

양식전복 패각에서 분리한 다모류의 유전학적 분류

이덕찬, 김근용¹, 한지도, 김다운, 김병학

국립수산과학원 남해수산연구소 양식산업과, ¹(주)아쿠아진텍

Genetic classification of polychaetes isolated from cultured abalone, *Haliotis discus hannai* shells

Deok-Chan Lee, Keun-Yong Kim¹, Jido Han, Dawoon Kim and Byung-Hak Kim

Aquaculture management Division, South Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Yeosu 59780, Korea

¹AquaGenTech Co., Ltd, Busan, 48520, Korea

ABSTRACT

In this study, 30 polychaete samples were isolated from abalone shells, and genetic classification was performed using them. The DNA sequences corresponding to the polychaete 18S rDNA and 16S rDNA or mitochondrial cytochrome c oxidase I (CO1) regions were decoded, and the types were identified through BLAST search of NCBI. As a result of confirming the nucleotide sequence, genetic diversity was analyzed for 27 samples that were translated into 'Annelida', and 16 samples were identified as *Polydora hoplura*. In addition, Annelids such as *Amphisamytha vanuatuensis*, *Amythas membranifera*, *Cirriformia chicoi*, *Cirratulus cirratus*, *Hediste* spp., *Notophyllum japonicum*, *Phyllodoce rosea*, *Syllis armillaris*, and *Terebella lapidaria* have been identified. In the future, it is expected that various studies on several types of Annelids identified in abalone farms as well as continuous research on *P. hoplura* are needed.

Key words : polychaete, *Plydora hoplura*, genetic classification, Annelida

서론

우리나라 2019년 전복 생산량은 18,167 톤으로 2000년에 비해 200배 이상 증가하였으며, 이는 세계 2위 해당한다 (Cook, 2016; KMI 수산관측센터). 전라남도의 전복 생산량은 국내 총생산량의 대부분을 차지하며, 이중 완도해역이 차지하는 비중이 전국 대비 약 68%에 해당한다 (KMI 수산관측센터). 완도해역은 황해저층냉수괴 (Yellow Sea Bottom Cold Water) 에 의해 타 해역에 비해 상대적으로 저수온이 형성되므로 전복 사육과 먹이가 되는 미역과 다시마의 생산에 유리한 조건이 형성된다 (Yang *et al.*, 2014). 하지만 좋은 사육 조건

에도 불구하고 가두리양식장에서 양식하는 전복의 폐사 비율이 증가하고 있는 추세이며, 이러한 현상은 완도뿐만 아니라 고흥, 신안, 진도 등에도 나타나고 있다. 주요 원인으로 수온 상승, 밀식에 의한 조류 변화, 태풍, 적조, 용존산소 변화, 가두리 내 퇴적물 축적과 산란 등 환경과 전복 자체의 문제에 기인한 것으로 추정된다 (Won *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2017; NIFS, 2016 & 2017).

최근 들어 양식 현장에서 종사하는 일부 어업인들은 폐각 천공성 다모류에 의한 1차 피해가 원인이 되어 양식전복이 폐사에 이르게 된다고 주장하고 있으며, 국내외의 다양한 보고에서도 폐각 천공성 다모류가 패류의 성장 저해와 폐사에 영향을 미칠 수 있음을 언급하고 있다 (Kojima & Imajima, 1982; Lauckner, 1983; Nel *et al.*, 1996; Handley & Bergquist, 1997; Caceres-Martinez *et al.*, 1998; Giribet & Wheeler, 2002; Chambon *et al.*, 2007; Won *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2019).

국내 전복 양식장에서 분리되는 폐각 천공성 다모류는 긴일굴갯지렁이속 (genus *Polydora*) 에 속하는 환형동물로 *P. aura*, *P. haswelli*, *P. uncinata* 등이 보고되었다 (Sato-Okoshi *et al.*, 2012; Won *et al.*, 2013). 그러나 국

Received: December 11, 2020; Revised: December 22, 2020;
Accepted: December 30, 2020

Corresponding author: Byung-Hak Kim

Tel: +82 (62) 690-8980, e-mail: bhkim@korea.kr
1225-3480/24772

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. Information of samples

No.	Sample Code	Sampling Date	Sampling Site	Remarks
1	I-01	2018. 11	Wando	-
2	I-02	2019. 06	Wando	Shell surface
3	I-03	2019. 06	Wando	Shell surface
4	I-04	2019. 06	Wando	Perforated inside
5	I-05	2019. 06	Wando	Perforated inside
6	I-06	2019. 06	Wando	Perforated inside
7	I-07	2019. 06	Wando	Perforated inside
8	I-08	2019. 06	Wando	Shell surface
9	I-09	2019. 06	Wando	Shell surface
10	I-10	2019.	Wando	Perforated inside
11	I-11	2019.	Wando	Perforated inside
12	I-12	2019.	Wando	Perforated inside
13	I-13	2019.	Wando	Perforated inside
14	I-14	2019.	Wando	Perforated inside
15	I-15	2019.	Wando	Perforated inside
16	I-16	2019.	Wando	Perforated inside
17	I-17	2019.	Wando	Perforated inside
18	I-18	2019.	Wando	Perforated inside
19	I-19	2019.	Wando	Perforated inside
20	I-20	2019.	Wando	Perforated inside
21	I-21	2019.	Wando	Perforated inside
22	I-22	2019.	Wando	Perforated inside
23	I-23	2019.	Wando	Perforated inside
24	I-24	2019.	Wando	Perforated inside
25	II-01	2018. 11	Jindo	-
26	V-01	2020. 01 .23	Yeosu	Shell surface
27	V-02	2020. 01 .31	Yeosu	Shell surface
28	V-03	2020. 01. 31	Yeosu	Shell surface
29	V-04	2020. 02. 03	Yeosu	Perforated inside
30	V-05	2020. 02. 03	Yeosu	Perforated inside

내 전복 양식 현장에서 분리된 패각 천공성 다모류 의심 환형동물에 대한 정확한 유전학적 분석과 분포에 대한 연구가 수행된 경우는 더물다. 그러므로 본 연구에서는 2018년 11월부터 2020년 3월까지 지속적인 현장 조사 중에 분리된 패각 천공성 다모류 의심 환형동물의 핵 18S rRNA 유전자와 16S rRNA 유전자 또는 미토콘드리아 cytochrome c oxidase I 유전자 (CO1) 의 DNA 염기서열 정보의 해독을 통해 계통분류학적 위치를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료

2018년 11월부터 2020년 3월까지 전남 완도군, 진도군 및 여수시에서 위치한 가두리양식장 및 육상수조양식장에서 사육

중인 전복 패각에서 분리한 30개체의 다모류 (환형동물) 를 시료로 사용하였다 (Table 1).

2. 계놈 DNA 추출

조직시료를 적절한 크기로 절단하고 에탄올을 완전히 제거한 후 1.5 ml 튜브에 옮긴 후 DNA 추출용액 (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA pH 8.0, 1% SDS, 8 M Urea; Asahida *et al.* 1996) 600 µl와 Proteinase K 용액 (20 mg/ml) 10 µl을 넣고 60°C에서 12 시간 동안 반응시켰다. PCI 용액 600 µl을 첨가하여 10분 동안 강하게 교반하고 13,000 rpm에서 5분 동안 원심하였다. 상층액 400 µl을 새로운 튜브에 옮기고 0.1배의 아세트산나트륨과 2배의 100% 에탄올을 첨가하고 실온에 10분 동안 놓아둔 후 13,000 rpm에서 5분 동안 원심하였다. 상층액 제거 후

Table 2. Preparation of PCR reaction solution

Reagent	Amount	Cocktail (×30)
Genomic DNA (20 ng/μl)	1 μl	30 μl
Forward primer (5 pmol)	1 μl	30 μl
Reverse primer (5 pmol)	1 μl	30 μl
PCR-grade water	17 μl	510 μl
Total	20 μl	600 μl

Table 3. PCR amplification conditions

Step	Temperature	Time	No. cycles
Initial denaturation	95°C	5 min	1
Denaturation	95°C	20 s	35
Annealing	55°C	20 s	
Elongation	72°C	2 min	
Final elongation	72°C	5 min	1
Storage	8°C	∞	1

70% 에탄올 800 μl를 첨가하여 13,000 rpm에서 1분 동안 원심하고 상층액을 제거하였다. 에탄올을 완전히 제거한 후 TE 완충액 [10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA (pH 8.0)] 50 μl를 첨가하고 실온에서 10분 동안 게놈 DNA를 완전히 녹였다.

분광광도계를 이용하여 추출된 게놈 DNA의 흡광도 ($A_{260/280}$)를 측정하여 그 농도와 순도를 확인하였으며, TE 용액을 이용하여 게놈 DNA의 농도가 20 ng/μl 되도록 조정하였으며, 사용 전까지 -20°C에서 보관하였다.

3. DNA 염기서열 해독과 분석

1) PCR 증폭과 정제

시료의 PCR 증폭반응을 위해 *AccuPower* PCR PreMix (Bioneer, 대한민국)로 PCR 반응액을 조제하였다. 18S rDNA 영역은 PCR 프라이머 조합, Euk-328f와 Euk-329r (Moon-van der Staay *et al.*, 2001)를 사용하였고, 미토콘드리아 CO1 영역은 LCO-1490와 HCO-2198 (Folmer *et al.* 1994)를 변형하여 사용하였으며, 미토콘드리아 16S rDNA 영역은 자체적으로 새롭게 설계하였다.

ProFlex PCR System (Life Technologies, USA)으로 Table 3과 같은 조건으로 Hot-start PCR 증폭을 수행하였다. 생성된 PCR 증폭산물은 *AccuPrep*® PCR Purification Kit (Bioneer, 대한민국)의 사용자 매뉴얼에 따라 정제하였다.

2) DNA 염기서열 해독과 편집

BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, 미국)와 DNA Analyzer 3730xl (Thermo Fisher Scientific, 미국)의 사용자 매뉴얼에 따라 정제된 PCR 증폭산물의 DNA 염기서열을 해독하였다. 해독된 DNA 염기서열은 Hall (1999)의 방법에 따라 BioEdit 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>; Biological Sequence Alignment Editor)를 이용하여 오류를 수정하고 불필요한 부분을 적절히 잘라낸 후 콘티그 (contig)를 만들었다.

3) 분자계통수 작성

National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 BLAST 검색 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)을 통해 편집된 DNA 염기서열을 GenBank 데이터베이스의 근연종들과 비교하였으며, BioEdit 7.2.5의 Clustal W를 이용하여 이들을 정렬하였다. MEGA 7 (<http://www.megasoftware.net/>; Kumar *et al.* 2006)를 이용하여 해독된 미동정 식물 종들과 그 근연종들의 DNA 염기서열정보를 대상으로 근린접합 (Neighbor-Joining, NJ) 분자계통수를 작성하였다. 이때 적용된 분석모델은 Kimura 2-parameter이었으며, Bootstrapping은 총 1,000회를 수행하여 각 분지의 지지도를 구하였다.

Table 4. Concentration and purify of genomic DNA extracted from the samples

No.	Sample Code	Concentration (ng/μl)	A260/280
1	I-01	448.9	1.81
2	I-02	789.3	2.05
3	I-03	611.5	2.07
4	I-04	313.1	1.84
5	I-05	478.9	2.00
6	I-06	256.4	1.82
7	I-07	161.7	2.01
8	I-08	101.1	2.07
9	I-09	443.9	1.93
10	I-10	321.1	1.91
11	I-11	429.5	1.89
12	I-12	121.0	2.16
13	I-13	418.3	1.95
14	I-14	359.8	1.98
15	I-15	156.9	1.95
16	I-16	184.8	2.05
17	I-17	449.6	1.88
18	I-18	58.2	1.97
19	I-19	24.4	1.92
20	I-20	493.8	1.88
21	I-21	258.8	1.91
22	I-22	290.0	1.99
23	I-23	351.0	1.82
24	I-24	132.5	2.23
25	II-01	292.0	2.05
26	V-01	373.4	1.86
27	V-02	249.7	2.03
28	V-03	214.2	1.87
29	V-04	710.5	1.84
30	V-05	536.6	1.95

결 과

I-19 및 V-02에 대한 추가적인 실험은 수행하지 않았다.

1. 게놈 DNA 추출

추출된 게놈 DNA의 농도는 각각 24.4-789.3 ng/μl의 다양한 범위를 보였으며, 흡광도값 (A_{260/280}) 은 1.81-2.07의 범위를 보였다 (Table 4).

2. PCR 증폭반응

핵 18S rDNA 영역의 PCR 증폭반응을 수행하였을 때 모든 시료들에서 약 1,800 bp의 PCR 증폭산물들이 확인되었으며, 미토콘드리아 CO1 또는 16S rDNA 영역의 PCR 증폭반응 (다모류 CO1: 약 650 bp, 다모류 16S rDNA: 약 400 bp, 복족류 CO1: 약 1,200 bp) 에서도 증폭산물이 확인되었다 (결과 제시하지 않음). 복족류로 추정되는 시료 (I-03, I-18) 와

3. DNA 염기서열 해독

26개 시료의 핵 18S rDNA 영역 PCR 증폭산물을 대상으로 DNA 염기서열을 해독한 결과는 Table 5와 같다. 이 중 16개 시료 (I-04, I-05, I-06, I-07, I-10, I-11, I-13, I-16, I-17, I-20, I-21, I-22, I-23, I-24, V-04, V-05) 의 DNA 염기서열은 100%의 유전적 유사도를 보여 모두 동일종으로 확인되었다. NCBI의 BLAST 검색 결과 이들은 환형동물 (Annelida; Polychaeta; Scolecida; Spionida; Spionidae; Polydora) 로 일본에서 보고된 *P. hoplura* (AB705408), 남아프리카에서 보고된 *P. hoplura* 4SB (KY677901) 와 100%의 유사도를 보였다. 이외에 3개 시료 (I-12, I-14, I-15) 는 스웨덴에서 보고된 *Phyllodoce rosea* SMNH 124079

Table 5. DNA sequence decoding result of nuclear 18S rDNA

No.	Sample Code	BLAST Search	Similarity	Taxonomy	Remark
1	I-01	<i>Terebella lapidaria</i> (JX423653)	97.97%	Annelida	
2	I-02	<i>Cirratulus cirratus</i> (DQ779645)	97.66%	Annelida	
3	I-03	<i>Haliotis</i> sp.	-	Mollusca	
4	I-04	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
5	I-05	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
6	I-06	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
7	I-07	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
8	I-08	<i>Syllis armillaris</i> (AF474292)	98.90%	Annelida	
9	I-09	<i>Cirratulus cirratus</i> (DQ779645)	97.66%	Annelida	
10	I-10	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
11	I-11	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
12	I-12	<i>Phyllodoce rosea</i> (MG254408)	98.36%	Annelida	
13	I-13	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
14	I-14	<i>Phyllodoce rosea</i> (MG254408)	98.36%	Annelida	
15	I-15	<i>Phyllodoce rosea</i> (MG254408)	98.36%	Annelida	
16	I-16	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
17	I-17	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
18	I-18	<i>Haliotis</i> sp.	-	Mollusca	
19	I-19	-	-	-	Failed
20	I-20	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
21	I-21	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
22	I-22	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
23	I-23	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
24	I-24	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
25	II-01	<i>Hediste atoka</i> (LC323072)	98.99%	Annelida	Partial
26	V-01	<i>Amythas membranifera</i> (MG253161)	82.07%	Annelida	
27	V-02	-	-	-	Failed
28	V-03	<i>Amythas membranifera</i> (MG253161)	82.07%	Annelida	
29	V-04	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	
30	V-05	<i>Polydora hoplura</i> (AB705408)	100%	Annelida	

(MG254408) 와 98.36%의 유사도를 보였다. I-02와 I-09 시료는 미국에서 보고되었던 *Cirratulus cirratus* (DQ779645) 와 97.66%의 유사도를 보였다. V-01과 V-03 시료는 노르웨이에서 보고된 *Amythas membranifera* T7 (MG253161) 와 82.07%의 유사도를 보였으며, I-01 시료는 미국에서 보고된 *Terebella lapidaria* SIO:BIC:A1102 (JX423653) 와 97.97%의 유사도를, I-08 시료는 스웨덴에서 보고된 *Syllis armillaris* (AF474292) 와 98.90%의 유사도를, II-01 시료

는 일본에서 보고된 *Hediste atoka* K18-02 (LC323073) 와 98.99%의 유사도를 보였다.

26개 시료의 미토콘드리아 CO1 영역 또는 16S rDNA 영역의 PCR 증폭산물을 대상으로 DNA 염기서열을 해독한 결과는 Table 6과 같다. 이 중 16개 시료 (I-04, I-05, I-06, I-07, I-10, I-11, I-13, I-16, I-17, I-20, I-21, I-22, I-23, I-24, V-04, V-05)의 DNA 염기서열은 99.7-100%의 유전적 유사도를 보여 모두 동일종으로 확인되었으며, 일본에서 보

Table 6. DNA sequence decoding result of mitochondrial cytochrome c oxidase 1 (CO1) or 16S rDNA

No.	Sample Code	BLAST Search	Similarity	Taxonomy	Remark
1	I-01	<i>Amphisamytha vanuatuensis</i>	91.41%	Annelida	16S rDNA
2	I-02	<i>Cirriiformia chicoi</i>	79.56%	Annelida	CO1
3	I-03	<i>Haliotis discus hannai</i>	99.12%	Mollusca	CO1
4	I-04	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
5	I-05	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
6	I-06	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
7	I-07	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
8	I-08	<i>Syllis armillaris</i>	98.90%	Annelida	CO1
9	I-09	<i>Cirriiformia chicoi</i>	79.56%	Annelida	CO1
10	I-10	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
11	I-11	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
12	I-12	<i>Notophyllum japonicum</i>	85.09%	Annelida	CO1
13	I-13	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
14	I-14	<i>Notophyllum japonicum</i>	85.09%	Annelida	CO1
15	I-15	<i>Notophyllum japonicum</i>	85.09%	Annelida	CO1
16	I-16	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
17	I-17	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
18	I-18	<i>Haliotis discus hannai</i>	99.12%	Mollusca	CO1
19	I-19	-	-	-	Failed
20	I-20	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
21	I-21	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
22	I-22	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
23	I-23	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
24	I-24	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
25	II-01	<i>Hediste diversicolor</i>	88.09%	Annelida	16S rDNA
26	V-01	<i>Nicolea</i> sp.	88.35%	Annelida	CO1
27	V-02	<i>Nicolea</i> sp.	88.35%	Annelida	CO1
28	V-03	<i>Nicolea</i> sp.	88.35%	Annelida	CO1
29	V-04	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA
30	V-05	<i>Polydora hoplura</i>	100%	Annelida	16S rDNA

고되었던 *Polydora hoplura* NGS01 (LC101867) 또는 *Polydora hoplura* KIB01 (LC101870) 와 100%의 유사도를 보였다. 이외에 3개 시료 (I-12, I-14, I-15) 는 스웨덴에서 보고되었던 *Notophyllum japonicum* SMNH 124067 (MG254505) 와 85.09%의 유사도를 보였다. I-02와 I-09 시료는 브라질에서 보고된 *Cirriiformia chicoi* Rio_de_Janeiro_02 (KM192165) 와 79.56%의 유사도를 보였다. V-01, V-02 및 V-03 시료는 파나마에서 보고된

Nicolea sp. A ML-2018 (MH242865) 와 88.35%의 유사도를 보였으며, I-01 시료는 미국에서 보고되었던 *Amphisamytha vanuatuensis* WP_140_S1 (JX423673) 와 91.41%의 유사도를 보였으나, Query Coverage가 50% 이하로 아주 낮아 정확한 분자계통학적 분석이 불가능하였다. I-08 시료는 스웨덴에서 보고된 *Syllis armillaris* (AF474292) 와 98.90%의 유사도를, II-01 시료는 일본에서 보고된 *Hediste diversicolor* K16-41 (LC323096) 와

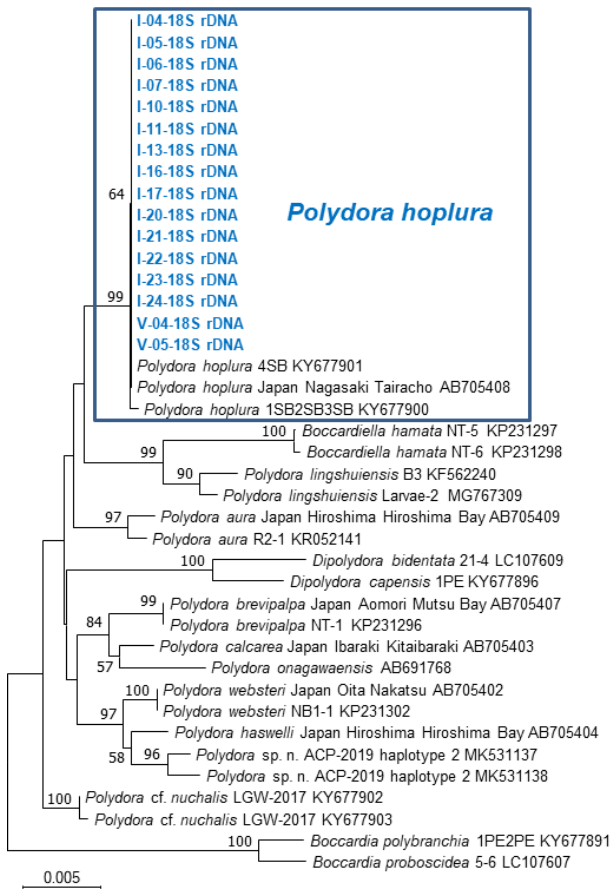


Fig. 1. Neighbour-joining tree based on DNA sequence in the nucleus 18S rDNA region of polychaete samples (I-04, I-05, I-06, I-07, I-10, I-11, I-13, I-16, I-17, I-20, I-21, I-22, I-23, I-24, V-04, V-05).

88.09%의 유사도를 보였다.

4. 분자계통수 작성

핵 18S rDNA 영역 DNA 염기서열 해독과 미토콘드리아 CO1 또는 16S rDNA 영역 DNA 염기서열 해독을 통해 *P. hoplura*로 확인된 16개 시료를 대상으로 계통수를 작성한 결과는 각각 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다.

고찰

전복 패각에 천공성 다모류 감염이 일어나면 패각 내측에 황색부터 흑색에 이르는 색소가 침착되어 전복이 가진 가치가 하락할 뿐만 아니라 성장률이 낮아지며 나아가 폐사에 영향을 미치게 된다 (Bower *et al.*, 1994; Handley and Bergquist, 1997; Leonart *et al.*, 2003; Sato-Okoshi *et al.*, 2012; Won *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2019).

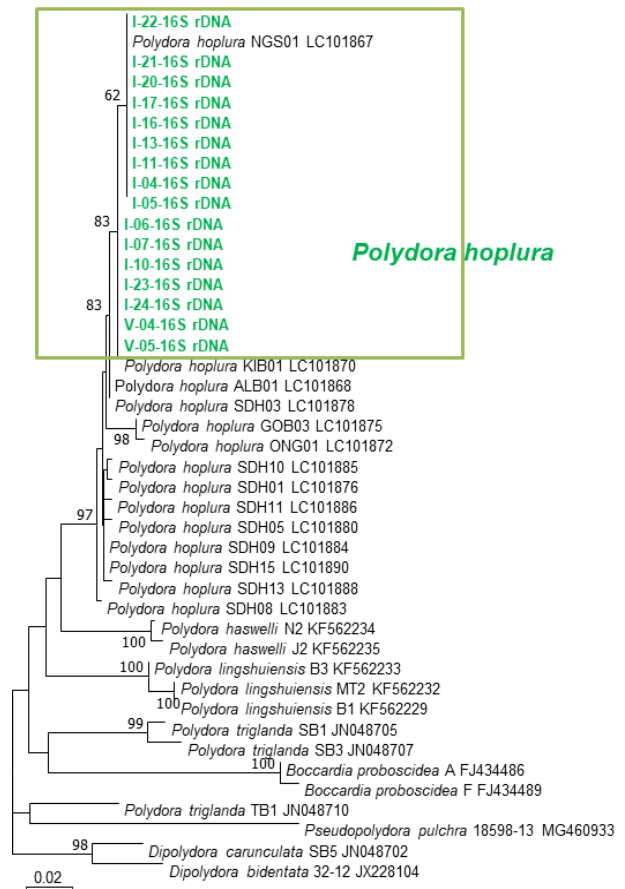


Fig 2. Neighbour-joining tree based on DNA sequence in the mitochondrial 16S rDNA region of polychaete samples (I-04, I-05, I-06, I-07, I-10, I-11, I-13, I-16, I-17, I-20, I-21, I-22, I-23, I-24, V-04, V-05).

국내 주요 전복 양식장이 위치한 전남권역의 다모류 감염률은 약 40% 정도로 여름철에 증가하고 겨울철에 감소하는 패턴을 보이거나 겨울철 이후 감소는 출하와 중간 크기의 전복이 새로 가입되기 때문으로 판단된다 (Kim *et al.*, 2019). 전복 양식장에서 패각 천공성 다모류에 의한 감염률이 꾸준히 유지되고 있으며, 이로 인한 피해 주장이 계속됨에도 불구하고 원인을 정확히 확정하지 못해 추가적인 연구와 대응에 한계로 작용하였다. Won *et al.* (2013)은 완도지역에서 분리되는 패각 천공성 다모류에 대한 형태학적 연구에서 *P. uncinata* (syn = *P. hoplura*)로 추정하였으나 최근까지 유전학적 종분류에 의한 정보는 충분하지 않았다.

2018년 11월부터 2020년 3월까지 양식 전복의 패각 내부 및 외부로부터 분리한 환형동물 30개체에 대한 유전학적 기법을 통해 정확한 종분류를 수행하고자 하였다. 30개체에 대한 시료 중 27개에 대해 염기서열 해독이 이루어졌으며, 16개 시료가 *P. hoplura*로 확인되었다. 이러한 결과는 Won *et al.*

(2013) 의 형태학적 연구 결과를 뒷받침할 뿐만 아니라 국내 양식장에서 사육되는 전복이 주로 *P. hoplura*에 의해 영향을 받음을 시사한다. 또한, 전복 패각에 기생하는 천공성 다모류에 대한 종류를 명확히 하므로써 이후 생리 및 생태학적 연구, 감염 기작, 예방법 등에 대한 추가적인 연구에 중요한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 특히, *P. hoplura*로 확인된 16개 시료는 천공한 공간 내에서 분리하였으므로 이 종류가 전복의 ‘패각 천공성 다모류’의 주요 종류인 것으로 추측된다.

본 연구에서 *P. hoplura* 이외에 전복 양식장에 *Amphisamytha vanuatuensis*, *Amythas membranifera*, *Cirriiformia chicoi*, *Cirratulus cirratus*, *Hediste* spp., *Notophyllum japonicum*, *P. hyllodoce rosea*, *Syllis armillaris*, *Terebella lapidaria* 등 다수의 환형동물이 확인 되었으므로 이들 중에 의한 오염 지표로서의 활용 가능성, 전복 패각에 대한 천공 및 기생 여부, 감염을 통한 피해 및 영향, 양식장과 양식생물에 대한 영향 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

전복 패각으로부터 분리한 30개의 다모류 시료에 대한 유전학적 분류를 수행하였다. 핵 18S rDNA 및 16S rDNA 또는 미토콘드리아 cytochrome c oxidase I (CO1) 영역에 대한 DNA 염기서열을 해독하였으며, 이를 NCBI의 BLAST 검색을 통하여 종 분류를 수행하였다. 환형동물로 염기서열이 해독된 27종에 대해 유전적 유사도를 확인하였을 때 16개 시료가 *Polydora hoplura*로 확인되었다. 이 외에도 *Amphisamytha vanuatuensis*, *Amythas membranifera*, *Cirriiformia chicoi*, *Cirratulus cirratus*, *Hediste* spp., *Notophyllum japonicum*, *Phyllodoce rosea*, *Syllis armillaris*, *Terebella lapidaria* 등 다수의 환형동물이 확인되었다. *Polydora hoplura*에 대한 추가적인 연구뿐만 아니라 전복 양식장에서 확인된 여러 환형동물에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 연구사업인 ‘육상 기반 양식전복 생산 효율화 연구 (R2020017)’ 에 의해 이루어졌습니다.

REFERENCES

Bower, S.M., McGalddery, S.E. and Price, I.M. (1994) Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. *Annual Review of*

Fish Disease, **4**: 1-199.
 Caceres-Martinez, J., Marcias-Montes de Oca, P. and Vasquez-Yeomans, R. (1998) *Polydora* sp. infestation and health of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, NW Mexico. *Journal of Shellfish Research*, **17**: 259-264.
 Chambon, C., Legeay, A., Durrieu, G., Gonzalez, P., Ciret, P. and Massabuau, J.C. (2007) Influence of the parasite worm *Polydora* sp. on the behavior of the oyster *Crassostrea gigas*: a study of the respiratory impact and associated oxidative stress. *Marine Biology*, **152**: 329-338.
 Cook, P.A. (2016) Recent trends in worldwide abalone production. *Journal of Shellfish Research*, **35**: 581-583.
 Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. 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.
 Giribet, G. and Wheeler, W. (2002) On bivalve phylogeny: a high-level analysis of the Bivalvia (Mollusca) based on combined morphology and DNA sequence data. *Invertebrate Biology*, **4**: 271-324.
 Hall, T.A. (1999) BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids Symposium Series*, **41**: 95-98.
 Handley, S.J. and Bergquist, P.R. (1997) Spionid polychaete infestations of intertidal pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg), Mahurangi Harbour, northern New Zealand. *Aquaculture*, **153**: 191-205.
 Kim, J.D., Park, J.S., Kim, B.H., Won, K.M. and Lee, D.C. (2019) Variance of shell-boring polychaete infestation of farmed abalone, *Haliotis discus hannai* at Wando waters, Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **35**: 65-71.
 Kojima, H. and Imagima, M. (1982) Burrowing polychaetes in the shells of abalone *Haliotis diversicolor aquatilis* chiefly on the species of *Polydora*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **48**: 31-35.
 Kumar, S., Nei, M., Dudley, J. and Tamura, K. (2008) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, **9**: 299-306.
 Lauckner, G. (1983) Diseases of mollusca bivalvia. *In*: Diseases Marine Animals, vol. II. (ed. by Kinne, O.). pp. 477-978. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg.
 Moon-van der Staay, S.Y., De Wachter, R. and Vaulot, D. (2001) Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*, **409**: 607-610.
 Nel, R., Coetzee, P.S. and Van Niekerk, G. (1996) The evaluation of two treatments to reduce mud worm (*Polydora hoplura* Claparède) infestation in commercially reared oysters (*Crassostrea gigas*

- Thunberg). *Aquaculture*, **141**: 31-39.
- NIFS (2016) Cause survey report on aquaculture damage in the South-west Coast. pp. 178-241.
- NIFS (2017) Cause survey report on aquaculture damage in the South-west Coast. pp. 119-267.
- Sato-Okoshi, W., Okoshi, K., Koh, B.-S., Kim, Y.H. and Hong, J.S. (2012) Polydorid species (Polychaeta: Spionidae) associated with commercially important mollusk shells in Korean waters. *Aquaculture*, **350-353**: 82-90.
- Shin, Y.R., Kim, B.H., Choi, H.S., Koo, J.H., Park, J.W., Lee, D.C. and Park, J.J. (2017) A case study of damage on net cage cultured abalone in Wando, Jellanam-do by the combined effect. *Korean Journal of Malacology*, **33**: 329-336.
- Won, K.M., Kim, B.H., Jin, Y.G., Park, Y.J., Son, M.H., Cho, M.Y., Park, M.A. and Park, M.W. (2013) Infestation of the abalone, *Haliotis discus hannai*, by the Polydora under intensive culture conditions in Korea. *Journal of Fish Pathology*, **26**: 139-148.
- Yang, H.W., Cho, Y.K., Seo, G.H., You, S.H. and Seo, J.W. (2014) Interannual variation of the southern limit in the Yellow Sea Bottom Cold Water and its causes. *Journal of Marine Systems*, **139**: 119-127.

