

교배실험을 통한 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 의 패각색 변이에 대한 유전적 지배

박철지, 남원식, 이명석, 강지윤, 김경길

국립수산과학원 육종연구센터

Genetic control of shell color variation in the *Haliotis discus hannai* by mating experiments

Choul Ji Park, Won Shik Nam, Myeong Seok Lee, Ji-Yun Kang and Kyung Kil Kim

Genetics and Breeding Research Center, NFRDI, Gyeongsangnam-do Geoje, 656-842, Korea

ABSTRACT

Purple-colored shell individuals were discovered among normal green-colored shell individuals in artificial seed of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*, reared on an ordinary type of diatom and artificial diet. In the present study, factorial mating experiments were designed to clarify the genetic control of the variant (purple type) and normal (green type) of shell color. The parental population of purple type and green type individuals were derived from a single family between a female and male of each type of coloration. The all mating families were reared in same tank for the same breed environment. The individual of 4 type families were distinguished by paternity test using microsatellite DNA. In factorial mating experiments, all individuals offspring of GG (green type female and green type male), GP (green type female and purple type male) and PG (purple type female and green type male) mating types appeared to green type. In only PP (purple type female and purple type male) mating type, all individuals offspring appeared to purple type. The results suggested that the purple shell color is controlled by recessive purple type allele and a dominant green type allele at a single locus.

Keywords: *Haliotis discus hannai*, Shell color, Factorial mating, Recessive allele

서 론

패류양식에 있어 패각색의 변이는 매우 흥미로운 현상이다. 패각색은 생태학, 유전학 및 진화에 있어 몇몇 종을 대상으로 연구되어 왔다 (Hoagland, 1977; Raffaelli, 1982; Cowie, 1990). 패각색의 변이는 환경적인 요인뿐만 아니라 유전적인 요인에 의해서도 결정 된다고 알려져 있다. 빛, 염분 및 기후 등의 환경적 요인으로 패각색의 변이를 증명한 연구 (Heath, 1975; Precht and Plett, 1979; Cowie, 1990; Sokolova

and Berger, 2000) 가 있는 반면에, Cole (1975) 는 패각색의 변이가 유전적 요인이라고 *Urosalpinx cinerea*의 3가지형태 패각색을 이용하여 처음으로 보고하였다. 더욱이 이매패류인 *Mytilus edulis*, *Argopecten irradians*, *Fulvia mutica*에 있어서도 유전적 요인으로 인한 패각색의 결정을 보고하였다 (Innes and Haley, 1977; Adamkewicz and Castagna, 1988; Fujiwara, 1995).

북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 은 한국, 중국 및 일본의 주요 양식생산 및 자원관리 대상품종으로 매우 중요한 수산 자원의 하나이다. 자연산의 경우 일반적으로 어두운 갈색 또는 어두운 녹색의 패각색을 나타낸다. 이것은 자연에 서식하는 규조 및 갈조류에 의한 영향으로 알려져 있다. 또한 양식산 전복은 종묘생산시기에는 인공 배양한 규조류 및 배합사료를 공급하고, 양성시에는 미역 및 다시마를 공급하여 패각색이 진한 녹색 또는 청녹색을 나타낸다. 따라서 오래전부터 전복의 패각색의 결정은 유전적인 요인이 아니라 환경적 요인에 의해 결정된다고 보고되었다 (Sakai, 1962; Ogino and Ohta, 1963).

Received: November 24, 2014; Revised: December 20, 2014; Accepted: December 26, 2014

Corresponding author : Choul Ji Park

Tel: +82 (55) 639-5812 e-mail: choulji@korea.kr
1225-3480/24553

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.

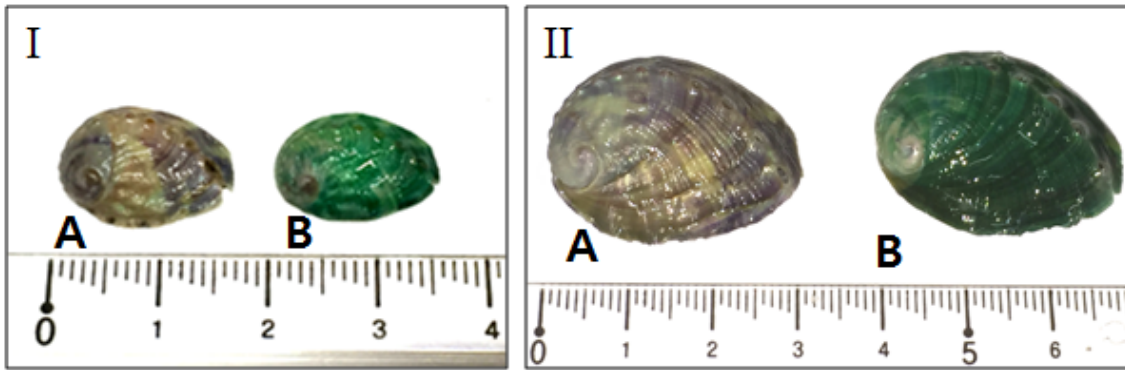


Fig. 1. Typical shell color variation of the juvenile of *Haliotis discus hannai* in the present study. I; 5 months after insemination, II; 10 months after insemination, A; Purple-colored type shell individuals, B; Green-colored type shell individual.

그러나 최근에 전복 패각색의 변이는 유전적 요인에 의한 것으로 보고하는 연구결과도 있다 (Kobayasi *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2009).

북방전복의 종묘생산 현장에서는 동일한 구조류 및 배합사료를 공급하더라도 백색, 오렌지색 및 보라색 등의 패각색 변이개체가 생산되는 것을 확인하는 경우가 많다. 이러한 패각색의 변이는 종묘생산 초기단계부터 녹색을 나타내는 일반전복과는 쉽게 구별이 가능하다.

본 연구는 보라색 패각색의 유전적 지배를 명확히 파악하는 것을 목적으로 하였으며, 환경적 요인과 유전적 요인을 명확히 구분하기 위하여 모든 실험구는 같은 사료를 공급하여 실험하였으며, 더욱이 환경적 요인을 최소화하기 위하여 동일동시에 생산된 4가계를 유생단계에서부터 혼합사육한 후 microsatellite DNA를 이용하여 친자확인으로 가계를 분리하여 가계간의 패각색의 분리를 확인하는 방법으로 수행하였다. 이러한 방법으로 패각색의 유전지배를 명확히 파악하게 되면 전복양식산업에 유용한 가지적 유적표식으로 활용이 가능할 것이라 생각된다.

재료 및 방법

1. 패각색의 구분 및 Mating system

본 연구에 사용된 실험재료는 북방전복으로 전형적인 녹색 패각을 나타내는 개체와 보라색패각을 나타내는 개체이다 (Fig. 1). Fig. 1의 I에 나타난 개체는 수정 후 5개월째의 패각으로 각장이 약 15 mm 전후의 개체이며, II에 나타난 개체는 수정 후 10개월째의 패각으로 각장이 약 30 mm 전후의 개체이다. 보라색패각 개체는 담홍색을 나타내는 개체 모두를 보라색패각 개체로 판정하였으며 반면에 녹색개체는 명확한 녹색 패각색을 나타내었다.

2004년 국립수산물과학원 패류육종연구센터에서 일반 종묘생

산을 실시한 결과 녹색패각 개체와 같이 보라색패각 개체가 극소수 생산되었다. 이 보라색패각 개체를 수집하여 사육관리 후 2006년에 암수 1:1 인공수정으로 가계를 생산한 결과 모든 개체가 보라색 패각을 나타내었다. 여기에서 생산된 보라색 패각 개체가 본 연구에 사용한 보라색패각 어미개체이다. 녹색패각 어미개체는 일반 종묘생산용 어미를 사용하였다.

2. 교배실험 및 사육관리

교배실험은 Fig. 2에 나타난 Mating system에 따라 가계를 생산하였으며 환경적인 요인을 최소화하기 위하여 생산된 각 교배구 모두 동일한 유생수를 계수하여 혼합사육을 실시하였다. 혼합사육 시작일로부터 3개월째까지는 파판에 부착한 부착구조로 관리하였으며 그 이후에는 배합사료를 주 3회 공급하여 관리하였다.

3. 패각색 표현형 확인을 위한 친자확인

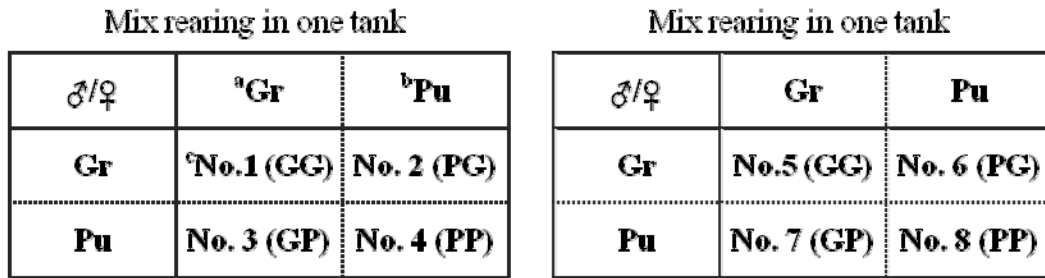
각 가계의 동일유생을 계수하여 4가계를 혼합사육 관리한 2개의 실험구에 대하여 각각 400마리를 무작위로 선택하여 Table 1에 나타난 6개의 microsatellite DNA 마커 (Hdh1321, Hdh512, Awb017, Hdh145, Awb098, Awb083) 를 사용하여 친자확인 실험을 실시하였다 (Li *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Sekino *et al.*, 2005). 그 결과를 토대로 가계간의 패각색의 표현형을 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 패각색의 분리

교배실험에 의한 패각색의 분리의 결과를 Table 2에 나타내었다. 교배형태가 ♀Gr × ♂Gr의 (Cross No. 1 and No 5) 자식은 모두 녹색 패각색으로 각각 111마리 및 48마리로 확인되었다. 또한 교배형태가 ♀Pu × ♂Gr 및 ♀Gr × ♂Pu의 경

May 2010 Mating



^a Green-clored shell, one of our breeding stocks at the Genetics Breeding Research Center
^b Purple-clored shell, one of our breeding stocks at the Genetics Breeding Research Center
^c Cross Number of each full sib family

Fig. 2. Mating experiment system in the present study.

Table 1. 6 microsatellite markers for offspring assigned

Locus	Repeat type	Primer sequences (5'-3')	Accession No.
<i>Hdh145</i>	(CA)7	F-TAGTTGTTGAACCTTTCTGTTG R-TAGACAAACAGAAAACCTCACC	AB091480
<i>Hdh512</i>	(GA)23	F-CCGAGATGTTTACAGAGAGA R-CACACTCGCTTTCTCACTCA	AB091482
<i>Hdh1321</i>	(CGCA)4(CA)18	F-TTCTGAGATGAGACGCACCAC R-TTGGCAGCAGGCGTCGTGT	AB084076
<i>Awb017</i>	(CA)16	F-ACATGTCGTGATTGTTTCCCAC R-TCCTGACCACATACTGTTCACATTAG	AB177912
<i>Awb083</i>	(ATC)8	F-GCTTAGAAGGGACATAACTCGCAATA R-AATAGACATTCTACAAGCGAGGAAA	AB177936
<i>Awb098</i>	(AC)13	F-ACATGGAAGTGCAGTCTCTAGAAGC R-TGATTATTTTCAGATCGCCGTCATA	AB177937

우에 있어서도 (Cross No. 2, 3, 6 and 7) 모든 자식개체의 패각색은 녹색으로 각각 56마리, 68마리, 149마리 및 57마리가 확인되었다. 반면, ♀Pu × ♂Pu의 교배구 (Cross No. 4 and No. 8) 는 모든 자식개체의 패각색은 보라색으로 각각 165마리 및 146마리로 확인되었다.

2. 패각색의 유전적 지배

패각색의 표현형 분리를 확인한 결과, 패각색은 녹색이 우성, 보라색이 열성형질이라 생각된다. 이와 같은 가설을 토대로 보라색패각형의 유전지배를 설명하여 보면, 녹색패각형의 어미개체는 녹색의 우성 동형접합체, 보라색패각형의 어미개체는 보라색 열성 동형접합체로, 교배구 No. 1과 No. 5의 자식은 모두 녹색 우성 동형접합체로 녹색패각형을 나타내고 있

며, 교배구 No. 2, No. 3, No. 6, No. 7의 자식은 모두 녹색 패각형으로 나타나는 이형접합체이다. 또한 교배구 No. 4와 No. 8의 자식은 열성 동형접합체로 모두 보라색패각형을 나타내게 된다. 즉, 보라색패각형의 유전지배는 녹색이 우성형질이며 보라색이 열성형질로 1개의 유전자좌에 대하여 2개의 대립 유전자에 의해 결정된다고 설명될 수 있다.

이러한 1개의 유전자좌에 대한 2개의 대립유전자의 유전지배는 Kobayasi *et al.* (2004) 의 백색패각형 및 Liu *et al.* (2009) 의 오랜지색패각형의 유전적 지배와 동일하게 나타났다.

3. 패각색 변이의 활용

보라색 패각변이는 가시적인 유전적 마커로서 유전학적 응

Table 2. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family

Cross No.	Cross type	observed number	
		Gr	Pu
1	♀Gr × ♂Gr	111	
2	♀Pu × ♂Gr	56	
3	♀Gr × ♂Pu	68	
4	♀Pu × ♂Pu		165
5	♀Gr × ♂Gr	48	
6	♀Pu × ♂Gr	149	
7	♀Gr × ♂Pu	57	
8	♀Pu × ♂Pu		146

용 가치가 매우 높은 것으로 생각된다. 최근 고변이 유전표식으로 microsatellite DNA를 이용한 친자확인 및 개체식별 등이 가능하게 되었지만, 특정한 전복종묘나 대량의 전복종묘의 구별이 필요할 경우 패각색의 변이를 이용하여 식별할 수 있다면 매우 경제적이며 간편성에 있어서도 매우 유용하게 활용 할 수 있을 것이라 생각된다. 그러나 보라색패각의 유전적 지배를 보면, ♀Pu × ♂Pu와 같이 암수 모두 보라색패각으로 열성 동형접합체로 이루어졌을 경우에만 만들어진다. 이것은 동형접합체를 높일 수 있으며, 이에 따른 근친교배 등의 문제를 고려할 필요가 있다. 즉, 패각색과 함께 경제형질인 성장을 같이 분석하여 연관성이 있는지를 파악할 필요가 있다.

요 약

본 연구는 북방전복의 보라색패각색의 유전적 지배를 명확히 파악하는 것을 목적으로 하였다. 환경적 요인과 유전적 요인을 명확히 구분하기 위하여 모든 실험구는 같은 사료를 공급하여 실험 하였으며, 또한 동시에 생산된 4가계를 혼합사육한 후 microsatellite DNA를 이용하여 친자확인으로 가계를 분리하여 가계간의 패각색의 분리를 확인하였다. 그 결과, 교배 형태가 ♀Gr × ♂Gr (GG type), ♀Pu × ♂Gr (PG type) 및 ♀Gr × ♂Pu (GP type) 의 경우 모든 자식개체의 패각색은 녹색으로 나타난 반면, ♀Pu × ♂Pu (PP type) 의 교배구의 모든 자식개체는 보라색패각형으로 나타났다. 따라서 패각색 형태는 녹색이 우성, 보라색이 열성형질로 가정할 경우 패각색의 표현형 분리의 설명이 가능하며, 보라색패각색의 유전적 지배는 1개의 유전자좌에 대하여 2개의 대립유전자에 의해 결정된다고 생각된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 (RP-2014-BT-050) 의 지원에 의해 연구 되었습니다.

REFERENCES

Adamkewicz, L. and Castagna, M. (1988) Genetics of shell color and pattern in the bay scallop *Argopecten irradians*. *Journal of Heredity*, **79**: 14-17.

Cole, T.J. (1975) Inheritance of juvenile shell colour of the oyster drill, *Urosalpinx cinerea*. *Nature*, **257**: 794-795.

Cowie, R.H. (1990) Climatic selection on body colour in the land snail *Theba pisana* (Pulmonata:Helicidae). *Heredity*, **65**: 123-126.

Fujiwara, M. (1995) Inheritance of yellow coloration of the shell in the cockle *Fulvia mutica*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **61**: 927-928.

Heath, D.J. (1975) Colour, sunlight and internal temperatures in the land-snail *Cepaea nemoralis* (L.). *Oecologia*, **19**: 29-38.

Hoagland, K.E. (1977) A gastropod color polymorphism: one adaptive strategy of phenotypic variation. *The Biological Bulletin*, **152**: 360-372.

Innes, D.J. and Haley, L.E. (1977) Inheritance of a shell color polymorphism in the mussel. *Journal of Heredity*, **68**: 203-204.

Kobayashi, T., Kawahara, I., Hasekura, O., Kijima, A. (2004) Genetic control of bluish shell color variation in the Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, **23**: 1153-1156.

Li, Q., Park, C., Kijima, A. (2002) Isolation and characterization of microsatellite loci in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, **21**: 811-815.

Liu, X., Wu, F., Zhao, H., Zhang, G., Guo, X. (2009) A novel shell color variant of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* ino subject to genetic control and dietary influence. *Journal of Shellfish Research*, **28**: 419-424

Ogino, C. and Ohta, E. (1963) Studies on the nutrition of abalone-I. Feeding trials of abalone, *Haliotis discus* Reeve, with artificial diets. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, **29**: 691-694.

Park, C.J., Li, Q., Kobayashi, T., Kijima, A. (2003) Characterization novel microsatellite DNA marker in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Fish*

- genetics and Breeding science*, **33**: 19-24.
- Precht, H. and Plett, A. (1979) The influence of environmental factors on animal. III. Salinity. *Zoologischer Anzeiger*, **202**: 425-436.
- Raffaelli, D. (1982) Recent ecological research on some European species of *Littorina*. *The Journal of Molluscan Studies*, **48**: 342-354.
- Sakai, S. (1962) Ecological studies on the abalone, *Haliotis discus hannai* Ino-I. Experimental studies on the food habit. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **28**: 766-779.
- Sekino, M., Saido, T., Fujita, T., Kobayashi, T., Takami, H. (2005) Microsatellite DNA markers of Ezo abalone (*Haliotis discus hannai*): a preliminary assessment of natural populations sampled from heavily stocked areas. *Aquaculture*, **243**: 33-47.
- Sokolova, I.M. and Berger, V.J. (2000) Physiological variation related to shell colour polymorphism in White Sea *Littorina saxatilis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **245**: 1-23.