

백합 과 패류의 mtCOI 일부 염기서열을 이용한 계통분류

김재진, 김세창, 홍현철

배재대학교 생물약학과

Molecular Phylogeny of Veneridae (Bivalvia: Heteroconchia) on the Basis of Partial Sequences of Mitochondrial Cytochrome Oxidase I

Jae Jin Kim, Sei Chang Kim and Hyun Chul Hong

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

ABSTRACT

Partial sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (mtCOI) gene of veneroid clams were obtained to elucidate molecular phylogeny. A total of nine veneroids and one corbiculid were collected from southern and western sea of Korea. The mtCOI sequences of the clams obtained from the present study and three veneroids sequences from GenBank were analyzed by maximum parsimony and neighbor-joining methods.

The subfamilies Samarangiinae, Dorsiniinae, Cyclinae, Meretricinae and Chioninae were monophyletic, but Pitarinae was paraphyletic.

One transition and one transversion between *Meretrix lusoria* and *M. petechialis* were found. Three transitions and two transversions among two samples of *Ruditapes philippinarum* and a *R. variegata* were observed.

Keywords: Veneridae, Mitochondrial cytochrome oxidase, Phylogeny, Bivalvia.

서 론

이매패 강 조개류 중 백합 목은 19 상과 52 과로 구성되어

있으며 (Vaught, 1989) 약 500 종의 현생종이 있는 것으로 알려진 거대한 분류군이다. 이중 백합 상과 (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 과 (family Veneridae) 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 다양화 하는 경향이 있다 (Harte, 1992).

백합 과의 분류를 위하여 전기영동 (Borsa *et al.*, 1992), 핵형분석 (Insua and Thiriou-Quévieux, 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

Received October 15, 2004; Accepted December 8, 2004

Corresponding author: Kim, Jae Jin

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

1225-3480/20211

© The Malacological Society of Korea

mitochondria 16S rRNA (Canapa *et al.*, 2000; Lee and O' Foighil, 2003) 유전자나 cytochrome oxidase 염기서열을 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 고생물학적 자료와 비교한 결과를 보고한 바 있다.

Mitochondria DNA는 핵 유전자에 비해 환경변화에 따라 빠른 속도로 변화하기 때문에 염기서열의 차이가 다양하게 나타나며 (Park, 2000) 모계유전을 하므로 유전자 재조합이 일어나지 않아 종내 (intraspecific), 종간 (interspecific) 의 일련의 점진적인 변화를 관찰할 수 있어 (Zhu *et al.*, 1994) 하위 분류군의 계통 유연관계를 밝히는데 이용되고 있다.

우리나라에서는 연체동물을 대상으로 한 연구는 극히 미미한 실정인데 복족류 3 종 (Yoon *et al.*, 1996) 과 가리비 (Kim *et al.*, 2001) 의 18S ribosomal RNA의 염기서열 분화를 통해 계통분류학적 관계를 밝힌 연구와, 이매패류인 가리비 (*Pectinopectin* sp.) 2 종과 눈우렁이 2 종을 대상으로 28S rRNA의 염기서열을 밝혀 종간 및 종 내에서 차이를 밝힌 연구 (Park, 1997; Park *et al.*, 1997) 및 제한효소를 이용하여 *Crassostrea gigas*의 mitochondrial DNA를 분석한 연구 (Kim *et al.*, 1997) 등이 있다.

본 연구는 백합 과에 속하는 9 종의 mitochondrial cytochrome oxidase subunit I의 일부 염기서열을 조사하고 기존에 GenBank에 보고된 자료를 이용하여 종 간 및 종 내의 유전적 변이를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 패류의 채집 및 보관

백합 과 패류들을 서해안 및 남해안에서 채집하여, 개체들이 살아있는 상태로 실험실로 옮긴 후 바로 DNA를 추출 하든가 또는 DNA의 추출 시까지 -70℃의 초저온 냉동고에 보관하였다. 본 실험에 사용된 종은 *Saxidomus purpuratus* (개조개), *Meretrix lusoria* (백합), *Meretrix petechialis* (말백합), *Pitar sulfureum* (쇠백합), *Ruditapes philippinarum* (바지락), *Ruditapes variegata* (에기바지락), *Gomphina aequilatera* (대복), *Cyclina sinensis* (가무락), *Dosinella corrugata* (주름떡조개) 등 9 종과 outgroup으로 *Corbicula fluminea* (재첩) 를 이용하였다. 이밖에도 mCOI 유전자 서열이 GenBank에 보고된 *Meretrix lamarki*, *Ruditapes philippinarum*, *Mercenaria mercenaria* 등 3 종에 대한 염기서열을 얻어서 비교에 사용하였다 (Table 1).

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

Species		GenBank accession numbers
Bivalvia: Heteroconchia: Veneroidea		
Veneroidea		
Veneridae		
Pitarinae	<i>Saxidomus purpuratus</i>	AY874535*
	<i>Pitar sulfureum</i>	AY874533*
Meretricinae	<i>Meretrix lusoria</i>	AY874532*
	<i>Meretrix lamarki</i>	AB059420
	<i>Meretrix petechialis</i>	AY874530*
Samarangiinae	<i>Ruditapes philippinarum</i>	AY874527*
	<i>Ruditapes philippinarum</i> G§	AB059402
	<i>Gomphina aequilatera</i>	AY874529*
	<i>Ruditapes variegata</i>	AY874536*
Cyclininae	<i>Cyclina sinensis</i>	AY874526*
Dorsiniinae	<i>Dosinella corrugata</i>	AY874528*
Chioninae	<i>Mercenaria mercenaria</i>	AF008299
Corbiculoidea		
Corbiculidae	<i>Corbicula fluminea</i>	AY874525*

* Sequences determined in the present study.

§ 'G' character was added to species name in Tables and Figures to identify the sample of the present study.

Table 2. Average base frequencies for each original molecular data set.

Species	A	C	G	T	# sites
<i>Corbicula fluminea</i>	0.22759	0.13966	0.20517	0.42759	580
<i>Cyclina sinensis</i>	0.22127	0.13036	0.19726	0.45111	583
<i>Dosinella corrugata</i>	0.22610	0.13971	0.22610	0.40809	544
<i>Gomphina aequilatera</i>	0.24354	0.14207	0.23063	0.38376	542
<i>Meretrix lamarki</i>	0.19464	0.14245	0.21721	0.44570	709
<i>Meretrix lusoria</i>	0.22241	0.13621	0.19483	0.44655	580
<i>Mercenaria mercenaria</i>	0.19961	0.14481	0.24266	0.41292	511
<i>Meretrix petechialis</i>	0.22298	0.13722	0.19383	0.44597	583
<i>Pitar sulfureum</i>	0.23303	0.14495	0.21284	0.40917	545
<i>Saxidomus purpuratus</i>	0.22298	0.14751	0.22470	0.40480	583
<i>Ruditapes philippinarum</i>	0.23248	0.12650	0.22564	0.41538	585
<i>Ruditapes philippinarum</i> G	0.24542	0.13399	0.21016	0.41044	709
<i>Ruditapes variegata</i>	0.23214	0.13036	0.22679	0.41071	560
Mean	0.22485	0.13804	0.21552	0.42159	585.69

Chi-square = 23.378220 (df = 36), p = 0.94818825

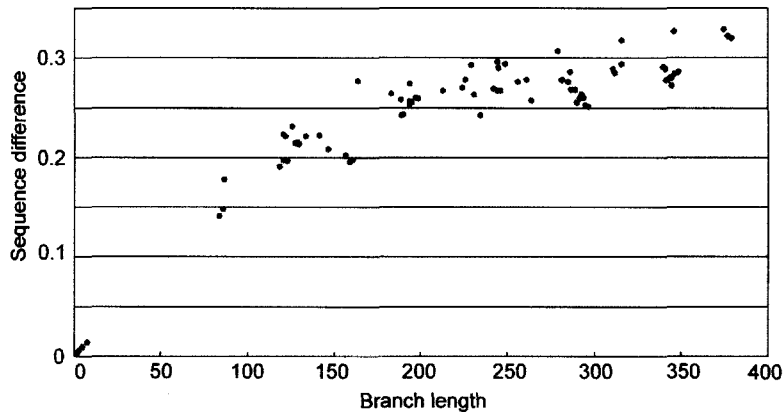


Fig. 1. Saturation test for original data set using maximum-parsimony hypothesis suggested by COI data set. The pairwise sequence differences (x axis) were plotted against the respective maximum parsimony branch lengths calculated (y axis).

2. DNA 추출

DNeasy Tissue Kit (Quiagen Co.) 를 이용하여, 회사에서 제공하는 protocol에 따라 채집된 패류들의 DNA를 추출하였다. 즉, 냉동 보관된 패류의 폐각근을 절취하여, 액체질소가 담긴 막자사발에 넣고 마쇄한 후, 여기에 extraction buffer를 첨가하여 suspension시켰다. Proteinase K (20 mg/ml) 를 50 μ l를 첨가하여 잘 혼합하였다. 50°C에서 2-4 시간 처리한 후 PCI 용액을 첨가, 혼합하여 상온에서 5분간

방치한 후 4,000 rpm에서 15 분 동안 원심분리하였다. 상등액을 wide-bore pipette으로 새로운 tube에 옮겨 ammonium acetate를 첨가한 후 ethyl alcohol을 첨가하였다. 잘 섞은 후 7,000 rpm에서 5 분간 원심분리 한 후 absolute ethanol을 첨가하여 DNA를 침전시키고 다시 원심분리 한 후 증발시켰다. 이 DNA pellet에 ddH₂O 또는 1 X TE buffer (pH 7.6-8.0) 용해시킨 후 DNA의 absorbance량을 측정 (A_{260}/A_{280}) 하여 DNA량을 계산한 다음 PCR 시

Table 3. Base difference and number of transition and transversion between closely related species.

Taxon 1	Taxon 2	Total base	Different base	Transition	Transversion
<i>Ruditapes philippinarum</i>	<i>Ruditapes philippinarum</i> G	585	8	6	2
<i>Ruditapes philippinarum</i>	<i>Ruditapes variegata</i>	559	3	3	0
<i>Ruditapes philippinarum</i> G	<i>Ruditapes variegata</i>	560	5	3	2
<i>Meretrix lusoria</i>	<i>M. petechialis</i>	580	2	1	1

의 농도를 맞추었다. 추출된 DNA는 tube에 분할한 후 -20°C에 보관하였고 필요시마다 꺼내어 사용하였다.

3. Oligo 선정, 합성 및 sequencing

Oligonucleotide primer는 017 (5'-GGTCAACAAA TCATAAAGATATTGG-3'), 018 (5'-TAAACTTCAGGGT GACCAAAAATCA-3')을 사용하였다. PCR 반응에 Gene Cyclor (Bio-Rad)를 사용하였으며, PCR premix kit (Super-Bio Co.)의 protocol에 따라 반응을 실시하였다. 요약하면, PCR tube에 추출한 template DNA와 primer를 넣은 다음, 최종 volume이 50 μ l가 되게 ddH₂O를 넣고 PCR을 수행하였다. DNA는 94°C에서 1분간 denature, 48°C에서 40초 동안 annealing, 72°C에서 1분 30초 동안 extension을 30회 반복해서 증폭시켰다. PCR product purification kit (Roche Co.)를 이용하여 이 PCR 반응물을 elution한 후, 1% agarose gel에 elution된 샘플을 loading하고, 전기영동 하여 그 예상 크기의 band를 확인하였다.

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

4. mCOI sequence 분석

본 연구에서 얻은 10종의 염기서열과 GenBank에서 얻은 3종의 염기서열을 CLUSTAL X 프로그램 (Thompson *et al.*, 1994)을 이용하여 정렬한 다음 PAUP 4.0 프로그램을 이용하여 maximum parsimony, neighbor-joining 방법으로 cladogram을 구하였고 bootstrap은 500회를 실시하였다. 기타 모든 설정 값은 각 프로그램의 기본값을 사용하였다.

결 과

조사된 13종에 대한 염기의 구성 비는 Table 2에서 보는 바와 같이 purine 계열이 약 44.1%를 차지하였고 (adenine = 22.5%, guanine = 21.6%) pyrimidine 염기가 약 56% (cytosine = 13.8%, thymine = 42.2%)를 이루고 있었

나 각 종간의 염기서열에 대한 유의한 차이는 보이지 않았다.

본 연구에 사용된 패류의 정렬된 염기서열은 712개로 373개 (52.4%)는 일정하였고 242개 (34.0%)가 parsimony-informative한 것으로 나타났다.

Saturation test 결과 Fig. 1에서와 같이 분지 길이 200-400 사이에 mtCOI 염기는 15-35%의 차이를 보여주고 있었다.

Samarangiinae에 속한 3종은 단일계통을 보였는데 본 실험에서 얻은 *Ruditapes philippinarum*과 *R. variegata* 및 GenBank에 보고된 *R. philippinarum*의 염기서열을 서로 비교해 본 결과 3-8개의 염기가 다른 것으로 나타났다 (Table 3, Fig. 2). 본 실험에서 얻은 *R. philippinarum* (AY874527)과 *R. philippinarum* (AB059402) 사이에는 585개의 염기 중 8개의 차이가 있었으며, transition 6곳, transversion이 2곳에서 일어난 것으로 나타났다. 그러나 *R. philippinarum* (AY874527)과 *R. variegata* (AY874536)는 3개의 염기만이 달랐는데 모두 transition된 것이었다. *R. philippinarum* (AB059402)과 *R. variegata* (AY874536)를 비교해볼 때 각각 transition이 3곳에서, transversion은 2곳에서 나타났다. *Meretrix lusoria*와 *M. petechialis*의 경우, 비교한 580개의 염기 중 단지 2개 (transition과 transversion 각각 1개씩)만이 다르게 나타났다.

Maximum parsimony 분석 결과 (Fig. 3), 전체 tree length는 791이었고, consistency index (CI) = 0.6410, homoplasy index (HI) = 0.3590, retention index (RI) = 0.6233, rescaled consistency (RC) = 0.3995로 나타났다. Samarangiinae, Dorsiniinae 및 Chioninae가 하나의 그룹을 이루고 있었고, Meretricinae와 Cyclinae가 하나의 분지를 이루고 있었다. 그러나 Pitarinae에 속하는 *Pitar sulfureum*과 *Saxidomus purpuratus*는 다분지 양상을 보였다. 즉 *Pitar sulfureum*은 Samarangiinae 그룹에, *Saxidomus purpuratus*는 Meretricinae 그룹에 가까운 것으로 나타났다.

이와 같은 결과는 transversion과 transition의 비율을 1:1, 1:2로 간주하고 neighbor-joining 방법으로 계통분지를 살펴

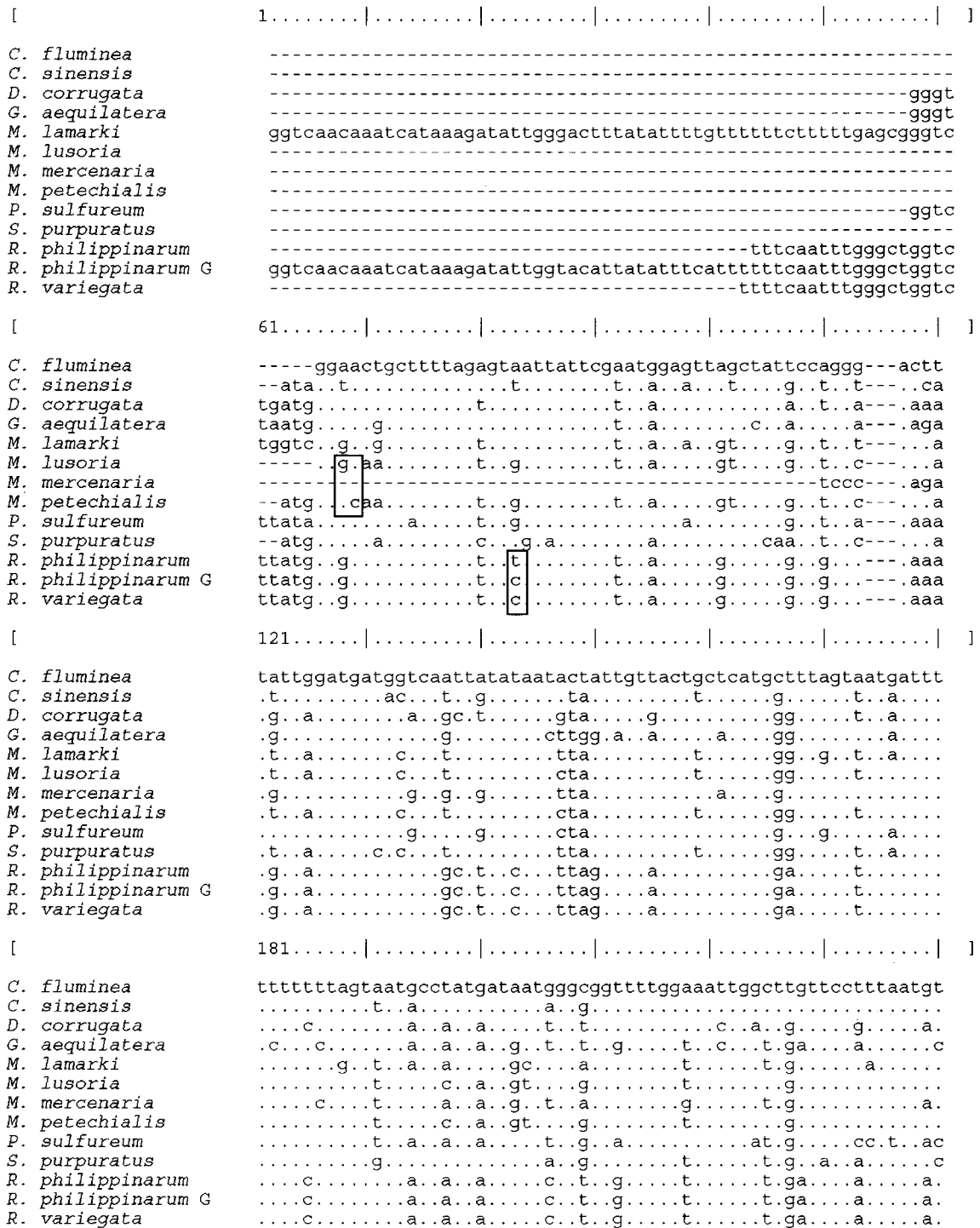


Fig. 2. Aligned data matrix of 712 bp of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequences for twelve venerid species and an outgroup species (*Corbicula fluminea*).

Molecular Phylogeny of Veneridae

[241.....]
<i>C. fluminea</i>	taagggtcctgatatggcttttctcgcattaataaatttaagggtttgacttttgctta
<i>C. sinensis</i>	...ca.....a.....gct.....c.t.....gt.g...gtag
<i>D. corrugata</i>	...ctatg.....a.....c...c...a...gt.a..a..gg
<i>G. aequilatera</i>	.t.a.at.....a.....c.....a.....gt.g..a..gg
<i>M. lamarki</i>	...cc.....a.....gg.g.....g...a..g
<i>M. lusoria</i>	...ca.....a.....t.g.....t.c...t.a..aa...
<i>M. mercenaria</i>	...ctatg.....g.....a.g.....g..t.c..gt.g..a..ag
<i>M. petechialis</i>	...ca.....a.....t.g.....t.c...t.a..aa...
<i>P. sulfureum</i>	.ggttata.....a.g.....ta.g.c.c...t...t.g..a..ag
<i>S. purpuratus</i>	.g.ct.....g.....c.c.....gt.a..agg.g
<i>R. philippinarum</i>	...aaata.....a.a.....a.....t...gt.acct...g
<i>R. philippinarum G</i>	...aaata.....a.a.....a.....t...gt.acct...g
<i>R. variegata</i>	...aaata.....a.a.....a.....t...gt.acct...g
[301.....]
<i>C. fluminea</i>	tggctatgcttttgggtgagatcagcttatggtgaaagtggagctgggactgggtgaa
<i>C. sinensis</i>	.tt..t.t.a..a..tt.ag.t..t.....c..tgca..g.....a.....g...
<i>D. corrugata</i>	.tt...at.gc.c...t.ag.t..t.c.....tg.a.....g.....g...
<i>G. aequilatera</i>	c.t.....a..at.ag...t.c...a..tg.g.g...a..g.c...
<i>M. lamarki</i>	.tt..t..t.gc.t..ta.g.t..t.....aa.ggc...t...t.g...g...
<i>M. lusoria</i>	.tt..t..t.gc.t..at.ag.t..ta.....g...gc...tt...t.g.....g...
<i>M. mercenaria</i>	.t.a.....at.ag.t..t.....a..tg.g.....a..a..g...
<i>M. petechialis</i>	.tt..t..t.gc.t..at.ag.t..ta.....g...gc...tt...t.g.....g...
<i>P. sulfureum</i>	.tt.a..at.gc.cc.at.ag.t..t.....a..tg.g.....a..a..g...
<i>S. purpuratus</i>	.tt.g.tt.a..c.ct.ag.g..t...c.g..tgc...t.g...c..a...
<i>R. philippinarum</i>	.at.a..at.a..a..at.ag.g..t..a...g..tg...g...t.....t.....
<i>R. philippinarum G</i>	.at.a..at.a..a..at.ag.g..t..a...g..tg...g...t.....t.....
<i>R. variegata</i>	.at.a..at.a..a..at.ag.g..t..a...g..tg...g...t.....t.....
[361.....]
<i>C. fluminea</i>	ctgtttatccccctctttctagcaaatattgctcattctggtccttcggttagatttgcta
<i>C. sinensis</i>	..a.....a..t.a...at.gg.c.tac...g...ggtag.t.....attta.
<i>D. corrugata</i>	..a.....a..at.a...atcgc..t...c..a...tg.g.ta.g...at.ta.
<i>G. aequilatera</i>	...a.c.a..t.g...tct.t.t.att...c.g.gtgcg.t.....at..a.
<i>M. lamarki</i>	..a.....t..t.a..a.at.ga.agca...ct...aat.a.t...c.attta.
<i>M. lusoria</i>	..a.....t..t.a...ttga.aata.....gtaagt.....attta.
<i>M. mercenaria</i>	..a.....t..g.g...ggc.c.t.....agc.aa.g...at.t..
<i>M. petechialis</i>	..a.....t..t.a...ttga.aata.....gtaagt.....attta.
<i>P. sulfureum</i>	..a.....a..at.a...tgc.c..t.c.....ag...a.....at.t..
<i>S. purpuratus</i>	..aa.....t..g.g..a..ttga.aaca...t...ggt...t.....attta.
<i>R. philippinarum</i>	.a.g.c.t..gt.g..gtca.t.gggtt...a...tg.g.t..g...at.ta.
<i>R. philippinarum G</i>	.a.g.c.t..gt.g..gtca.t.gggtt...a...tg.g.t..g...at.ta.
<i>R. variegata</i>	.a.g.c.t..gt.g..gtca.t.gggtt...a...tg.g.t..g...at.ta.
[421.....]
<i>C. fluminea</i>	tttttctcttcatttaggggtatttctctattttggcttcaattaattttgttgta
<i>C. sinensis</i>t.a...g.t..t..g.....a..t..ggg.....c.ac..
<i>D. corrugata</i>t.a..cg.t...ggc.....c.c.a...t.....ac..
<i>G. aequilatera</i>g.a..g...t.....c.....c.....aa...
<i>M. lamarki</i>a...t.a..cg.t..t..gc.....a..t..ggg.....ac..
<i>M. lusoria</i>a...a..g...t..gc.....a.at..ggg.....c..ac.ac..
<i>M. mercenaria</i>a.....g.g..t..gca.....g.....c...aga.
<i>M. petechialis</i>a...a..g...t..gc.....a.at..ggg.....c..ac.ac..
<i>P. sulfureum</i>t.a..cg.g..t..g.a.....c.t.g.....c...aaga.
<i>S. purpuratus</i>a...t.a.....gc.....a..t..ggg.....ag.acg.
<i>R. philippinarum</i>c...cg...t..g.c.....a.....t.....aa...
<i>R. philippinarum G</i>c...cg...t..g.c.....a.....t.....aa...
<i>R. variegata</i>c...cg...t..g.c.....a.....t.....aa...

Fig. 2. continued

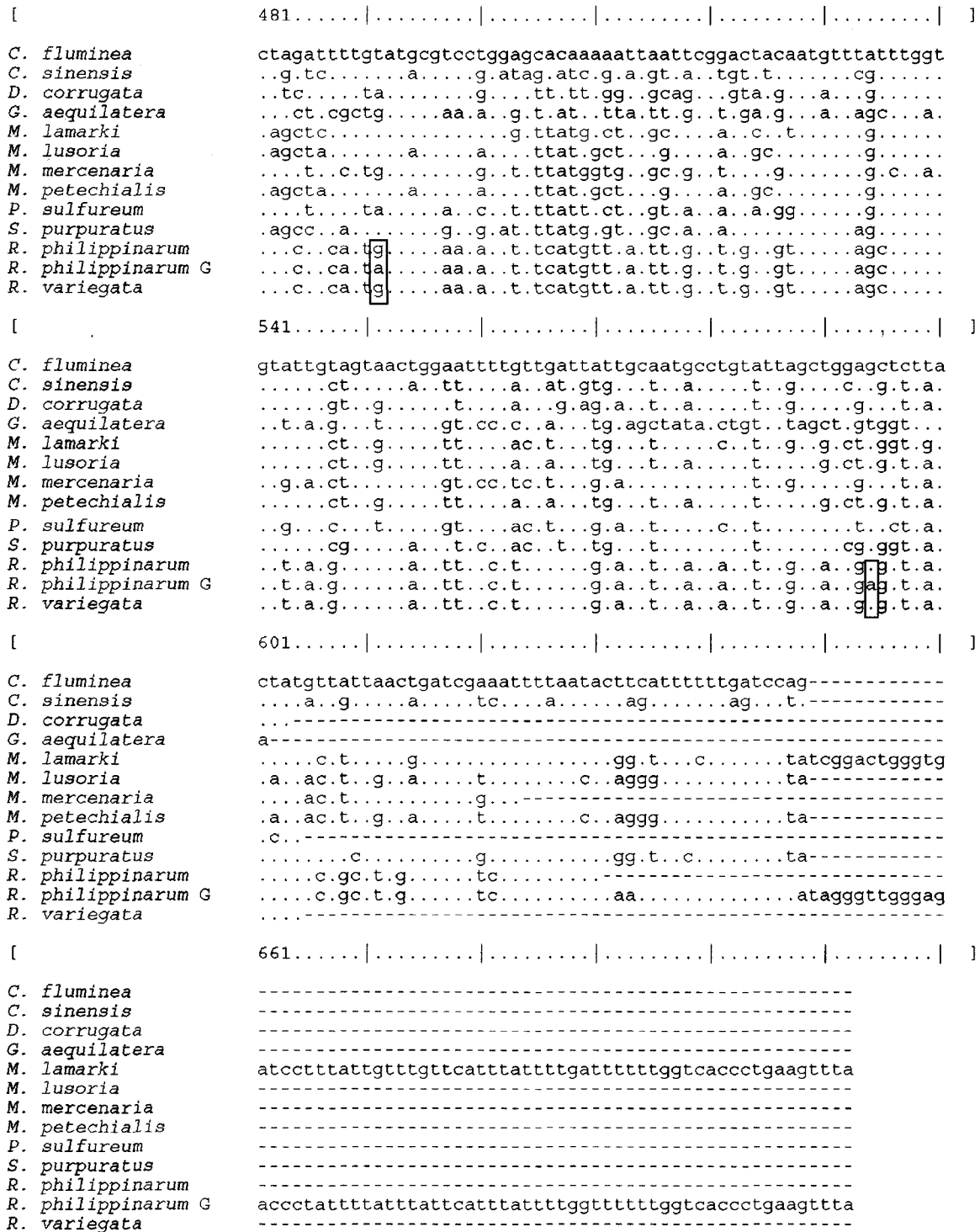


Fig. 2. continued

본 결과에서도 마찬가지로 양상을 보였다 (Fig. 4).

500 회 반복한 bootstrap 분석 결과, 백합 (*Meretrix lusoria*) 과 말백합 (*M. petechialis*) 은 동일한 분지가 나올 확률이 100%에 달하고 있었다. 또한 Cyclinae와 Meretricinae의 분지도 96%를 나타내 이 두 아과 사이의 분지는 신뢰성이 있었다. *R. philippinarum* (AB059402) 과 *R. variegata* (AY874536) 사이의 bootstrap 값은 74로 비교적 낮은 편이었으나 이 두 종과 *R. philippinarum* (AY874527) 사이의 bootstrap 값은 100을 나타내었다.

고 찰

Lydeard *et al.* (1997) 이 담수산 복족류인 다슬기과에서

16S rRNA A, T, C, G의 비율이 각각 36.0%, 32.9%, 13.8%, 17.3%로 나타났다고 보고한 결과와 비교해 볼 때, purine 대 pyrimidine 의 비율은 53.3:46.7로 본 결과와는 다르게 purine 염기가 많았는데 다슬기과에서는 adenine의 비율이 36%로 가장 높게 나타난 반면 백합 과에서는 thymine의 비율이 약 42.2%로 높게 나타나 차이를 보였다.

절약분석 (parsimony analysis) 은 최소한의 진화적인 변화만을 나타내기 때문에, molecular saturation이 없다면 얻어진 자료에 대한 실제 차이는 최소한 추측한 절약분석 단계보다는 많아야 한다.

Park *et al.* (2002) 은 *Ruditapes philippinarum* 을 부산, 부산 및 제주에서 각각 채집하여 지역 간의 차이를 관찰한

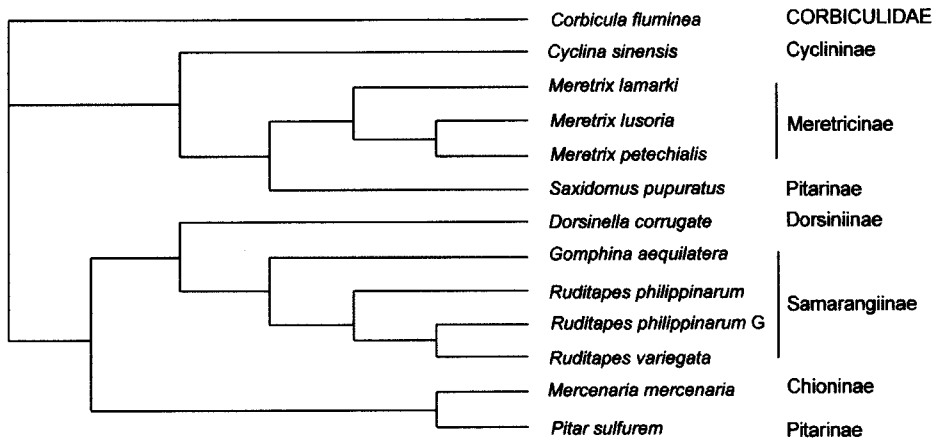


Fig. 3. The single most parsimony tree (L = 791, CI = 0.641, RI = 0.623) generated by maximum parsimony analysis in which all base substitutions were equally weighted.

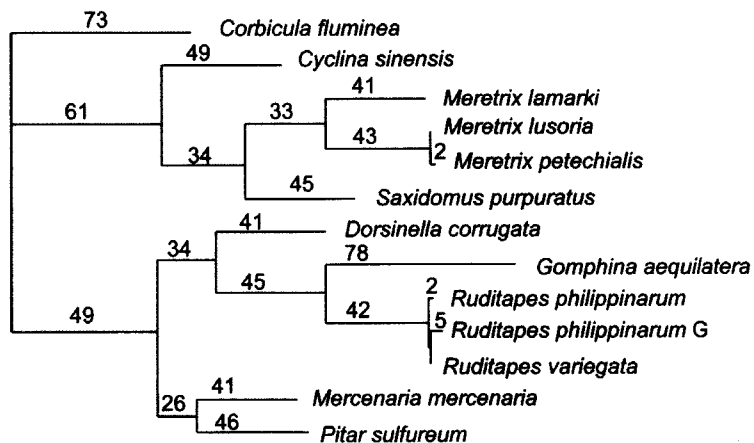


Fig. 4. Cladogram obtained from the neighbor-joining analysis of the COI sequence data set. Numbers are tree length.

결과 두 곳에서 transition 을 관찰한 바 있어, 본 실험에서 나타난 *R. philippinarum* 두 종과 *R. variegata* 사이의 mCOI 유전자 염기서열의 차이는 개체 간 차이의 범위를 크게 벗어나지 않은 것으로 생각된다. Min (2004) 은 아기바지락 (*R. variegata*, 학명은 *R. bruguieri*로 표기) 에 대한 형태학적 기술에서 바지락 (*R. philippinarum*) 과 비슷하지만 껍질이 얇고 크기가 작으며 방사륜이 거칠지 않은 차이를 들고 있다. 그러나 본 연구에서 나타난 바와 같이 mitochondria 유전자의 변이 양상이 크지 않아 한국산 *R. philippinarum*과 *R. variegata*를 별개의 종으로 볼 것인지에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Min (2004) 은 백합 (*Meretrix lusoria*) 은 말백합 (*M. petechialis*) 에 비해 각폭이 좁고 패각 뒤쪽 등선이 직선상이며 뒤쪽 등선과 배선의 경계부분이 뾰족한 것이 형태학적 구분점이라고 기술하고 있다.

16S rRNA를 이용한 연구 결과 (Canapa *et al.*, 1996)에서는, Samarangiinae는 다른 아과, Venerinae, Chioninae, Dorsiniinae 및 Pitarinae와는 다른 그룹을 이루고 있었지만 본 실험 결과에서는 Samarangiinae가 Chioninae와 일부 Pitarinae와 공동 조상을 갖는 것으로 나타났다.

이와 같은 차이는 mitochondria 유전자가 일부 이매패류에서 개체 단위 보다는 세포소기관의 계통진화를 반영하기 때문일 수도 있다. 즉, 담치류 (Mytilidae) 에서와 같이 mitochondria가 모계유전이 아닌 부모 양쪽으로부터 유전되고 있으며 한 계통의 소실 또는 재진화 (re-evolution) 되는 현상이 보고되고 있다 (Campbell, 2000). 또한 Passamonti *et al.* (2003) 도 *Ruditapes philippinarum*을 대상으로 mitochondrial DNA를 조사한 결과 이중 단부모유전 (doubly uniparental inheritance, DUI) 현상을 발견하고 성-연관 heteroplasmy가 조직특이적 (tissue-specific) 으로

분포한다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 패각근에서만 mtDNA를 추출하였고 또한 추출시 암수 구분을 하지 않아 이러한 연구의 결과와 비교하기 어려웠다.

Fig. 4에서와 같이 대부분의 phylogram은 강력한 지지를 받고 있지만 상위 진화에 대한 부분은 bootstrap 값이 74, 58로 비교적 낮아, 다른 16S, 18S, 28S rDNA에 비해 보존성이 비교적 낮은 것으로 알려진 mCOI 유전자만으로는 그들의 상호관계를 알아보기에는 미흡한 점이 많았다.

본 연구의 결과는 각 아과에 속한 종의 수가 1-2 개씩에 불과하여 단정적으로 각 아과간의 분자계통학적 연관 관계를 속단하기에는 이르지만 앞으로 백합 과 패류의 분류와 종간, 종내 변이를 연구하는데 기초자료를 제공하였다고 본다.

요 약

백합 과 (family Veneridae) 패류, *Saxidomus purpuratus* (개조개), *Meretrix lusoria* (백합), *Meretrix petechialis* (말백합), *Pitar sulfureum* (쇠백합), *Ruditapes philippinarum* (바지락), *Ruditapes variegata* (애기바지락), *Gomphina aequilatera* (대복), *Cyclina sinensis* (가무락), *Dorsinella corrugata* (주름떡조개) 등 9 종과 outgroup으로 *Corbicula fluminea* (재첩) 를 이용하여 primer로 017 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATA TTGG-3'), 018 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAA TCA-3') 를 사용하여 부분적인 mitochondrial cytochrome oxidase subunit I 유전자에 대한 염기서열을 얻었다. 이밖에 GenBank에 보고된 *Meretrix lamarki*, *Ruditapes philippinarum*, *Mercenaria mercenaria* 등 3 종에 대한 mCOI 염기서열을 얻어서 maximum parsimony와 neighbor-joining 방법으로 분석을 시행하였다.

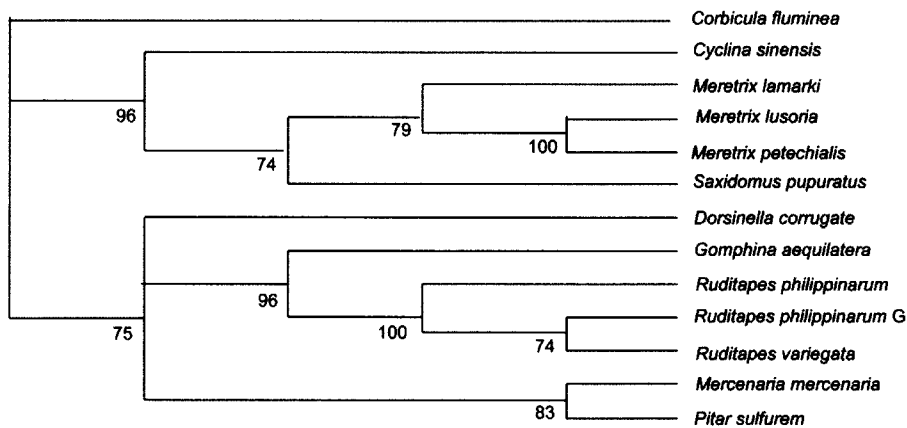


Fig. 5. Bootstrap values.

Samarangiinae에 속한 3 종의 패류 (*Ruditapes philippinarum*, *Ruditapes variegata*, *Gomphina aequilatera*)는 단계통을 보였다. *Meretrix lusoria*와 *M. petechialis*는 동일 조상을 갖고 있었으며 Pitarinae에 속한 *Saxidomus purpuratus*와 Cyclinae에 속한 *Cyclina sinensis*와 동일 조상을 갖는 종들로 나타났다.

Pitarinae의 *Pitar sulfureum*과 *Saxidomus purpuratus*는 각기 다른 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., Jousselin, 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.
- Borsa, P. and Thiriot-Quévieux, C. (1990) Karyological and allozymic characterization of *Ruditapes philippinarum*, *R. aureus* and *R. decussatus* (Bivalvia: Veneridae). *Aquaculture* 90: 209-227.
- 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.
- 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, Thiriot-Quévieux 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, M.-J., Jin, L.-G., Jin, H.-J., Cho, J.-Y., Park, J.-Y., Chang, Y.J. and Hong, Y.-K. (2001) Sequence analysis of the 18S rDNA from scallops collected around Korean Sea. *Journal of Korean Fisheries Society*, 34: 137-144.
- Kim, S.H., Park, M.S., Kim, Y.H. and Park, D.W. (1997) Genetic analysis of mitochondrial DNA from Korean oysters, *Crassostrea gigas*. *Journal of Korean Fisheries Society*, 30: 804-808.
- 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.
- Lydeard, C., Holznagel, W.E., Garner, J., Hartfield, P. and Pierson, J.M. (1997) A molecular phylogeny of mobile river drainage basin pleurocerid snails (Caenogastropoda: Cerithioidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7(1): 117-128.
- Min, D.-K. (2004) Mollusks in Korea (revised supplementary ed.). pp. 464-471. Hanguel Co., Busan. [in Korean]
- Park, G.M. (1997) Genetic characterization based on partial 28s rRNA gene sequence of Korean two scallops. *Korean Journal of Malacology*, 13: 1-7.
- Park, G.-M., Jung, Y., Kim, J.-J. and Chung, P.-R. (1997) Comparison of nucleotide sequences of 28s rDNA from two viviparid snail species in Korea: *Cipangopaludina chinensis malleata* and *C. japonica*. *Korean Journal of Malacology*, 13: 91-96.
- Park, G.-M., Chung, E.-Y. and Hur, S.B. (2002) Genetic characters of the Korean shortnecked clam *Ruditapes philippinarum* based on ITS2 and mtCOI gene sequences. *Korean Journal of Genetics*, 24: 51-58.
- Park, J.-K. and O' Foighil, D. (2000) Sphaeriid and corbiculid clams represent separate heterodont bivalve radiations into freshwater environments. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(1): 75-88.
- Park, J.Y., Lee, H.J., Kim, W.J., Lee, J.H. and Min, K.S. (2000) Mitochondrial cytochrome b sequence variation in Korean salmonids. *Journal of Fish Biology*, 56: 1145-1154.
- Passamonti, M., Boore, J.L. and Scali, V. (2003) Molecular evolution and recombination in gender-associated mitochondrial DNAs of the Manila clam *Tapes philippinarum*. *Genetics*, 164: 603-611.
- Steiner, G. and Müller, M. (1996) What can 18S rDNA do for bivalve phylogeny. *Journal of Molecular Evolution*, 43: 58-70.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., François Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. (1997) The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25: 4876-4882.
- 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.
- Yoon, S.H., Moon, S.Y., Choe, B.L. and Kim, W. (1996) Sequence divergence of 18s ribosomal DNA of gastropods (molluscs). *Korean Journal of Malacology*, 12: 85 - 90.
- Zhu, D., Jamieson, B.G.M., Hugall, A. and Moritz, C. (1994) Sequence evolution and phylogenetic signal in control region and cytochrome b sequences of rainbow fishes (Nelanotaeniidae). *Molecular Biology and Evolution*, 11: 672-683.