quantification in Gomso Bay, South Korea, using next-generation sequencing analysis and microscopic observations. Aquaculture 490:297-302.
- Kim CW, SB Kwon and SB Hur. 2006. Distribution of bivalve larvae in Deukryang Bay. J. Aquacult. 19:288-298.
- Kim JD, SC Cheong and HW Kang. 1980. Studies on the artificial mass seed production of the ark shell *Anadara broughtonii* (Schrenck). II. On the intermediate culture of the artificial seed. Acta Chimica 25:45-53.
- Kim KC. 2012. The current status and development plans for the ark shell industry in Beolgyo area, Bosung County. MS theses. Gwangju University.
- Kim SY, YK Shin, HK Lim and WC Lee. 2008. Gonadal development and reproductive cycle of the ark shell, *Scapharca subcrenata* (bivalvia: arcidae) from Yeolja Bay. J. Aquac. 21:252-258.
- KOSIS. 2018. Korean Statistical Information Service. URL: <http://kosis.kr>.
- Kwon WS and CH Cho. 1986. Culture of the Ark shell, *Anadara broughtonii* in Yoja Bay. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 19:375-379.
- Lam NN and DN Hai. 1998. Gut content of blood cockle, *Anadara granosa* (L.), with emphasis on diatoms, Tra Vinh, South Vietnam. pp. 77-82. In Proceedings of the Eighth Workshop of the Tropical Marine Mollusc Programme (TMMP) (Hylleberg J (eds.)).
- Lee JH, EW Choi, SK Kim, SH Ryu and UW Hwang. 2012. Mitochondrial genome of the cockscomb pearl mussel *Cristaria plicata* (Bivalvia, Unionoida, Unionidae). Mitochondrial DNA 23:39-41.
- Lee JH. 1998. A study on sexual maturation of the ark shell, *Scapharca subcrenata* Lischke. Korean J. Malacol. 14:99-102.
- Lim HS and KY Park. 1998. Population ecology of the mud mussel *Musculista senhousia* (Bivalvia: Mytilidae) on the mud tidal flat in Mokpo coastal area, southwest coast of Korea 1. distribution and growth. Korean J. Malacol. 14:121-130.
- Lutz R, J Goodsell, M Castagna, S Chapman and C Newell. 1982. Preliminary observations on the usefulness of hinge structures for identification of bivalve larvae. J. Shellfish Res. 2:65-70.
- Magoč T and SL Salzberg. 2011. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics 27:2957-2963.
- MIFAFF. 2008. Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. pp. 301-302. In Statistical Yearbook. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Korea.
- Moon TS, MM Chung, YK Shin, MH Yang, CS Ko and YJ Chang. 2004. Spawning inducement, egg development and early larval rearing of ark shell (*Tegillarca granosa*). (L.) J. Korean Fish. Soc. 37:485-491.
- Morton B. 1974. Some aspects of the biology, population dynamics, and functional morphology of *Musculista senhousia* Benson (Bivalvia, Mytilidae). Pac. Sci. 28:19-33.
- Park MS, HJ Lim and PJ Kim. 1998. Effect of environmental factors on the growth, glycogen and hemoglobin content of cultured arkshell, *Scapharca broughtonii*. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 31:176-185.
- Park SN, KH Oh, YK Koh, ST Youn, HG Kim and HS Yang. 2015. The tidal wetland environment of Suncheon Bay and Boseong-Beolgyo based on citizen monitoring. J. Korean Isl. 27:161-179.
- Sanchai T. 1996. Culture of cockle, *Anadara* spp., on the west coast of southern Thailand. pp. 97-100. In Proceedings of the Sixth Workshop of the Tropical Marine Mollusc Programme (TMMP) (Hylleberg J and K Ayyakkannu eds.). Phuket Marine Biological Center.
- Sato M and CH Koh. 2004. Biological richness of the Asian tidal flats and its crisis by human impacts. pp. 135-155. In Ecological Issues in a Changing World. Springer, Dordrecht.
- Schloss PD, SL Westcott, T Ryabin, JR Hall, M Hartmann, EB

- Hollister, RA Lesniewski, BB Oakley, DH Parks, CJ Robinson, JW Sahl, B Stres, GG Thallinger, DJ van Horn and CF Weber. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 75:7537–7541.
- Shin YK and TS Moon. 2005. Temperature tolerance and physiological change of blood cockle (*Tegillarca granosa*). *J. Korean Fish. Soc.* 38:251–256.
- Shin YK, TS Moon and CH Wi. 2002. Effects of the dissolved oxygen concentration on the physiology of the blood cockle, *Tegillarca granosa*. *J. Korean Fish. Soc.* 35:485–489.
- Shin YK, WC Lee, SY Kim, JC Jun and EO Kim. 2011. Variation in physiological energetics of blood cockle *Scapharca subcrenata* (Bivalvia: Arcidae) from Yeosu Bay, South coast of Korea. *Korean J. Malacol.* 27:205–211.
- Yoo SK. 1971. Biological studies on the propagation of important bivalves. 3. Growth and morphological variations of the ark shell *Anadara granosa bisenensis* Schenck et. Reinhart. *Publ. Mar. Lab. Bull. Pusan Fish. Coll.* 4:19–27.
- Yoo SK. 2000. Coastal Aquaculture. Guduk Publishing Company, Busan.
- You Z, S Xu, P Bian and J Chen. 2001. The effects of sea water temperature and salinity on the growth and survival of *Tegillarca granosa* larvae and juveniles. *Acta Oceanol. Sin.* 23:106–113.
- You Z, Y Wang and J Chen. 2002. Growth of *Tegillarca granosa* in the pond culture of Leqing Bay. *J. Fish. China* 26:440–447.
- Zheng Y, X Zhang, H Luan and Z Wang. 1994. On promoting maturity of ark shell by controlling water temperature. *Shandong Fish.* 11:7–9.