

# 6개국 (호주, 중국, 일본, 미얀마, 영국, 베트남) 산 수입 대상 복족류의 분자 계통학적 연구

박지은<sup>1</sup>, 송대권<sup>1</sup>, 정종민<sup>1</sup>, 상민규<sup>1</sup>, 정준양<sup>1</sup>, 이준상<sup>2</sup>, 황희주<sup>2</sup>, 이용석<sup>1</sup>

<sup>1</sup>순천향대학교 자연과학대학 생명과학과, <sup>2</sup>순천향대학교 기초과학연구소

## Molecular Phylo-genetic Study of Imported Gastropods from 6 Countries (Australia, China, Japan, Myanmar, UK, Vietnam)

Jie Eun Park<sup>1</sup>, Dae Kwon Song<sup>1</sup>, Jong Min Chung<sup>1</sup>, Min Kyu Sang<sup>1</sup>, Jun Yang Jeong<sup>1</sup>,  
Jun Sang Lee<sup>2</sup>, Hee-Ju Hwang<sup>2</sup> and Yong Seok Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam, 31538, Korea

<sup>2</sup>Institute for basic sciences, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam, 31538, Korea

### ABSTRACT

About 85,000 species of gastropods are known around the world, and the imports rate about edible gastropods are on the rise every year in Korea. The system will be needed to reflect taxonomic diversity about similar gastropoda groups. Because inaccurate information about edible species can cause serious problems in market. In this study, to cope with this problem, a study was conducted to accurately identify gastropods, and selected six target country with a large imported rate of edible gastropods in Korea. The collected gastropods were classified into 8 orders, 22 families and 33 species, including unrecorded in Korea, and were identified by morphological classification. Sequence analysis of the COI gene was performed for all collected species by COI universal primer. The result of molecular phylogenetic analysis and morphological classification result are similar. As a result of this study, it was confirmed that most gastropoda species can be identified using universal primers for gastropod COI sequences, and will be used as data for species identification of gastropods in the future.

**Keywords:** Gastropoda, Classification, Phylogenetic study, COI

### 서 론

복족류는 전 세계에 약 85,000여 종이 알려져 있으며, 이중 식용 가능한 복족류에 대한 국내수입량은 2019년 기준 1,045건 15,838 t 이 수입된 것으로 집계되었으며, 매년 증가 추세에 있는 것으로 보고되었다 (국가통계포털, <https://kosis.kr/index/index.do>). 국내로 수입되는 복족류는 골뱅이, 피뿔고둥, 위고둥, 다슬기 등으로 활, 냉동, 자숙, 살 등 여러 형태로 가공되어

수입되고 있다. 가공되어 수입되는 복족류에 대한 관리에 있어 현재는 분류학적으로 유사한 그룹들을 합쳐 단일 품목으로 구분되지만, 이러한 관리체계는 수산물의 유통과 관리체계에 있어 혼선을 유발할 수 있다. 장기적으로 보았을 때 복족류에 대한 분류학적 다양성을 반영하여 정확한 정보를 생산, 전달할 수 있는 관리체계가 필요할 것으로 보인다. 이를 위해서는 수입 대상 복족류의 정확한 분류 동정을 위한 형태학 및 유전학 지표를 모두 사용한 종 분류 연구가 수반되어야 할 것으로 판단 된다.

이 연구에서는 현재 수입 중이거나 앞으로 국내 수입 가능성이 높은 식용 복족류를 현지에서 수집하였으며, 형태적 종 동정 및 COI 유전자 서열을 통한 정확한 종의 분류와 동정을 하고자 진행하였다. 이 과정에서 국내 기록이 없는 외국산 종에는 새로운 국명을 부여하였다. 이러한 결과는 실제로 국내에 관련 가공 수산물이 수입될 경우 수산물품질관리원 및 식품의약품안전처 등의 관련 기관에서 수입되어지는 복족류들을 정

Received: march 19, 2021; Revised: march 25, 2021;  
Accepted: march 30, 2021

Corresponding author: Yong Seok Lee

Tel: +82 (41) 530-3040, e-mail: yslee@sch.ac.kr  
1225-3480/24783

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. COI Primer sequence

Primer name	Sequence	Product size
COI-LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	≈ 700bp
COI-HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	

확하게 종판별 할 수 있는 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 확보

연구에 사용할 시료 확보를 위해 2020년 5월부터 11월까지 주요 복족류 수입 국가인 6개국 (베트남, 미얀마, 중국, 호주, 일본, 영국) 에 대해 현지의 관련 연구를 진행하는 연구원 및 수출입 사업을 진행하는 업체를 섭외하여 공동연구를 진행하였다. 현지에서 확보된 시료는 식약처의 허가를 통해 연구진에게 전달되었으며 이를 이용하여 연구를 진행하였다. 또한 이미 국내 수입되어 시중에 유통되고 있는 시료는 국내 시장에서 구입하거나, 지방 식약처의 협조를 받아 시료를 확보하였다.

### 2. 시료의 동정

해외 6개국 및 국내에서 수집된 시료를 형태학적 동정을 위해 연구실로 옮겨 진행하였다. 정확한 종 동정을 위해 연체동물의 분류동정과 관련된 다양한 도감을 참고하였으며 (Habe and Ito, 1965; Okada *et al.*, 1967; Qi *et al.*, 1983; Qi *et al.*, 1989; Kwon *et al.*, 1993; Ma, 1997; Okutani, 2000; Lee and Min, 2002; Min *et al.*, 2004; Qi, 2004; Wu and Lee, 2005; 이준상, 2015), 동정 결과 명확한 국명이 없는 종에 대해서 해당 종의 소속 과와 속명을 고려한 새로운 국명을 부여하였다. 표기된 학명과 분류 체계는 WoRMS (World Register of Marine Species, <http://www.marinespecies.org>) 의 방식을 준용하였다.

### 3. 종 판별용 COI 서열분석

#### 1) DNA 추출

실험 대상인 33종의 복족류로부터 DNA를 분리하기 위해 대상 생물의 발 (foot) 에 해당하는 부위를 적출하여 사용하였다. 분쇄한 시료를 50-100 mg 사용하여 ATL buffer 180  $\mu$ l, Proteinase k 20  $\mu$ l와 56 $^{\circ}$ C에서 한 시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 시료에 AL buffer 200  $\mu$ l를 넣어 다시 56 $^{\circ}$ C에서 10분간 incubate 하였다. 반응이 완료된 시료에 200  $\mu$ l ethanol을 넣고 섞어 spin column으로 옮겨 담아 8,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. Column아래로 가라앉은

waste를 제거한 후 AW1 buffer 500  $\mu$ l를 넣어 1분간 원심 분리한 후 다시 waste를 제거하였다. AW2 buffer 500  $\mu$ l를 첨가한 뒤 14,000 rpm에서 3분간 원심분리하였다. Column에 남은 ethanol을 완전히 제거하기 위해 14,000 rpm에서 다시 3분간 원심분리 하였다. 이 후 새 튜브로 옮겨 1X TE buffer 50  $\mu$ l를 넣고 원심분리하여 DNA를 회수하였다. 이때 DNA 농도는 1  $\mu$ g 이상, purity 측정을 위한 OD260/280 값은 1.8-2.0 이 되도록 하였다 (QIAGEN, DNeasy Blood & Tissue kit).

#### 2) DNA 증폭 및 정제

추출한 DNA를 COI universal primer (Table 1) 를 사용하여 DNA를 증폭하였다 (Remigio and Hebert, 2003; Galan *et al.*, 2018). 증폭이 부족한 것으로 나타난 시료를 선별하여 1차로 진행한 PCR 산물을 G-puri purification kit으로 정제한 용액 20-30  $\mu$ l에 elution 하였다. Elution 한 PCR 산물의 4-5  $\mu$ l를 template로 하여 다시 동일한 PCR 조건으로 DNA 증폭을 진행하였다. 증폭이 완료된 시료를 2% agarose gel에 전기영동하여 예상 product size에 band가 형성되었는지 확인한 후 Nucleogen Plus PCR Purification Kit를 사용하여 최종산물을 정제하였다.

#### 3) COI 유전자 서열 확보 (ABI 3730XL DNA Analyzer)

위 조건으로 확보한 PCR product를 이용하여 Big Dye Ready Reaction Mix (v3.1) 0.5  $\mu$ l, 5X buffer 1  $\mu$ l, DMSO 0.5  $\mu$ l, primer (10pmol) 0.5  $\mu$ l, Template 1  $\mu$ l, Grade Water 6.5  $\mu$ l 의 조건으로 mixture를 만든 후, 2720 thermocycler (Applied Biosystems) 을 사용하여 96 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation 반응 후 96 $^{\circ}$ C에서 10초, 52 $^{\circ}$ C에서 5초, 60 $^{\circ}$ C에서 4초 동안 35 cycle sequencing PCR을 진행하였다. Sequencing PCR로 증폭한 DNA는 EtOH 침전법으로 정제하여, ABI 3730XL DNA Analyzer로 양방향 sequencing을 진행하였다.

#### 4) TA cloning (Promega, pGEM<sup>®</sup>-T Easy Vector Systems 사용)

PCR 후 진행한 전기영동에서 target product 구간의 band는 확인되었으나, 시퀀싱이 정상적으로 진행이 안 된 시

료에 대해 추가적으로 진행하였다 (Tamura and Nei, 1993; Chee and Mohd Nor, 2016; Galan *et al.*, 2018). 정제된 PCR product 와 pGEM-T vector를 1:3의 비율로 22°C에서 ligation 반응 후, 반응액의 5 µl를 사용하여 *E. coli* DH5 alpha competent cell에 heat shock 방법으로 transformation을 진행하였다. Transformation 된 *E. coli* 에 SOC 1ml을 첨가하여 37°C에서 1시간 배양 후 ampicillin 항생제를 포함하여 제작한 LB agar 배지에 도말하였다. 37°C에서 15시간 배양된 LB agar 배지로부터 white colony를 random 하게 5개 선별하여 다시 ampicillin 항생제가 포함된 LB broth에 37°C에서 15시간 이상 배양하였다. 배양액으로부터 각 plasmid DNA를 추출한 후 SP6, T7 universal primer로 양방향 시퀀싱을 진행하여 target insert 서열을 확보하였다.

**4. 계통학적 분석을 위한 Phylo-dendrogram 도출**

양방향으로 sequencing 된 서열을 Phred 프로그램을 사용하여 Phred quality score 20 이상으로 base calling 하여 FASTA format으로 변환 후 (Ewing and Green, 1998; Ewing *et al.*, 1998), cap3 (Huang and Madan, 1999) 프로그램을 사용하여 assembly 하였다. 확보되어진 COI 서열들은 연체동물 전용 BLAST 서버 (Lee *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2019) 를 이용하여 분류 동정의 유의성을 확인하였다. ClustalX2 (Higgins and Sharp, 1988; Larkin *et al.*, 2007) 프로그램을 사용하여 Multi-alignment 수행 후 정렬된 서열들은 MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) 프로그램을 사용하였다. Heuristic search를 위한 Initial tree는 substitution model로 Tamura-Nei model 이 적용된 Neighbor-Join 알고리즘을 사용하였으며 (Tamura *et al.*, 1993), Maximum-likelihood statistical method (500 bootstrap replication) 를 사용하여 추론된 phylo-dendrogram 을 도식화하였다.

**결 과**

**1. 수입 복족류 동정 결과**

국내로 시장에 유통되어 있던 수입 복족류 샘플 및 6개국에서 확보된 수입 가능 식용 복족류 샘플의 동정 결과 미지정포함 8목 22과 33종으로 확인되었다 (Table 2). 국가별로 나눠 보면 중국 6목 10과 11종, 미얀마 5목 8과 11종, 베트남 4목 7과 9종, 호주 1목 1과 1종, 일본 1목 1과 1종, 영국 1목 1과 1종으로 확인되었다. 종 동정 결과 정확하게 보고된 우리말 이름이 없는 3개의 목과 1개의 과, 5개의 종에 대해 각각의 계통학적 소속 등을 고려하여 적절한 국명을 부여하였다.

- Class Gastropoda Cuvier, 1797 복족강**
- Subclass Vetigastropoda Salvini-Plawen, 1980 고복족아강**
- Order Lepetellida Moskalev, 1971 등구멍고등목 (신칭)**
- Family Haliotidae Rafinesque, 1815 전복과**
  - Haliotis discus hannai* Ino, 1952 북방전복
  - Haliotis scalaris emmae* Reeve, 1846 엠마전복 (신칭)
- Order Trochida Rafinesque, 1815 램고등목 (신칭)**
- Family Trochidae Rafinesque, 1815 램고등과**
  - Monodonta australis* Lamarck, 1822 남방올타리고등
- Family Tegulidae Kuroda *et al.*, 1971 보말고등과**
  - Omphalius rusticus* (Gmelin, 1791) 보말고등
  - Tectus pyramis* (Born, 1778) 피라미드푸른방석고등
- Order Seguenziida Haszprunar, 1986 잔갈비고등목 (신칭)**
- Family Chilodontidae Wenz, 1938 갈비고등과**
  - Euchelus asper* (Gmelin, 1791) 흰점꼬마올타리고등 (신칭)
- Subclass Neritimorpha Golikov & Starobogatov, 1975 갈고둥아강**
- Order Cycloneritida Fryda, 1998 고리갈고등목**
- Family Neritidae Rafinesque, 1815 갈고등과**
  - Nerita balteata* Reeve, 1855 남방잔고리갈고등 (신칭)
- Subclass Caenogastropoda Cox, 1960 신생복족아강**
- Order Unassigned**
- Family Batillariidae Thiele, 1929 갯고등과**
  - Batillaria cumingii* (Crosse, 1862) 멍가리
- Family Potamididae H. & A. Adams, 1854 동다리과**
  - Cerithidea obtusa* (Lamarck, 1822) 둥근입비틀이고등 (신칭)
  - Telescopium telescopium* (Linnaeus, 1758) 망원경추고등
- Order Littorinimorpha Golikov & Starobogatov, 1975 총알고등목**
- Family Littorinidae Gray, 1840 총알고등과**
  - Littoraria bengalensis* D. Reid, 2001 벵갈만총알고등 (신칭)
- Family Naticidae Guilding, 1834 구슬우렁이과**
  - Neverita didyma* (Röding, 1798) 큰구슬우렁이
- Family Tonnidae Suter, 1913 위고등과**
  - Tonna galea* (Linnaeus, 1758) 큰갈색위고등
  - Tonna sulcosa* (Born, 1778) 갈색머줄위고등
- Family Charoniidae Powell, 1933 장군나팔고등과 (신칭)**
  - Charonia tritonis* (Linnaeus, 1758) 장군나팔고등

**Family Strombidae Rafinesque, 1815 수정고둥과**

- Lambis lambis* (Linnaeus, 1758) 거미고둥
- Sinustrombus latissimus* (Linnaeus, 1758) 귀고둥

**Family Cymatiidae Iredale, 1913 나팔고둥과**

- Fusitriton oregonensis* (Redfield, 1846) 콩깍지고둥

**Order Mesogastropoda Thiele, 1925 중복족목**

**Family Turritellidae Lovén, 1847 나사고둥과**

- Turritella terebra* (Linnaeus, 1758) 사다리나사고둥

**Order Neogastropoda Wenz, 1939 신복족목**

**Family Babyloniidae Kuroda et al., 1971 수랑과 (신칭)**

- Babylonia areolata* (Link, 1807) 갈색반점줄무늬수랑
- Babylonia spirata* (Linnaeus, 1758) 포아리수랑

**Family Buccinidae Rafinesque, 1815 물레고둥과**

- Buccinum undatum* Linnaeus, 1758 북유럽물레고둥 (신칭)
- Neptunea cumingi* Crosse, 1862 갈색띠매물고둥

**Family Fascioliidae Gray, 1853 긴고둥과**

- Filifusus filamentosus* (Röding, 1798) 실타래긴고둥
- Pleuroploca trapezium* (Linnaeus, 1758) 어께흑갈색띠줄긴고둥

**Family Melongenidae Gill, 1871 털탑고둥과**

- Volegalea cochlidium* (Linnaeus, 1758) 황색나선층고둥

**Table 2.** Species Identification Results

목 (Order)	과 (Family)	학명	국명
Lepetellida (등구멍고둥목(신칭))	Haliotidae (전복과)	<i>Haliotis discus hannai</i> Ino, 1952	북방전복
		<i>Haliotis scalaris emmae</i> Reeve, 1846	엠마전복 (신칭)
Trochida (밤고둥목(신칭))	Tegulidae (보말고둥과)	<i>Tectus pyramis</i> (Born, 1778)	피라미드푸른방석고둥
	Trochidae (밤고둥과)	<i>Tegula rustica</i> (Gmelin, 1791)	보말고둥
Seguenziida (잔갈비고둥목(신칭))	Chilodontaidae (갈비고둥과)	<i>Monodonta australis</i> Lamarck, 1822	남방올타리고둥
		<i>Euchelus asper</i> (Gmelin, 1791)	흰점꼬마올타리고둥 (신칭)
Cycloneritida (고리갈고둥목)	Neritidae (갈고둥과)	<i>Nerita balteata</i> Reeve, 1855	남방잔고리갈고둥(신칭)
unassigned (미지정)	Batillariidae (갯고둥과)	<i>Batillaria cumingii</i> (Crosse, 1862)	댕가리
	Potamididae (동다리과)	<i>Cerithidea obtusa</i> (Lamarck, 1822)	둥근입비틀이고둥(신칭)
Littorinimorpha (총알고둥목)	Naticidae (구슬우렁이과)	<i>Telescopium telescopium</i> (Linnaeus, 1758)	망원경추고둥
		<i>Neverita didyma</i> (Röding, 1798)	큰구슬우렁이
	Charoniidae (장군나팔고둥과)	<i>Charonia tritonis</i> (Linnaeus, 1758)	장군나팔고둥
	Cymatiidae (나팔고둥과)	<i>Fusitriton oregonensis</i> (Redfield, 1846)	콩깍지고둥
	Littorinidae (총알고둥과)	<i>Littoraria bengalensis</i> D. Reid, 2001	뱅갈만총알고둥
	Naticidae (구슬우렁이과)	<i>Neverita didyma</i> (Röding, 1798)	큰구슬우렁이
	Strombidae (수정고둥과)	<i>Lambis lambis</i> (Linnaeus, 1758)	거미고둥
		<i>Sinustrombus latissimus</i> (Linnaeus, 1758)	귀고둥
Tonnidae (위고둥과)	<i>Tonna galea</i> (Linnaeus, 1758)	큰갈색위고둥	
	<i>Tonna sulcosa</i> (Born, 1778)	갈색띠줄위고둥	
Mesogastropoda (중복족목)	Turritellidae (나사고둥과)	<i>Turritella terebra</i> (Linnaeus, 1758)	사다리나사고둥
Babyloniidae (수랑과(신칭))	<i>Babylonia spirata</i> (Linnaeus, 1758)	포아리수랑	
	<i>Babylonia areolata</i> (Link, 1807)	갈색반점줄무늬수랑	
Buccinidae (물레고둥과)	<i>Buccinum undatum</i> Linnaeus, 1758	북유럽물레고둥	
	<i>Neptunea cumingi</i> Crosse, 1862	갈색띠매물고둥	
Fascioliidae (긴고둥과)	<i>Filifusus filamentosus</i> (Röding, 1798)	실타래긴고둥(신칭)	
	<i>Pleuroploca trapezium</i> (Linnaeus, 1758)	어께흑갈색띠줄긴고둥	
Neogastropoda (신복족목)	Melongenidae (털탑고둥과)	<i>Volegalea cochlidium</i> (Linnaeus, 1758)	황색나선층고둥
		<i>Chicoreus capucinus</i> (Lamarck, 1822)	맹그로브소라
	Muricidae (빨소라과)	<i>Hexaplex duplex</i> (Röding, 1798)	분홍입술갈색빨소라
		<i>Murex trapa</i> Röding, 1798	작은가시비늘고둥
	Nassariidae (좁쌀무늬고둥과)	<i>Rapana venosa</i> (Valenciennes, 1846)	피빨고둥
		<i>Thais clavigera</i> (Küster, 1860)	대수리
	Volutidae (홍줄고둥과)	<i>Nassarius varicifera</i> (A. Adams, 1852)	언덕좁쌀무늬고둥
		<i>Cymbiola nobilis</i> (Lightfoot, 1786)	번개무늬항아리고둥

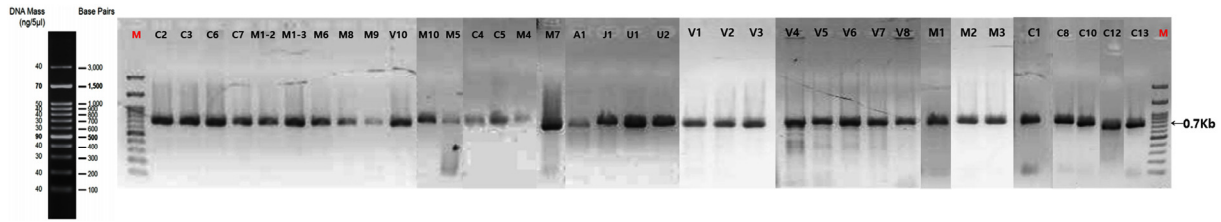


Fig. 1. Target Gene (COI) PCR Result.

**Family Nassariidae Iredale, 1916 좁쌀무늬고둥과**

*Nassarius varicifera* (A. Adams, 1852) 언덕좁쌀무늬고둥

**Family Muricidae Rafinesque, 1815 뿔소라과**

*Chicoreus capucinus* (Lamarck, 1822) 망그로브소라

*Hexaplex duplex* (Röding, 1798) 분홍입술갈색뿔소라

*Murex trapa* Röding, 1798 작은가시바늘고둥

*Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) 피뿔고둥

*Thais clavigera* (Küster, 1860) 대수리

**Family Volutidae Rafinesque, 1815 홍줄고둥과**

*Cymbiola nobilis* (Lightfoot, 1786) 번개무늬항아리고둥

**2. COI 서열 확인 및 중간 유연관계 분석 결과**

이번 연구에 사용된 시료는 총 37건으로, 유전정보를 활용한 분자 동정 및 중간 유연관계 분석에 앞서 형태분류를 진행하였으며 해부학적으로 발에 해당하는 부분을 적출하여 DNA 추출을 진행하였다. 추출된 DNA를 통해 PCR을 진행함에 있어 COI universal primer를 사용하였으며, 이때 증폭 대상의 크기는 약 700 bp 내외임으로 이를 확인하기 위해 겔 전기영동을 수행하였다. 분석에 사용한 모든 서열을 대상으로 전기영동 수행 결과 target 구간인 700bp에서 band를 모두 확인할 수 있었다 (Fig 1).

전기영동에서 나타난 band를 정제하여 sequencing을 위한 PCR을 수행하였으며 그 결과 37건의 시료에 대한 COI 유전자 서열을 얻었다. 해당 서열들이 COI 서열을 정확하게 포함하였는지를 확인하기 위해 NCBI에서 제공하는 BLAST 서버 및 연체동물 전용 BLAST 서버를 사용하여 검증하였으며, 그 결과 37건의 시료 모두에 COI 서열이 정확하게 포함되었음을 확인하였다.

37건의 수입수산물의 COI 서열을 포함하여 중간 유연관계를 분자 계통학적으로 살펴보기 위해 동일한 과에 속하며 많은 분석이 이루어진 종들을 NCBI DB에서 sorting 하였다 (Lobo et al., 2013). 그 결과 NCBI DB에서 sorting한 63건의 COI 서열을 포함하여 총 100건의 서열을 이용하여 각 종간의 유연관계를 확인하였다.

전체 복족류 COI 서열을 ClustalX2를 통해 다중정렬을 수행하였으며, MEGAX 사용하여 Maximum likelihood 방식

으로 분자 계통학 분석을 수행하였다. 그 결과 100건의 복족류 COI 서열은 구슬우렁이과 (Naticidae), 뿔소라과 (Muricidae), 좁쌀무늬고둥과 (Nssariidae), 나사고둥과 (Turritellidae), 구슬우렁이과 (Naticidae), 위고둥과 (Tonniidae), 수랑과 (Babyloniidae), 홍줄고둥과 (Volutidae), 장군나팔고둥과 (Charoniidae), 나팔고둥과 (Cymatiidae), 물레고둥과 (Buccinidae), 털담고둥과 (Melongenidae), 긴고둥과 (Fascioliariidae), 동다리과 (Potamididae), 수정고둥과 (Strombidae), 갈고둥과 (Neritidae), 밤고둥과 (Trochida), 보말고둥과 (Tegulidae), 전복과 (Haliotidae), 갈비고둥과 (Chilodontidae) 로 분리됨을 확인할 수 있었다. 분지 된 모든 단위 그룹은 총 20개로 과 (Family) 수준으로 정확하게 분리된 것을 확인할 수 있었다 (Fig 2).

COI 서열을 이용한 분석결과 Chilodontidae가 우선적으로 분리되어 나왔고 Haliotidae, Tegulidae, Trochidae의 순서로 분리된 것을 확인할 수 있었다. Potamididae과 (family) 의 *Cerithidea obtusa*는 다른 국가인 중국과 미얀마에서 채집되었으나 (Table 3) 분자계통학적 분석결과에서 같은 그룹으로 묶여있는 것을 확인할 수 있었으며, Muricidae과 (family) 의 *Papana venosa*, Naticidae과 (family) 의 *Neverita didyma*, Buccinidae과 (family) 의 *Buccinum undatum*은 동일한 국가, 동일한 종으로 채집되고 분자계통학적 분석결과에서도 같은 그룹으로 계통도가 그려진 것을 확인할 수 있었다 (Remigio et al., 2003; Lobo et al., 2013; Borges et al., 2016; Chee et al., 2016; Galan et al., 2018). 이러한 결과는 일생을 한정된 환경에서 저서 생활을 하는 대다수의 복족류의 생활사와 연관하여 생각해볼 수 있다. 일생 동안 움직이는 환경이 넓지 않은 저서생물의 경우 생육하는 환경에 따라 유전적 서열의 변동이 동일한 종 내에서 있을 수 있다. 이러한 현상을 반영하여 향후 복족류의 COI 서열 분석에 시료의 생육환경 정보를 추가하면 중간 변이와 관련된 진화 분류학적 분석이 가능한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

**결 론**

국내에 수입되어 국내 시장에 유통되었거나, 향후 유통 가능

6개국(호주, 중국, 일본, 미얀마, 영국, 베트남)산 수입 대상 복족류의 분자 계통학적 연구

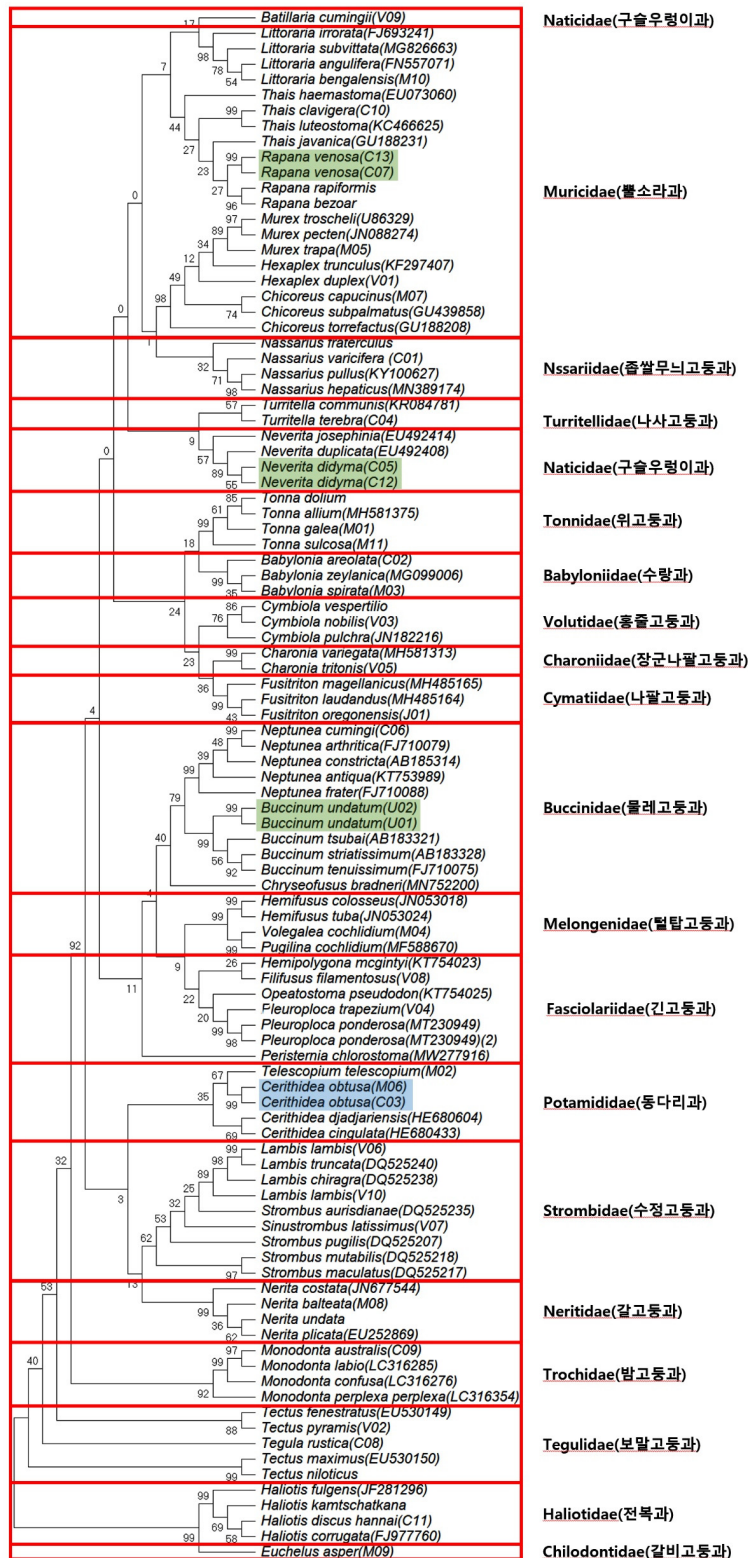


Fig. 2. Evolutionary analysis by Maximum Likelihood method. A) Green box : Same species, Same origin. B) Blue box : Same species, different origin.

**Table 3.** List of Species used to Obtain the COI Sequence and Indication of the Origin of the Sample

Species	Australia	China	Japan	Myanmar	UK	Vietnam
<i>Haliotis discus hannai</i> Ino, 1952		O				
<i>Haliotis scalaris emmae</i> Reeve, 1846	O					
<i>Tectus pyramis</i> (Born, 1778)						O
<i>Tegula rustica</i> (Gmelin, 1791)		O				
<i>Monodonta australis</i> Lamarck, 1822		O				
<i>Euchelus asper</i> (Gmelin, 1791)				O		
<i>Nerita balteata</i> Reeve, 1855				O		
<i>Batillaria cumingii</i> (Crosse, 1862)						O
<i>Cerithidea obtusa</i> (Lamarck, 1822)		O		O		
<i>Telescopium telescopium</i> (Linnaeus, 1758)				O		
<i>Neverita didyma</i> (Röding, 1798)		O				
<i>Charonia tritonis</i> (Linnaeus, 1758)						O
<i>Fusitriton oregonensis</i> (Redfield, 1846)			O			
<i>Littoraria bengalensis</i> D. Reid, 2001				O		
<i>Neverita didyma</i> (Röding, 1798)						
<i>Lambis lambis</i> (Linnaeus, 1758)						O
<i>Sinustrombus latissimus</i> (Linnaeus, 1758)						O
<i>Tonna galea</i> (Linnaeus, 1758)				O		
<i>Tonna sulcosa</i> (Born, 1778)				O		
<i>Turritella terebra</i> (Linnaeus, 1758)		O				
<i>Babylonia spirata</i> (Linnaeus, 1758)				O		
<i>Babylonia areolata</i> (Link, 1807)		O				
<i>Buccinum undatum</i> Linnaeus, 1758					O	
<i>Neptunea cumingi</i> Crosse, 1862		O				
<i>Filifusus filamentosus</i> (Röding, 1798)						O
<i>Pleuroploca trapezium</i> (Linnaeus, 1758)						O
<i>Volegalea cochlidium</i> (Linnaeus, 1758)				O		
<i>Chicoreus capucinus</i> (Lamarck, 1822)				O		
<i>Hexaplex duplex</i> (Röding, 1798)						O
<i>Murex trapa</i> Röding, 1798				O		
<i>Rapana venosa</i> (Valenciennes, 1846)		O				
<i>Thais clavigera</i> (Küster, 1860)		O				
<i>Nassarius varicifera</i> (A. Adams, 1852)		O				
<i>Cymbiola nobilis</i> (Lightfoot, 1786)						O

성이 있는 식용 복족류를 대상으로 하여 6개국 산 복족류의 형태학적, 분자 계통학적 분류 연구를 수행하였다. 해당 연구에 사용한 시료의 동정 결과 총 33종으로 확인되었으며, 국가별로 나눠보면 중국 6목 10과 11종, 미얀마 5목 8과 11종, 베트남 4목 7과 9종, 호주 1목 1과 1종, 일본 1목 1과 1종, 영국 1목 1과 1종으로 확인되었다. 형태학적 특징을 사용하여 분류 동정하는 과정에서 WoRMS (2020)의 학명과 분류체계를 따랐으며, 이 과정에서 국명이 없는 경우 (Min *et al.*, 2004) 를 토대로 목 단위 3건, 과 단위 1건, 종 단위 6건의 국명을 신청하였다.

유전정보를 활용한 분자 계통학적 분류를 통해 중간 유연관계를 확인하기 위해 형태학적 특징을 통해 1차 분류를 진행한 시료를 사용하였으며 유전정보를 얻기 위해 universal COI primer를 사용하였다. 이를 통해 획득한 COI 서열을 MEGA

프로그램을 통해 phylo-dendrogram 분석을 수행하였다. 그 결과 20개의 과로 100건의 복족류 COI 서열이 정확하게 분지된 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 향후 수입 복족류에 대한 분자계통학적 분석의 진행에 COI universal primer가 유효하게 활용될 것으로 보이며, 이를 통해 비교적 정확한 데이터를 생산할 수 있음을 시사한다.

### 사 사

본 연구는 식품의약품안전처 “수입수산물 유사어종 (복족류) 과학적 판별법 개발” 과제 및 순천향대학교 학술연구비 지원으로 수행되었습니다. COVID-19로 인해 다양한 문제점이 있었음에도 본 과제를 수행하기 위한 시료 획득에 도움을 주신 LL

SEA PRODUCTION의 이효상 선생님, lam Company의 김현 선생님, 보건산업진흥원의 황경수 선생님, 한국생물보전연구소의 박상용 박사님, ㈜태승의 김경곤 선생님, 일본에 거주 중이신 안현선 선생님, 중국에 거주 중이신 박경진 선생님께 깊은 감사의 말씀을 전합니다.

## REFERENCES

- Borges, L.M.S., Hollatz, C., Lobo, J., Cunha, A.M., Vilela, A.P., Calado, G., Coelho, R., Costa, A.C., Ferreira, M.S.G., Costa, M.H., and Costa, F.O. (2016) With a little help from DNA barcoding: investigating the diversity of Gastropoda from the Portuguese coast. *Scientific Reports*, **6**: 20226.
- Chee, S.Y., and Mohd Nor, S.A. (2016) DNA barcoding reveals neritid diversity (Mollusca: Gastropoda) diversity in Malaysian waters. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal.*, **27**: 2282-2284.
- Ewing, B., and Green, P. (1998) Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Res.*, **8**: 186-194.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., and Green, P. (1998) Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res.*, **8**: 175-185.
- Galan, G., Mendez, N., and Dela Cruz, R. (2018) DNA Barcoding of three Selected Gastropod Species using Cytochrome Oxidase (COI). *Gene*, **21**: 93-102.
- Habe, T., and Ito, K. (1965) Shell of the world in color, 1 (reprinted in 1979) pp. 176. Hoikusha Pub. Co. Osaka,.
- Higgins, D.G., and Sharp, P.M. (1988) CLUSTAL: a package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene*, **73**: 237-244.
- Huang, X., and Madan, A. (1999) CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Res.*, **9**: 868-877.
- Kang, S.W., Park, S.Y., Hwang, H.J., Chung, J.M., Sang, M.K., Min, H.R., Park, J.E., Cho, H.C., Patnaik, B.B., and Lee, Y.S. (2019) PANM DB ver 3.0 : An update of the bioinformatics database for annotation of large datasets from sequencing of species under Protostomia clade. *The Korean Journal of Malacology*, **35**: 73-75.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.*, **35**: 1547-1549.
- Kwon, O.K., Park, G.M., and Lee, J.S. (1993) Coloured Shells of Korea pp. Academy Publishing Company.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., and Higgins, D.G. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, **23**: 2947-2948.
- Lee, J.S., and Min, D.K. (2002) A Catalogue of Molluscan Fauna in Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **18**:
- Lee, Y.-S., Jo, Y.-H., Kim, D.-S., Kim, D.-W., Kim, M.-Y., Choi, S.-H., Yon, J.-O., Byun, I.-S., Kang, B.-R., Jeong, K.-H., and Park, H.-S. (2004) Construction of BLAST Server for Mollusks. *The Korean Journal of Malacology*, **20**: 165-169.
- Lobo, J., Costa, P.M., Teixeira, M.A.L., Ferreira, M.S.G., Costa, M.H., and Costa, F.O. (2013) Enhanced primers for amplification of DNA barcodes from a broad range of marine metazoans. *BMC Ecology*, **13**: 34.
- Ma, X. (1997) Fauna Sinica pp. Chinese Academy of Sciences, Beijing.
- Min, D.K., Lee, J.S., Koh, D.B., and Je, J.K. (2004) Mollusks in Korea. pp. 566. Min Molluscan Research Institute.
- Okada, Y., Uchida, S., and Uchida, T. (1967) New illustrated encyclopedia of the fauna of Japan (II) pp. Hokuryukan Co., LTD, Tokyo.
- Okutani, T.E. (2000) Marine Mollusks in Japan. pp. 1172. Tokai University.
- Qi, Z., Ma, X., Zhang, F., and Lou, Z. (1983) 中國動物圖鑑. 軟體動物 第2冊 pp. 150. 科學出版社, 北京.
- Qi, Z.e. (2004) Sea shells of China. pp. China Ocean Press, Beijing,.
- Qi, Z.Y., Ma, X.T., Wang, Z.R., Ling, G.Y., Xu, F.S., Dong, Z.Z., Li, F.L., and Lü, R.H. (1989) Mollusca of Huanghai and Bohai. pp. 309-323. Agricultural Publishing House, BeiJing.
- Remigio, E.A., and Hebert, P.D. (2003) Testing the utility of partial COI sequences for phylogenetic estimates of gastropod relationships. *Mol. Phylogenet Evol.*, **29**: 641-647.
- Tamura, K., and Nei, M. (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, **10**: 512-526.
- Wu, W.L., and Lee, Y.C. (2005) The Taiwan Common Mollusks In Color. pp. Academica Sinica, Taiwan.
- 이준상 (2015) 국가 생물종 목록 - 무척추동물-VI [연체동물-II (복족류, 미공류, 다판류, 이매패류, 굴족류, 두족류)] pp. 환경부 국립생물자원관.