

한국산 백합과 5종의 유전적 유연관계

정형택 · 김 정¹ · 신종암 · 서호영 · 최상덕*
여수대학교 수산생명과학부, 수산증양식연구센터

Genetic Relationship of the Five Venerid Clams' (Bivalvia, Veneridae) in Korea

Hyung Taek Jung, Jung Kim¹, Jong Ahm Shin, Ho Young Soh and Sang Duk Choi*

Division of Aqualife Science, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea
¹Aquaculture Research Center, Yosu National University, Yosu 550-900, Korea

The random amplified polymorphic DNAs (RAPD) technique was used to characterize the genetic relationship of five species from in the family of Veneridae which is one of the commercially important clam family in Korea. The veneride clams' DNA were extracted from adductor muscular by the proteinase K-phenol method. Among 20 primers, 15 unit primers were amplified and produced at least, 2 or 3 from the top band. Genetic similarity between the purplish washington, *Saxidomus purpuratus* and the hard clam, *Meretrix lusoria* was the highest (0.87); the lowest genetic similarity (0.46) was formed between the little clam, *Ruditapes philippinarum* and the purplish washington, *S. purpuratus*. The genetic relationship between the venus clam, *Protothaca jedoensis* and the little clam, *R. philippinarum* was a closer than those between others. These results may indicate that the method of artificial seeding production of *P. jedoensis* for the propagation of resources can be focused on *R. philippinarum*.

Keywords: Genetic relationship, *Meretrix lusoria*, *Protothaca jedoensis*, Random amplified polymorphic DNAs, *Ruditapes philippinarum*, *Saxidomus purpuratus*, Veneridae

서 론

백합과(Veneridae)는 연안의 조간대부터 수심 20 m까지 해저 퇴적물 입자가 거친 모래지역에 서식하는 산업상 중요한 식용 이매패류이다(Kwon et al., 1993). 그럼에도 불구하고 우리나라의 백합과에 대한 연구는 주로 생태 및 성장 그리고 생식주기에 한정되어 있을 뿐, 백합과에 대한 체계적인 분류나 종의 동정 그리고 효율적인 자원 관리와 조성을 위한 연구는 미흡한 실정이다. 특히, 조개류와 같은 저서동물의 형태적 특징은 수심, 수온, 염분, 용존산소, 유기물질, 탁도, 퇴적상 등과 같은 환경요인에 크게 영향을 받기 때문에 서식지 주변의 환경과 지리적 차이에 따라 표현형이 다르게 나타난다(Yoo, 1970; Yoo, 1976; Lim et al., 1992). 일반적으로 패류는 개체변이가 심하고 동일 종 내에서도 유전자 조성이 서로 다른 지역변이종이 많은 것으로 보고되어져 있다. 또한 대부분이 이동성이 적은 정착성이기 때문에 유사종 혹은 집단간의 변종 및 아종이 발생할 가능성이 상당히 높은 것으로 알려져 있다(MOMAF, 2000). 그러므로 조

개류의 정확한 동정 및 지리적 집단의 구조와 특성을 해명하기 위해서는 환경의 영향을 상대적으로 덜 받는 종 특이적인 유전적 표지의 개발이 필요하다. 이러한 특성을 이용하여 최근에 분자 생물학적 방법을 이용한 DNA 표지들이 집단 개체군들의 유전적 특성의 해명을 위해 매우 유용한 것으로 확인되었다(Avise, 1994). 수산생물 분야에서도 DNA 표지이나 특정 DNA probe를 개발하여 종동정 뿐만 아니라, 각 집단의 유전적 변이성과 지리적 집단 간의 유전적 유연관계도 추정하고 있다(O'Reilly and Wright, 1995).

본 실험에서 사용된 유전자 다형 분석인 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 방법은 10개의 염기서열을 가진 random primer에 의해 생성된 PCR 산물을 이용하여 유전자를 분석하는 방법으로서, band의 다형성과 이동도를 바탕으로 종간 및 종내 개체간의 유연관계를 추정할 수 있으며, 짧은 시간 내에 많은 수의 시료를 분석할 수 있고 실험조작이 간편하다(Chee et al., 2001). 그리고 단 하나의 DNA 절편까지도 증폭되어 밴드로 나타날 수 있을 정도로 그 감응도가 높기 때문에, 소량의 DNA만을 사용하여도 수행이 가능하므로 종 및 품종의 분자생물학적 분류 및 집단간 다양성 연구에 널리 이용되고 있다

*Corresponding author: choisd@yosu.ac.kr

(Williams et al., 1990, 1993). 또한 이 방법은 유전자 수준에서의 종간 혹은 개체간 대상생물의 자세한 유전정보가 알려져 있지 않아도 임의의 primer 등을 사용하여 특정 유전자 부분의 증폭 및 증폭된 DNA 절편을 비교함으로써 쉽게 종간 혹은 개체간의 유전적 유사도를 구할 수 있다(Goodwin and Annis, 1991; Fekete et al., 1992; Patwary et al., 1993, 1994; Dutcher and Kapraun, 1994; Ho et al., 1995). 이러한 장점 때문에 RAPD-PCR방법은 DNA를 사용하는 유전적 연구에서 주로 생물의 형태적 종간변이를 유전적으로 구분짓는데 효과적으로 사용되어 왔다(Cactano-Anolles et al., 1991; Hadrys et al., 1992; Patwary et al., 1993; Tingey and del Tufo, 1993; Baradakci and Skibinski, 1994; Dutcher and Kapaum, 1994; Cho et al., 1997). 최근에는 이러한 RAPD-PCR 기법이 지역개체군에 대한 유전적 차이를 밝히는 연구에까지 이용되고 있다(Patwary et al., 1993, 1994; Lee et al., 1997; Yokogawa, 1997; Lee, 2000). 또한 해양수산부, MOMAF (2000)는 우리나라의 중요양식 패류인 굴류, 전복류, 가리비류의 유사품종간의 종간변이를 밝히는데 이 방법이 유용할 수 있음을 보고하였다.

따라서, 본 연구에서는 패류양식의 활성화를 위해 새로운 양식대상종으로 개발 가능성이 높은 백합과 5종(백합, *Meretrix lusoria*, 바지락, *Ruditapes philippinarum*, 가무락조개, *Cyclina sinensis*, 개조개, *Saxidomus purpuratus*, 살조개, *Protothaca jadoensis*)의 유전학적 집단구조분석을 위한 기초자료를 얻기 위하여 RAPD-PCR방법을 이용, RAPD 밴드 패턴 비교에 의한 백합과 5종간의 종간 유전적 유연관계를 밝혀보고자 한다.

재료 및 방법

시료

살조개는 전남 고흥군 봉래면, 바지락과 백합은 전남 강진군 도암면, 개조개는 전남 여수시 가막만, 가무락조개는 여수시 울촌면에서 채집하였다(Fig. 1). 시료 채취 후 ice box에 넣어 실험실로 운반한 다음 각장, 각고, 각폭, 육중량을 측정하고 탈각 후 이물질을 제거한 후, 육질부와 내장부를 분리하고 육질부에서도 폐각근 부분을 분석시료로 사용하였다(Table 1).

분리된 폐각근 시료의 이물질 제거를 위하여 여과해수에 5회, 미생물 살균을 위해 70% 알콜에 2회, DNA추출시 저해 요인인 염제거를 위해 증류수로 3회 세척한 후 -80°C에 보관하였다.

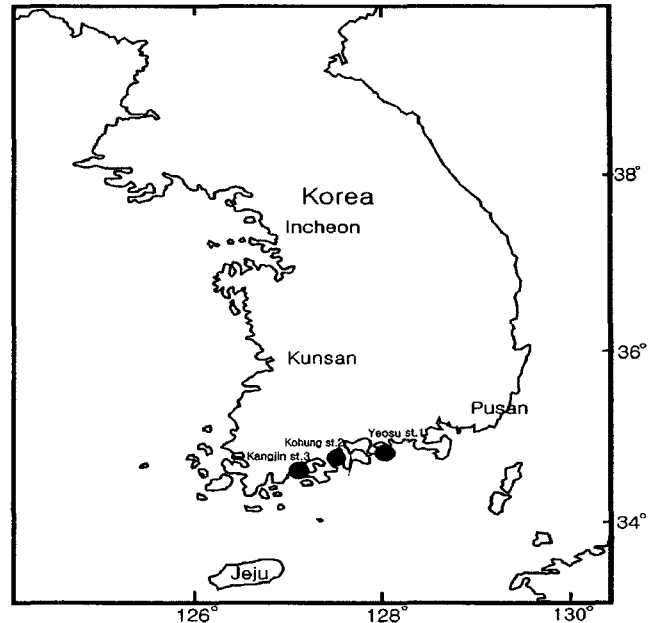


Fig. 1. Map showing the sampling sites (●) of five Veneridae species. Site. 1, Yeosu: *Protothaca jadoensis*, *Saxidomus purpuratus*, *Cyclina sinensis*. Site. 2, Kohung: *Protothaca jadoensis*. Site. 3, Kangjin: *Meretrix lusoria*, *Ruditapes philippinarum*.

DNA 추출에 따른 정량 및 순도(Proteinase K Method)

시료의 폐각근 조직을 액체질소가 든 막자사발에서 분쇄한 후, microtube에 시료 50-100 mg을 정량하여 extraction buffer (10 mM Tris-Cl, 0.1M EDTA, 20 mg/ml pancreatic RNase A, 0.5% SDS)와 함께 37°C에서 1시간 반응을 시켰다. 그 후 Proteinase K를 최종농도 100 mg/ml로 가한 다음 50°C 수조에서 3시간 동안 방치하였다. Tube를 꺼내어 상온이 되도록 식힌 후 Phenol: Chlorform: Isoamylalcohol=25:24:1을 1 Volum첨가하여 15,000 rpm으로 상온에서 5분간 원심분리하여 당분과 단백질질을 제거하였다. 상등액에 10 M ammonium acetate 10 μ l와 -20°C, 100% 에탄올을 2 Volum 첨가하여 -20°C에서 30분간 방치한 후, 15,000 rpm으로 4°C에서 5분간 원심분리하여 DNA를 침전시킨다. DNA 침전물을 70% 에탄올로 세정한 후 15,000 rpm으로 4°C에서 5분간 원심분리하여 다시 DNA를 침전시킨 후 25 μ l 3차 멸균증류수에 녹여서 4°C에 보관하였다(Jackson et al., 1991; Klinbunga et al., 2000). DNA 정량 및 순도는 OD₂₆₀/OD₂₈₀을 이용하여 측정하였다.

Table 1. Shell size and body weight of five species of the family Veneridae were sampled randomly from three sites of the Korean coasts for RAPD-PCR analysis

Species	Shell length (mm)	Shell height (mm)	Shell width (mm)	Body weight (g)
<i>Protothaca jadoensis</i>	46.26±3.68	37.07±4.76	26.35±2.18	6.11±1.12
<i>Ruditapes philippinarum</i>	36.95±2.23	25.55±2.09	17.58±1.10	3.83±0.71
<i>Meretrix lusoria</i>	73.41±6.05	59.98±4.40	38.61±3.01	19.69±4.54
<i>Saxidomus purpuratus</i>	79.29±4.37	61.90±2.61	42.46±1.61	48.08±4.16
<i>Cyclina sinensis</i>	51.69±2.09	53.33±3.18	33.25±3.32	13.34±2.07

Table 2. DNA concentration extracted from adductor muscle tissues of specimens of the family Veneridae

Species	DNA ($\mu\text{g/g}$)	$A_{260/280}$
<i>Protothaca jedoensis</i>	6.4	1.76
<i>Ruditapes philippinarum</i>	7.2	1.55
<i>Meretrix lusoria</i>	5.7	1.64
<i>Saxidomus purpuratus</i>	6.2	1.74
<i>Cyclina sinensis</i>	6.7	1.63

Primer

20가지로된 10-mer arbitrary primer Kits A (Operon Technologies Inc., California)중에서 A1-A20의 primer를 이용하여 PCR반응을 하였다(Table 3).

PCR 반응조건

20 μl 의 PCR반응액은 Premix-Top (Bioneer)을 사용하여 1 μl 의 template DNA (3 ng/ μl), 1 μl 의 primer (5 pM/ μl)와 3차 멸균증류수 18 μl 첨가하여 구성하였으며 GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer Applied Biosystems)을 사용하여 94°C에서 5분간 1회 변성한 후, 94°C에서 30초간 변성, 34°C에서 1분간 결합, 72°C에서 1분간 신장을 40회 실시하고 나서, 최종 72°C에서 5분간 신장하였다.

Agarose gel 전기영동

형광물질(Ethidium bromide)로 염색한 PCR 증폭산물은 1% agarose gel에서 30분간 전기영동한 후(100V), UV transilluminator 위에서 육안으로 밴드를 확인 후 디지털카메라로 촬영하였다.

유전적 유사도 분석

유전적 유사도는 predominant band가 각 개체에 대하여 동일하게 생성되는지의 여부에 따라 구해졌다. 유사도값은 Jaccard의 식에 따라 $J_{ij} = C_{ij} / (n_i + n_j - C_{ij})$ 로 계산하였다(Table 4), 여기서 C_{ij} 는 비교되는 두 개체 모두에서 나타나는 공통된 band들의 수이고, n_i, n_j 는 각각 비교되는 두지역에서 나타나는 총 band수이다(Sneath and Sokal, 1973). 이 유사도 값을 이용해 개체간 유사관계가 완전히 일치하는 경우를 1로, 불일치하는 경우를 0으로 하여 유전적 유사 정도를 표시하였다(Nei, 1987; Magurram, 1988). 종간 계통유연관계는 비가중산술결합법(UPGMA)을 이용하여 분석하였다.

결 과

각 종별 DNA의 정량 및 순도

Proteinase K-phenol추출법에 따라 추출된 DNA의 agarose gel 전기영동 결과 모든 시료에서 DNA의 분자량이 23 kb보다 높게 나타났으며, 다량의 RNA도 함께 추출되었다(Fig. 2). 폐각근의 근육조직에서 추출된 각 종별 DNA 검출량은 살조개 6.4 $\mu\text{g/g}$, 바지락 7.2 $\mu\text{g/g}$, 백합 5.7 $\mu\text{g/g}$, 개조개 6.2 $\mu\text{g/g}$, 가무락조개 6.7 $\mu\text{g/g}$ 으로 추출되어 바지락에서 가장 많은 DNA가 추출되었다. 그리고 OD_{260}/OD_{280} 측정결과 살조개 1.76, 바지락 1.55, 백합 1.64, 개조개 1.74, 가무락조개 1.63으로 살조개가 가장 단백질 오염이 적게 나타났으며, 대부분의 종에서 단백질의 혼입이 적게 나타났다(Table 2). 주형 DNA 농도별 PCR 생성물을 확인한 결과 주형 DNA의 농도는 20 ng/ μl 농도가 PCR

Table 3. Size, sequence, G+C content and melting temperature of tested arbitrary primers

Primer	Size (mer)	Sequence	G+C content (%)	T_m (°C)	Number of PCR products
OPA-01	10	5'-CAGGCCCTTC	70	34	1
OPA-02	10	5'-TGCCGAGCTG	70	34	1
OPA-03	10	5'-AGTCAGCCAC	60	32	0
OPA-04	10	5'-AATCGGGCTG	60	32	2
OPA-05	10	5'-AGGGGTCTTG	60	32	2
OPA-06	10	5'-GGTCCCTGAC	70	34	2
OPA-07	10	5'-GAAACGGGTG	60	32	1
OPA-08	10	5'-GTGACGTAGG	60	32	1
OPA-09	10	5'-GGGTAACGCC	70	34	0
OPA-10	10	5'-GTGATCGCAG	60	32	0
OPA-11	10	5'-CAATCGCCGT	60	32	2
OPA-12	10	5'-TCGGCGATAG	60	32	1
OPA-13	10	5'-CAGCACCCAC	70	34	2
OPA-14	10	5'-TCTGTGCTGG	60	32	3
OPA-15	10	5'-TTCCGAACCC	60	32	1
OPA-16	10	5'-AGCCAGCGAA	60	32	1
OPA-17	10	5'-GACCGCTTGT	60	32	0
OPA-18	10	5'-AGGTGACCGT	60	32	1
OPA-19	10	5'-CAAACGTCGG	60	32	2
OPA-20	10	5'-GTTGCGATCC	60	32	0

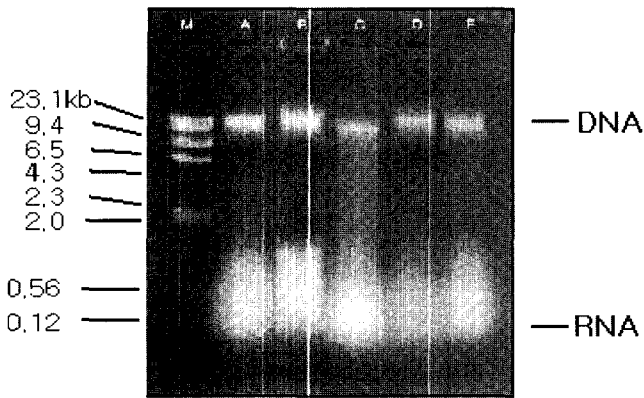


Fig. 2. Electrophoretic patterns of total DNAs from tissue of the family Veneridae. M: λ /hindIII, A: *P. jedoensis*, B: *R. philippinarum*, C: *M. lusoria*, D: *S. purpuratus*, E: *C. sinensis*.

생성물을 일정하게 생성하였으므로 가장 이상적인 농도를 결정하였다.

종별 polymorphic pattern

각 종별 샘플을 폐각근 조직에서 추출된 DNA (Table 2)를 20 ng/ μ l 농도로 조절한 후 10개의 염기로 구성된 arbitrary primer 20 종류를 단일로 사용하여 PCR반응을 시켰다. 실험결과 primer OPA-03, 09, 10, 17, 20을 제외한 15개의 단일 primer에서 증폭이 일어났고, primer의 종류에 따라 개체별 최소 1에서 최대 3의 band가 생성되었다(Table 3). PCR 반응 생성물은 primer의 종류에 따라 유사한 패턴 및 특이적인 1개의 패턴, 또는 다양한 패턴을 나타내었다(Fig. 3, 4).

각 종별 개체간 유사도

백합과 5종에 관하여 유전적 유사도를 분석한 결과 살조개, *P. jedoensis*와 바지락, *R. philippinarum*간에는 0.84, 개조개,

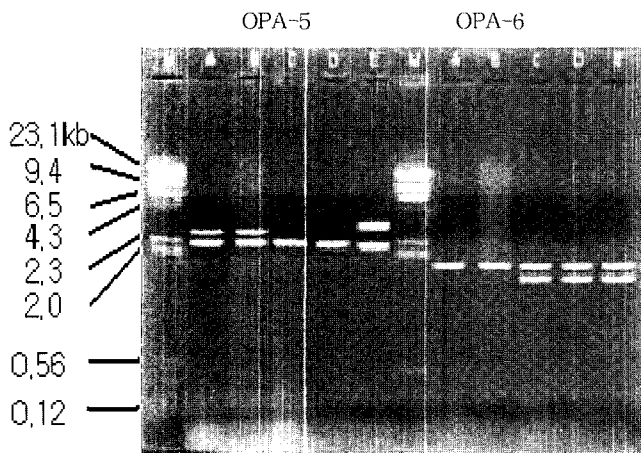


Fig. 3. Gel photo showing random amplified polymorphic DNAs of the family Veneridae using arbitrary OPA-5 and OPA-6. M: λ /hindIII, A: *P. jedoensis*, B: *R. philippinarum*, C: *M. lusoria*, D: *S. purpuratus*, E: *C. sinensis*.

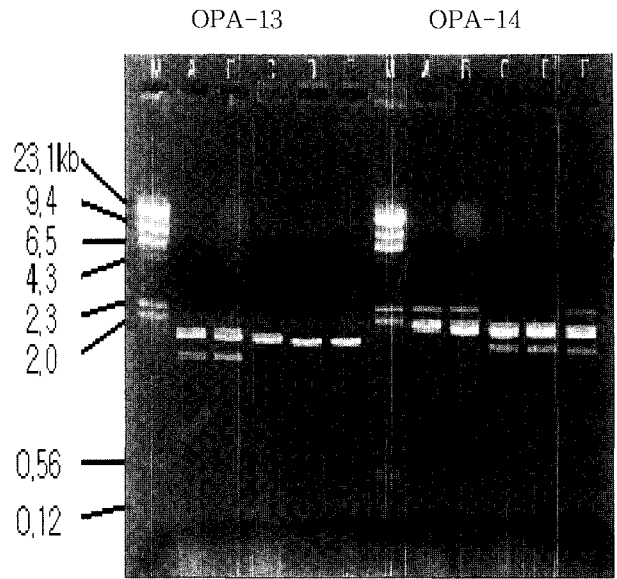


Fig. 4. Gel photo showing random amplified polymorphic DNAs of using arbitrary OPA-13 and OPA-14. M: λ /hindIII, A: *P. jedoensis*, B: *R. philippinarum*, C: *M. lusoria*, D: *S. purpuratus*, E: *C. sinensis*.

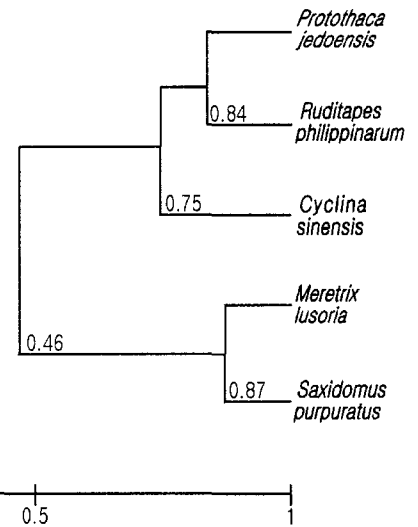


Fig. 5. UPGMA dendrogram based on the similarity matrix data.

*S. purpuratus*와 백합, *M. lusoria* 간에는 0.87로 각각의 두종간에는 높은 유사도를 보여 종별 유전적 유사도가 높게 나타났다. 그러나 가무락조개, *C. sinensis*는 살조개와 바지락간에 0.78의 유사도를 보였으며, 개조개와 백합, 살조개, 바지락, 가무락조개 간에는 0.46의 비교적 낮은 유사도를 보였다(Fig. 5).

고 찰

패류에 있어서 DNA추출은 폐각근으로부터 쉽게 분리되고, DNA 용해가 쉽고 수율이 높다는 이유로 폐각근을 사용하는 것이 일반적으로 적용되고 있으며(Patwary et al., 1994), 본 연구

Table 4. Similarity matrix based on the Jaccard's equation

Species	A	B	C	D	E
A	-				
B	0.84	-			
C	0.63	0.67	-		
D	0.67	0.62	0.87	-	
E	0.77	0.73	0.71	0.69	-

Roman A to E represent the species names analyzes in the study, respectively.

A: *P. jedoensis*, B: *R. philippinarum*, C: *M. lusoria*, D: *S. purpuratus*, E: *C. sinensis*.

에서도 이 방법에 따른 DNA 추출은 폐각근으로부터 성공적으로 추출할 수 있었다. DNA분자량도 23 kb이상의 큰 유전자들을 획득할 수 있었으므로 PCR주형으로는 충분한 크기였다 (Sogin, 1990). 이 방법에 의한 총 DNA의 추출원액은 A_{260/280} 상에서 1.55~1.76 정도로 나타나 단백질의 혼입을 볼 수 없었다. 그리고 동시에 많은 양의 RNA도 함께 추출되어지므로 앞으로 RT-PCR의 주형으로도 충분히 이용될 수 있으리라 사료되어진다(Hong et al., 1995).

RAPD-PCR방법을 이용한 유전적 분석은 유전적 연구에서 비교적 빠르고 경제적인 이유로 많은 연구자들에 의해 선호되는 연구방법이며, 주로 생물의 형태적 중간변이를 유전적으로 구분짓는데 효과적으로 사용되어 왔으나(Baradakci and Skibinski, 1994; Dutcher and Kapraun, 1994; Cho et al., 1997), Sundberg and Andersson (1995)은 *Oerstedtia dorsalis* (Nemertea) 종내 외부형태의 차이에 대한 유전적 차이점을 찾아내지 못하여 RAPD-PCR방법이 종내변이(intraspecific variation)를 분석하는 데는 효율적이지 못함을 밝혔다. 본 연구에서 또한 백합과 5종내의 종내변이를 분석하는 데는 미약한 부분을 보였다. 현재 국내에서는 이매패류에 있어서 이러한 RAPD 연구결과들이 부족한 상태이며, Yoon et al. (2003)에 의한 Marsh Clam (*Corbicula leana*)과 Chee et al. (2001)에 의한 가리비 3종에 대한 유전적 유연관계에 대한 연구가 이루어진 상태이다. Patwary et al. (1994)는 sea scallop의 유전적 구조를 이해하는데 이 방법을 사용하였는데, 집단조사에서 RAPD 유전자 좌위에 있는 positive 와 negative allele (대립유전자)에 대한 빈도는 Hardy-Weinberg 식에 따라 계산되어 질 수 있기 때문에 sea scallop 집단의 유전적 구조를 이해하는 부가적인 수단으로 사용 가능함을 제시하였다. 그러나, 본 실험에서는 유전자 좌위에 있는 대립유전자에 대한 빈도를 구하지는 않았으나, 살조개를 비롯한 백합과 5종에 대한 집단 유전적 구조를 더욱 명확하게 이해하기 위해서는 차후 보강되어야할 부분으로 사료된다. Lee et al. (1997)는 중국산과 한국산 피조개간의 유전적 유사도가 0.29로 낮고 두 집단간 유전적 구별이 명확함을 제시하였다. 또한 개체별 유사도가 높은 지역은 inbreeding에 의한 것으로 추정하였다. 하지만 본 실험에서는 채집장소의 국한으로 지역간 유전적 유

사도를 구할 수 없었다. 그러나 Parker (2000)는 *P. staminea*의 개체군은 지역간 유전적 구별이 명확하다고 보고하였다. 이러한 사실은 백합과 5종 지역간의 폐각의 크기 및 분포지역이 다양하게 나타남을 고려할 때, 보다 정확한 종의 동정을 위해서는 지역개체군간의 유전적 차이점을 조사해 보아야 될 것으로 사료된다.

본 연구결과에서는 백합과 5종에 관하여 유전적 유사도를 분석하여 살조개와 바지락간 그리고 개조개와 백합간에는 아주 높은 유전적 유사도를 보였다. 가무락조개는 살조개와 바지락간에 비교적 높은 유전적 유사도를 보였으며, 개조개와 백합, 살조개, 바지락, 가무락조개간에는 아주 낮은 유전적 유사도를 보였다(Fig. 5). 또한 Kim et al. (2002)은 살조개와 바지락간의 서식환경이 유사하며 혼생하고 있다고 보고하였다. 백합과 5종에 대한 형태적 유사도 값 또한 살조개와 바지락 사이에 0.56으로 가장 높았다(Kim, 2002). 이처럼 살조개와 바지락의 형태적 및 유전적 유사도가 높게 나오는 것은 그들의 계통유연 관계가 다른 종에 비해 매우 밀접함을 의미한다. 그러므로 살조개의 자원증식을 위한 인공종묘생산을 시도하고자 한다면 근연관계가 가장 가까운 바지락을 중심으로 한 활용방안을 모색해 보아야 할 것으로 사료된다. 그럼에도 불구하고 바지락과 살조개가 유사한 서식환경에서 혼생할 수 있는 것은 그들의 생태적 차이에 기인할 수 있다.

한편 RAPD 방법은 Chee et al. (2001)에 의해 제안된 것처럼 광범위한 DNA 분석이 가능하므로 종간의 유전적 유사성을 간단히 비교할 수 있는 장점이 있으나, 분자 진화과정에 대한 정보는 제공하지 못하는 단점을 가지고 있다. 따라서 이러한 단점은 MtCOI, 18S rDNA 그리고 microsatellite 같은 DNA 염기서열 분석방법과 병행 사용함으로써 RAPD PCR에서 단점으로 지적되어온 분자 진화 과정의 시간 반영을 더욱 명확하게 보여 줄 수 있을 것이라 생각된다.

결론적으로 백합과 5종의 RAPD-PCR 방법은 Chee et al. (2001)이 가리비류에서의 제안처럼 한국 연안에 서식하는 백합과 5종에 대한 유전적 특이성을 구명하고, 우리나라 연안의 백합과 5종에 대한 종 보존의 측면에서 매우 유용한 표지인자가 될 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 또한, 이러한 분자유전 표지의 확보는 모패 계통의 성장률 차이나 사망률과 같은 특성의 차이를 구명하여 양식품종으로 기대되는 백합과 5종 양식산업에서 성장에 강한 우수형질의 선발과 백합과 5종의 품종 개발에 필요한 자료가 될 수 있을 것이다.

요 약

산업적 가치가 높고 양식 가능성이 있는 백합과 5종을 대상으로 RAPD방법을 이용한 개체간의 유전적 유연관계를 조사하였다. DNA 추출은 proteinase K-phenol방법을 사용하여 각 종의 후폐각근에서 추출하였다. RAPD-PCR결과 15개의 primer

들이 증폭되었고, 그들로부터 각각 1-3개의 band를 볼 수 있었다. 백합과 5종간 유전적 유사도는 살조개와 바지락간에는 0.84, 개조개와 백합간에는 0.87로 각각의 두 종간에는 높은 유사도를 보였고, 가무락조개는 살조개와 바지락간 0.78의 유사도를 보였으며, 개조개와 백합, 살조개, 바지락, 가무락조개간에는 0.46의 비교적 낮은 유전적 유사도를 보였다. RAPD 방법으로 종내개체 유전변이를 파악하기는 힘들어도, 양식이나 자원증식을 위한 패류의 우수형질 선택에 있어 기본 정보를 제공할 수 있는 있을 것이다. 또한, 살조개 대량종묘생산의 방법은 유전적 유사도가 가장 가까운 바지락을 중심으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Avise, J. C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York, 511 pp.
- Baradakci, F. and D. O. F. Skibinski, 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: Species and subspecies identification. *Heredity*, **73**: 117-123.
- Caetano-Anolles, G., B. J. Bassam and P. M. Gresshoff, 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio. Tech.*, **9**: 553-557.
- Chee, H. Y., Y. K. Kim and Y. J. Park, 2001. Genetic relationship among three scallop species, *Chlamys farreri farreri*, *Patinopecten yessoensis* and *Agropecten irradians*, using RAPD markers. *J. Malacol*, **17**(1): 1-6.
- Cho, Y. C., J. W. Park., H. J. Jin., B. H. Nam., C. H. Sohn and Y. K. Hong, 1997. RAPD identification of genetic variation in ulvaes seaweed. *J. Korean Fish. Soc.*, **30**(3): 388-392.
- Dutcher, J. A. and D. F. Kapraun, 1994. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) identification of genetic variation in three species of *Porphyra* (Bangiales: Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.*, **6**: 267-273.
- Fekete, A., J. A. Bantle., S. M. Halling and R. W. Stich, 1992. Amplification fragment length polymorphism in *Brucella* strains by use of polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J. Bacteriol.*, **174**: 7778-7783.
- Goodwin, P. H. and S. L. Annis, 1991. Rapid identification of genetic variation and phenotype of *Leptosphaeria maculans* by random amplified polymorphic DNA assay. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**: 2482-2486.
- Hadrys, H., M. Balick and B. Schierwater, 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Mol. Ecol.*, **1**: 55-63.
- Ho, C. L., S. M. Phang and T. Pang, 1995. Molecular characterization of *Sargassum polycystum* and *S. siliquosum* (Phaeophyta) by polymerase chain reaction DNA (RAPD) primers. *J. Appl. Phycol.*, **7**: 33-42.
- Hong, Y. K., S. D. Kim., M. Polne-Fuller and A. Gibor, 1995. DNA extraction conditions from *Porphyra perforata* using LiCl. *J. Appl. Phycol.*, **7**: 101-107.
- Jackson, D. P., J. D. Hayden and P. Quirke, 1991. Extraction of nucleic acid from fresh and archival material. In PCR: A practical approach, M. J. Mcpherson, P. Quirke and G. R. Taylor, eds. IRL Press, New York, pp. 1-49.
- Kim, J., 2002. Studies on the phylogenetic relationship and reproductive cycle of the venus clam, *Protothaca jedoensis* in Korea, Ph.D thesis. Yosu Nat'l Univ. 169 pp.
- Kim, J., H. S. Yoon., S. J. Rha., S. Y. Moon., H. Y. Soh., K. J. Choi and S. D. Choi, 2002. Reproductive cycle of venus of clam, *Protothaca jedoensis* (Bivalvia: Veneridae) in Korea. *J. Environ. Biology*, **20**(3): 245-255.
- Klinbunga, S., Ampayup, P., Tassanakajon, A., Jarayabhand, P. and W. Yoosukh, 2000. Development of species-specific markers of the tropical oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand. *Mar. Biotechnol*, **2**: 476-484.
- Kwon, O. K., K. M. Park and J. S. Lee, 1993. Coloured Shells of Korea. Academy Publishing Co., Seoul, 371 pp.
- Lee, J. M., J. W. Park., M. S. Yoo and Y. G. Hong, 1997. Morphological characters and genetic diversity using the RAPD technique in the arkshell, *Scapharaca broughtonii* (Schrenck) from Korea and China. *J. Korean Fish. Soc.*, **30**: 297-304.
- Lee, J. M., 2000. Morphology, genetic characters and reproductive cycle of local populations in the arkshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) (Pelecypoda: Arcidae) from Korea, Ph.D thesis. Pukyong Nat'l Univ. 120 pp.
- Lim, H. S., J. W. Choi., J. G. Je and J. H. Lee, 1992. Distribution pattern of macrozoobenthos at the farming ground in the western part of Chinhae Bay. *Korea. Bull. Korean Fish. Soc.*, **25**: 115-132.
- Magurram, A. E., 1988. Ecological diversity and its measurement. Croom Helm, London, 179 pp.
- MOMAF, 2000. Genetic analysis and data management program development of major fishery species in Korea. MOMAF, 283 pp.
- Nei, M., 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, 512 pp.
- O'Reilly, P. and J. M. Wright, 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *J. Fish Biol.*, **47**(suppl. A): 29-55.
- Parker, M. S., 2000. Population genetics of *Protothaca staminea* and *Nacoma balthica* in Puget Sound. *WA. J. Shellfish Res.*, **19**(1): 686-705.
- Patwary, M. U., R. M. Mackray and J. P. Vander Meer, 1993. Revealing genetic markers in *Gelidium vagum* (Rhodophyta) through the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *J. Phycol.*, **29**: 216-222.
- Patwary, M. U., E. L. Kenchington., C. J. Bird and E. Zouros, 1994. The use of random amplified polymorphic DNA markers in genetic studies of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *J. Shellfish Res.*, **13**: 547-553.
- Sneath, P. H. and P. R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, 635 pp.
- Sogin, M. L., 1990. Amplification of ribosomal RNA genes for molecular revolution studies. In PCR protocols; A guide to methods and applications. M.A. Gelfane. D.H. Sninsky and T.J. White. eds. Academic Press. New York. pp. 307-314.
- Sundberg, P. and S. Andersson, 1995. Random amplified poly-

- morphic DNA (RAPD) and intraspecific variation in *Oerstedtia dorsalis* (Hoplonemertea: Nemertea). J. Mar. Biol. Ass. U.K., **75**: 483-490.
- Tingey, S. V. and J. P. del Tufo, 1993. Genetic analysis with random amplified polymorphic DNA markers. Plant Physiol., **101**: 349-352.
- Williams, J. G. K., A. R. Kugelik., K. J. Livak., J. A. Rafolski and S. V. Tingey, 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., **18**: 6351-6535.
- Williams, J. G. K., M. K. Hanafey., J. A. Rafolski and S. V. Tingey, 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Methods Enzymol, **218**: 704-740.
- Yokogawa, K., 1997. Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese red arkshell, *Anadara broughtonii*. Fish. Sci., **63**: 332-337.
- Yoo, J. S., 1976. Korean Shells in Colour. Il Ji Sa Publish. Co., Seoul.
- Yoo, S. K., 1970. Biological studies on the propagation of important bivalves. 2. Growth and morphological variations of *Anadara broughtonii*(Schrenck). Bull. Pusan Fish. Coll, **10**: 81-89.
- Yoon, J. M., K. H. Park and S. N. Choe, 2003. Genetic polymorphism of Marsh Clam (*Corbicula leana*) identified by RAPD-PCR. J. Fish. Sci. Tech, **6**(1): 13-19.
-
- 원고접수 : 2004년 7월 7일
수정본 수리 : 2004년 8월 24일
책임편집위원: 윤종만