Korean J. Malacol. 28(3): 269-274, 2012
http://dx.doi.org/10.9710/kjm.2012.28.3.269

Microsatellite 마커를 이용한 한국산 피조개, *Scapharca broughtonii* Schrenck 집단의 유전적 다양성

지영주, 김우진, 김병학[1], 변순규[2], 조기채[2]

국립수산과학원 생물공학과, [1]국립수산과학원 남서해수산연구소, [2]국립수산과학원 남동해수산연구소

Genetic Variation of Wild and Hatchery Populations of the Korean Ark Shell, *Scapharca broughtonii* Assessed by Microsatellite Markers

Young Ju Jee, Woo Jin Kim, Byung Hak Kim[1], Soon Gyu Byun[2] and Kee Chae Cho[2]

Biotechnology Research Division, National Fisheries Research and Development Institute, Gijang-gun, Busan 619-705, Korea
[1]Southwest Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Hwayang-myun, Yeosu-city, Jeon Nam 556-823, Korea
[2]Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Sanyang-myun, Tongyoung-city, Gyung Nam 619-705, Korea

ABSTRACT

The genetic variation of Ark Shell, *Scapharca broughtonii* black was estimated using six polymorphic microsatellite (MS) loci in 443 individuals collected from five populations in Korea. The mean numbers of alleles per locus in five populations were 10-28. The mean number of alleles per locus in Jinhae Hatchery (JHH) population showed the least value as 15.5, but that in Gangjin (GJ) population showed the most value as 20.3. The mean expected heterozygosity in Saryangdo (SR) population showed the least value as 0.817, but that in Gangjin (GJ) population showed the most value as 0.831. In Jinhae hatchery(JHH) population, the mean expected heterozygosity was 0.822, there was no significant difference from those of wild population. The F_{ST} values in Gangjin (GJ) population showed significant difference from those of the other populations, which revealed Gangjin (GJ) population is genetically different from the other populations. The F_{ST} values among Jinhae Hatchery (JHH) population, Jinhae (JH) population and Saryangdo (SR) population showed lower values than the others, which implies there was a gene flow among these three populations. The F_{ST} value and genetic distance between Jinhae (JH) population and Saryangdo (SR) population showed the least value as 0.0001 and 0.0386, indicating that these two populations were genetically the same.

Keywords : 피조개, ms DNA, 유전적 다양성(Ark shell, *Scapharca broughtonii*, ms DNA, Genetic variation)

서 론

피조개, *Scapharca broughtonii* (Schrenck)는 돌조개과 (Arcidae) 꼬막아과 (Anadarinae) 에 속하며 북서태평양 연안에 위치한 한국, 일본, 중국, 대만에 서식하는 유용패류이다. 피조개는 42-43개의 방사늑을 가지고 있으며 헤모글로빈을 가지고 있어 연체부는 붉은 색을 띈다. 우리나라 진해만, 거제만 및 고성만 등의 수심 10-50 m 깊이의 모래와 진흙이 혼합된 바닥에서 많이 생산되고 있다 (유 2000).

피조개에 대한 연구는 1970년대부터 시작되었는데, 자연채묘를 위한 연구로는 노.변 (1977) 의 자연채묘 및 중간육성에 관한 연구, 김.윤 (1980) 의 피조개 채묘수층과 중간육성 효과 연구 및 김 등 (1981) 의 채묘자재별 연구가 있으며, 인공종묘

Received: June 18, 2012 ; Accepted: June 24, 2012
Corresponding author: Young Ju Jee
Tel: +82 (51) 720-2450 e-mail: philaqua@korea.kr
1225-3480/24449

생산에 관한 연구로는 변 등 (1976) 의 피조개 유생 사육 및 채묘에 관한 연구, 김 등 (1979) 의 피조개 실내채묘와 치패수송에 대한 연구, 김 등 (1980) 의 피조개 인공채묘 치패의 중간육성에 대한 연구, 정 등 (1982) 의 피조개 조기인공종묘생산시험 연구, 김 등 (2006) 의 피조개 어미의 수온에 따른 성성숙 유도 연구가 있다.

양성 및 생리 생태에 관한 연구로는 김.강 (1985) 의 피조개 양성밀도와 생산에 관한 연구, 신 등 (2008) 의 피조개의 생존과 대사에 미치는 수온, 염분 및 저산소의 영향 연구 및 김 등 (2008) 의 피조개 부착치패의 중간양성 시 보호망 형태와 유실방지망 종류에 따른 성장과 생존율 연구가 있다.

이와 같이 1970년대 중반 이후 자연채묘에 의한 종묘산업이 시작된 이래, 1980년대부터 양식생산량이 지속적으로 증가하여 1985년 48,073톤으로 최대생산을 나타냈으나 근년 들어 양식장 환경악화 및 여러 원인 (박 등 1998, 전 등 1991) 으로 인해 2003년도에는 4,696톤으로, 2008년도에는 1,903톤으로 급격히 감소하고 있는 실정이다. 이러한 양식생산량의 감소는 모패 자원의 부족으로 인한 자연채묘 부진을 초래해 피조개 종패의 절대 부족으로 이어지고 있다.

이에 대한 해결방안으로 국내산 피조개 어미를 중국으로 반출하여 값싼 인력을 활용한 중국 생산 인공종묘가 국내산 동일 여부의 유전학적 검사를 거쳐 2003년부터 최근까지 대량으로 들어오고 있는 실정이며, 최근에는 이로 인한 피조개의 품질저하 및 일본 내 소비 저하로 대일 수출가가 급락하고 있는 실정이다.

이런 문제를 해결하기 위해서는 유전학적 방법에 의해 국내산 피조개 집단을 조사하는 것이 우선되어야 하겠으며, 조사 확인된 국내산 우수 피조개 집단에 대해 종 보존을 하면서 종묘생산에 의한 보급 확산이 필요하다고 하겠다.

피조개의 유전학적 연구로는 이 등 (1997) 이 RAPD기법을 이용하여 한국산 및 중국산 피조개의 유전적 분석을 하였으며, Cho *et al*. (2007) 은 피조개 mtDNA CO Ⅰ유전자를 이용하여 한국산, 중국산, 러시아산 피조개의 집단 유전적 구조를 조사하였다.

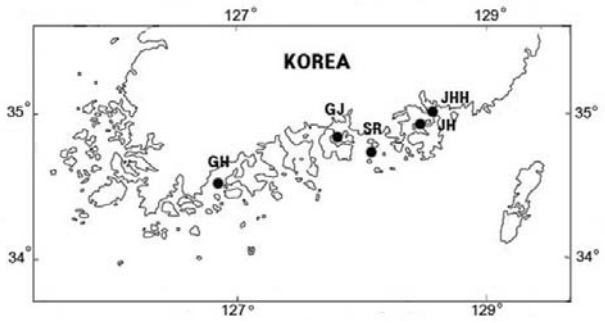

Fig. 1. Geographical locations of sampling sites for Korean ark shell populations.

집단유전학 연구에 있어서 microsatellite loci는 매우 유용한 도구이다 (Hughes & Queller 1993; Desvignes *et al* . 2001; Holland 2001). 최근에는 An and Park (2005) 이 한국산 피조개에서 고도의 다형성을 가진 10개의 microsatellites 마커를 분리한 바 있으며, Li and Li (2008) 는 중국 산동성 웨하이산 피조개에 대해 12개의 polymorphic microsatellite 마커를 가지고 유전적 다양성을 조사한 바 있다. Sekino *et al*. (2010) 은 multiplex PCR법을 통해 일본산 피조개에서 9개의 고도 다형성을 가진 microsatellites 마커를 분리한 바 있다.

본 연구는 우리나라 피조개 주생산지인 남해안 각 지역별 피조개를 수집하여 유전적 다형성이 높은 microsatellite 마커를 이용하여 지역별 피조개의 유전적 다양성 조사를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시료 및 DNA 분리

각 지역별 피조개 수집을 위해 양식산은 진해만 (JHH) 에서 60마리, 자연산은 진해만 (JH) 에서 96마리, 남해 강진만 (GJ) 에서 96마리, 사량도 (SR) 에서 96마리, 고흥 (GH) 에

Table 1. Sampling locations, date of collection, geographical coordinates and the number of *Scapharca broughtonii* samples used in the present study

Sampling area (Abbreviation)	Data of Collection	Latitude	Longitute	Nos. of Sample
Wild population				
Jinhae (JH)	Mar. 2009	34° 96′ 77″ N	128° 55′ 63″ E	96
Saryangdo(SR)	Mar. 2009	34° 80′ 48″ N	128° 20′ 28″ E	96
Gangjin (GJ)	Mar. 2009	34° 84′ 80″ N	127° 93′ 05″ E	96
Goheung (GH)	Apr. 2010	34° 56′ 05″ N	127° 12′ 60″ E	95
Hatchery population				
Jinhae Hatchery (JHH)	Mar. 2010	35° 05′ 23″ N	128° 66′ 27″ E	60

서 95마리를 수집하였으며 (Fig. 1, Table 1), 수집한 443마리 피조개 근육 조직은 microsatellite 분석을 위하여 사용되었다. 살아있는 피조개에서 절취한 근육 조직은 DNA를 분리하기 전까지 100% 에탄올에 보관하였다. MagExtractor genomic DNA 분리 키트를 이용하여 자동 DNA 분리장치 (MagExtractor MFX-6100, Toyobo) 에서 total genomic DNA를 분리하였다. 분리된 DNA는 spectrophotometer를 이용하여 정량하고 순수한 DNA만 분석에 이용하였다.

2. Microsatellite DNA (msDNA) 분석

4개 microsatellite 마커 (KSB16, KSB84, KSB132, KSB314) 는 이전에 An and Park (2005)에 의해 분리된 것을, 2개 microsatellite 마커 (SB57, SB311) 는 이전에 Li and Li (2008) 에 의해 분리된 것을 본 연구에서 사용하였다. 6개 primer set의 forward primer는 6FAM, HEX, 또는 NED로 형광 표지하여 reverse primer와 함께 PCR하고 PCR product를 전기영동으로 확인하여 희석 배율을 결정하였다. 희석한 PCR product와 400HD marker, HiDi mixture를 섞고 95℃에서 5분간 변성한 후 ABI 3130 xl genetic analyzer (Applied Biosystems) 를 이용하여 genotyping 하였다. 각 loci의 PCR 반응은 50 ng genomic DNA, 200 μM dNTP, 20 mM Tris-HCl (pH 8.3), 100 mM KCl, 2.0 mM $MgCl_2$, 0.3-0.5 μM primer, 0.5 unit f-taq polymerase가 포함된 총 15 μl 혼합액을 PTC-200 thermal cycler (MJ research) 를 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 처음 95℃에서 15분간 DNA를 변성한 다음, 94℃에서 20초간 denaturation, 60℃에서 30초에서 annealing, 72℃에서 1분간 elongation을 35회 반복한 후, 최종 DNA 합성을 72℃에서 5분간 하였다. Fluorescent peak data는 Genescan (version 3.7) 와 Genotyper (version 3.7) software program (Applied Biosystems) 으로 분석하였다.

3. Population genetic data 분석

각 locus의 대립유전자 수 및 빈도, 관찰치 이형접합률 (*Ho*), 기대치 이형접합률 (*He*) 은 CERVUS 3.0 프로그램 (Slate *et al*., 2000) 을 이용하여 계산하였다. 각 locus에 대한 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) 이탈에 대한 분석은 Genepop 3.4 프로그램 (Raymond and Rousset, 1995) 을 이용하여 Markov-chain 방법에 의해 관찰 유전자형 빈도와 기대 유전자형 빈도를 서로 비교하여 random allelic permutation 과정으로 유의성을 검정하였다 (Weir and Cockerham, 1984). 유의성 정도는 에러를 최소화하기 위하여 Bonferonni correction을 사용하여 조정되었다 (Rice, 1989). 집단 간 분화 정도를 측정하기 위하여 Genepop 3.4 프로그램을 이용하여 모든 가능한 집단 조합으로 pairwise F_{ST} 수치를 측정하였다. Pairwise F_{ST} 수치에 대한 유전적 검정은 random allelic permutation 과정으로 Bonferonni correction을 사용하여 조정되었다. 대립유전자 빈도를 근거로 한 집단 간 유전적 거리는 Nei (1972) 방법에 의해 측정되었으며, 집단 간 유전적 유연관계는 PHYLIP 3.5 프로그램 (Felsenstein, 1993) 을 이용하여 작성되었다.

결과 및 고찰

1. 6 msDNA 유전자좌의 유전적 다양성

Table 2에서 보는 바와 같이 모든 집단 분석에서 158개 다른 대립유전자가 관찰되었으며, 유전자좌 당 평균 대립유전자 수는 26.3개이었으며, KSB132 유전자좌에서 16개로 가장 적었고 SB311 유전자좌에서 34개로 가장 많았다. 관찰치 이형접합률은 KSB84 유전자좌에서 0.393으로 가장 낮았고 SB57에서 0.880으로 가장 높았다. 기대치 이형접합률은 KSB16 유전자좌에서 0.580으로 가장 낮았고 SB311에서 0.931로 가장 높았다. 이런 결과는 6개 msDNA 유전자좌 전부가 본 연구의 피조개 집단에서 다형이 매우 높은 마커임을 암시한다.

2. 5개 피조개 집단의 유전적 다양성

4개 자연산 피조개 집단과 1개 양식산 피조개 집단의 유전적 다양성 indices를 Table 2에 요약했다. 모든 집단에서 유전자좌 (locus) 당 대립유전자 (allele) 수는 10-28개였으며, 유전자좌당 평균대립유전자 수는 JHH (진해 양식집단) 에서 15.5개로 가장 적었고, 자연산 집단은 16.7-20.3으로 GJ (강진 자연집단) 이 가장 높았다. 자연집단에서 평균 기대 이형접합율은 0.817-0.831이었고, JHH (진해 양식집단) 은 0.822 이었다. 자연집단에 비교할 때 양식집단의 기대 이형접합률은 의미적으로 감소되어 있지 않았다 ($P > 0.05$). Li and Li (2008)는 중국 산동성 웨하이산 피조개, *Scapharca broughtonii* 40개 개체에 대해 12개의 polymorphic microsatellite markers를 분리하여 대립유전자 다양성을 분석한 결과, 기대 이형접합율은 0.444-0.944라고 밝히고 있어 본 연구보다는 넓은 범위의 값을 나타내어 중국산 피조개는 다양한 범위의 기대 이형접합율을 나타내었다.

이형접합율 결핍으로 인한 HWE에서 의미있는 이탈은 sequential Bonferroni correction으로 30개 유전자좌중에서 15개가 관찰되었으며, ($P < 0.00833$). 3개 microsatellite loci (KSB84, KSB132, SB311) 에서 자연산과 양식산 모든 집단에서 HWE를 벗어났다.

Table 2. Number of alleles (*N*), observed and expected heterozygosity (*Ho, He*), and probability value of Hardy-Weinberg equilibrium (*P*) at each locus for each population

		Wild Population				Hatchery Population	All Populations
Locus		JH	SR	GJ	GH	JH	
KSB16	*N*	24	17	21	17	17	31
	Ho	0.590	0.527	0.533	0.436	0.567	0.528
	He	0.646	0.572	0.556	0.529	0.603	0.580
	P	0.111	0.459	0.959	0.067	0.262	
KSB84	*N*	19	18	25	22	17	32
	Ho	0.322	0.441	0.375	0.446	0.373	0.393
	He	0.906	0.906	0.934	0.926	0.900	0.928
	P	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	
KSB132	*N*	11	12	10	11	11	16
	Ho	0.539	0.521	0.451	0.442	0.424	0.479
	He	0.829	0.809	0.782	0.851	0.810	0.834
	P	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	
KSB314	*N*	13	12	21	15	10	22
	Ho	0.779	0.760	0.853	0.768	0.817	0.794
	He	0.791	0.797	0.887	0.826	0.819	0.830
	P	0.725	0.265	0.027	0.119	0.182	
SB57	*N*	18	21	19	18	20	23
	Ho	0.832	0.906	0.884	0.863	0.933	0.880
	He	0.878	0.898	0.887	0.882	0.903	0.887
	P	0.433	0.959	0.350	0.571	0.997	
SB311	*N*	20	20	26	28	18	34
	Ho	0.352	0.418	0.341	0.533	0.400	0.411
	He	0.896	0.918	0.939	0.930	0.896	0.931
	P	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	
Average	*N*	17.5	16.7	20.3	18.5	15.5	26.3
	Ho	0.569	0.595	0.573	0.581	0.586	0.581
	He	0.824	0.817	0.831	0.824	0.822	0.832

* Significant at the 5% level after Bonferroni correction (P < 0.00833).

3. 유전적 분화

대립유전자의 빈도를 근거로 한 pairwise F_{ST} test는 Table 3에 나타내었다. 집단 간 F_{ST} 값은 10개 가운데 4개 집단 사이에 유의적인 분화 차이가 있었다. 즉 JH (진해 자연집단)-GJ (강진 자연집단) 는 0.0105, SR (사량 자연집단)-GJ (강진 자연집단) 는 0.0093, GH (고흥 자연집단)-GJ (강진 자연집단) 는 0.0214, JHH (진해 양식집단)-GJ (강진 자연집단) 는 0.0103으로 GJ (강진 자연집단) 는 다른 집단과 분화적 차이를 보여 다른 집단과 유전적으로 특이하였다. JH (진해 자연집단)-SR (사량 자연집단), JHH (진해 양식집단)-SR (사량 자연집단) 및 JH (진해 자연집단)-JHH (진해 양식집단) 간의 F_{ST} 값은 0.0001, 0.0006 및 0.0032로 매우 낮게 나타나 집단 간 유전자 교류 (gene flow) 가 일어났음을 암시했다. 특히 JH (진해 자연집단) 와 SR (사량 자연집단) 은 F_{ST} 값이 0.0001로 극히 낮은 값을 나타내 두 지역 집단은 유전적으로 거의 같다고 할 수 있다. 이러한 결과는 Cho *et al*.(2007) 이 우리나라 피조개 집단은 지역 사이에 유전자 교류가 일어난 것 같다는 결과와 동일한 결과를 나타내었다.

4. 유전적 거리 및 유전적 유연관계

Nei (1972) 방법에 의해 측정된 대립유전자 빈도를 근거로 한 집단 간 유전적 거리는 pairwise F_{ST} test 결과와 마찬가지로 JH (진해 자연집단) 와 SR (사량 자연집단) 이 0.0386으로 가장 가까운 것으로 나타났으며 (Table 4) PHYLIP 3.5 프로그램 (Felsenstein, 1993) 을 이용하여 작성된 집단 간 유전적 유연관계도 역시 JH (진해 자연집단) 와 SR (사량 자연집단) 이 가장 가까운 것으로 나타났다 (Fig. 2). 이러한 것은 1990년대 진해만에서의 피조개 대량폐사를 해결하기 위한 대책으로 진해만산 피조개 종패의 사량도 대량 살포에 따른 것으로 이번 결과는 이를 유전학적으로 뒷받침한 결과라고 하겠다.

Cho *et al*. (2007) 은 mitochondrial COI gene sequence를 근거로 한 F_{ST} 값에서 국내 남해와 진해집단 사

Table 3. F_{ST} values between samples (below diagonal) and probability of differentiation with *P* value in F_{ST} estimate (above diagonal). (For population abbreviations, see Table I)

	JH	SR	GJ	GH	JHH
JH		−	+	−	−
SR	0.0001		+	−	−
GJ	0.0105	0.0093		+	+
GH	0.0074	0.0086	0.0214		−
JHH	0.0032	0.0006	0.0103	0.0060	

+, significant; −, not significant in F_{ST}. Significance was tested at the 5% level with a Bonferoni corrected P (P < 0.00833) for multiple tests.

Table 4. Nei genetic distance between the five populations of the Korean ark shell

	JH	SR	GJ	GH	JHH
JH					
SR	0.0386				
GJ	0.0820	0.0724			
GH	0.0770	0.0816	0.1333		
JHH	0.0990	0.0821	0.1437	0.0755	

이의 F_{ST} 값은 0.1793이었으나 남해와 중국산동 집단 사이의 값은 0.4731, 진해와 중국산동 집단 사이의 값은 0.3712로 국내지역 사이의 F_{ST} 값보다 2배 이상을 나타내었고, 집단 간 유전적 유연관계를 나타내는 dendrogram에서도 중국산은 국내 지역 집단과는 완전히 분리된 분지를 나타내어 본 연구 결과와는 달라, 우리나라 남해안 5개 지역에는 중국산 피조개가 없는 것으로 추정된다.

요 약

우리나라 피조개 집단의 유전적 다양성을 분석하기 위해 남해안 5개 지역의 피조개 443마리를 수집하여 6개의 다형성이 높은 microsatellite 마커를 이용하여 분석하였다.

5개 집단의 유전자좌당 대립유전자는 10-28개의 범위였으며, 각 지역별 microsatellite 마커의 평균 대립유전자 수는 JHH (진해 양식집단) 이 15.5로 가장 적었고, GJ (강진 자연집단) 이 20.3으로 가장 많았다. 평균 기대 이형접합률은 SR (사량자연집단) 이 0.817로 가장 낮았고, GJ (강진자연집단) 이 0.831로 가장 높았으며 JHH (진해양식집단) 은 0.822로 자연집단에 비교해 의미적인 차이는 없었다.

집단 간 F_{ST} 값은 GJ (강진 자연집단) 이 다른 집단과 분화적 차이를 보여 다른 집단과 유전적으로 차이를 나타내었다. JH (진해 자연집단), SR (사량 자연집단) 및 JHH (진해 양식집단) 사이의 F_{ST} 값은 매우 낮게 나타나 집단 간 유전자 교류 (gene flow)가 일어났음을 암시하고 있다. 특히 JH (진해 자연집단) 과 SR (사량 자연집단) 은 F_{ST} 값이 0.0001로 가장 낮았으며 집단 간 유전적 거리 (0.0386) 도 가장 가까웠고 집단 간 유전적 유연관계도 가장 가까운 것으로 나타나 유전적으로 같은 집단이라고 할 수 있었다.

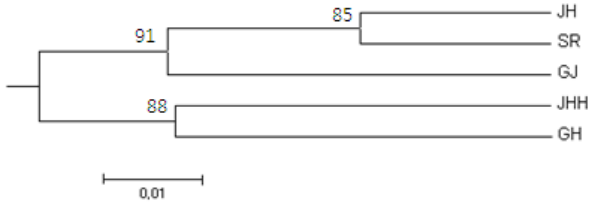

Fig. 2. UPGMA dendrogram produced by PHYLIP software 3.5, showing the relationship among wild and hatchery Korean ark shell by microsatellite data set. Nodal values for bootstrap support over 50% of the 1,000 replicated tress.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원 연구사업비 (RP-2012-BT-034) 지원에 의해 수행된 연구결과입니다,

REFERENCES

An, H.S., Park, J.Y. (2005) Ten new highly polymorphic microsatellite loci in the blood clam *Scapharca broughtonii*. *Molecular Ecology Notes*, **5**: 896-898.

Cheong, S.C., Kang, H.W. and Lee, J.M. (1982)

Experiments on the early artificial seedling production of ark shell *Anadara broughtonii* (SCHRENCK). *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **28**: 185-197. [in Korean]

Cho, E.S., Jung, C.G., Shon, S.G., Kim, C.W. and Han, S.J. (2007) Population Genetic Structure of the Ark Shell *Scapharca broughtonii* Schrenck from Korea, China, and Russia Based on COI Gene Sequences. *Marine Biotechnology*, **9**: 203-216.

Chun, Y.G., Na, G.H. and Choi, W.J. (1991) Mass mortality of ark shell, *Anadara broughtonii* SCHRENCK seedlings with marine ecological characteristics. *Journal of Korean Fishery Society*, **24**: 70-78. [in Korean]

Felsenstein, J. (1993) PHYLIP: Phylogeny inference package, version 3.5. University of Washington, Seattle.

Holland, B.S. (2001) Invasion without a bottleneck: microsatellite variation in natural and invasive populations of the brown mussel *Perna perna* (L.). *Marine Biotechnology*, **3**: 407-415.

Hughes, C.R., Quelle, D.C. (1993) Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little enzyme polymorphism. *Moecular Ecology*, **2**: 131-137.

Kim, B.H., Min, K.S., Lee, S.J., Park, K.Y., An, C.M. and Min, B.H. (2006) Effect of Temperature on Induced Sexual Maturation of the Ark Shell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) Broodstock. *Korean Journal of Malacology*, **22**: 175-182. [in Korean]

Kim, B.H., Shin, Y.K., Park, K.Y., Choi, N.J., Oh, B.S. and Min, B.H. (2008) Growth and survival of the spat of arkshell, *Scapharca broughtonii* in intermediate culture with different shape of protective net and type of preventive net of spat loss. *Korean Journal of Malacology*, **24**: 131-136. [in Korean]

Kim, J.D., Cheong, S.C. and Kang, H.W. (1980) Studies on the artificial mass seed production of the ark shell *Anadara broughtonii* (SCHRECK)-(Ⅱ). *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **25**: 45-53. [in Korean]

Kim, Y., Yoon, D.S. (1980) On the spat collection of ark shell, *Anadara broughtonii* SCHRENCK Ⅰ. *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **23**: 219-227. [in Korean]

Kim, Y., Hue, J.S. and Koo, J.H. (1981) On the spat collection of ark shell, *Anadara broughtonii* SCHRENCK(Ⅱ). *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **27**: 161-167. [in Korean]

Kim, Y.G., Kang, Y.J. (1985) Culturing density and production of ark shell, *Anadara broughtonii* (Schrenck). *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **36**: 81-88. [in Korean]

Lee, J.M., Park, J.W., Yoo, M.S. and Hong, Y.K. (1997) Morphological characteristics and genetic diversity using the RAPD technique in the arkshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) from the Korea and China. *Journal of Korean Fisheries Society*, **30**: 297-304. [in Korean]

Li, Jingjing and Li, Qi (2008) Isolation and characterization of twelve novel microsatellite loci in the ark shell *Scapharca broughtonii*. *Conservation Genetics*, **9**: 1055-1057.

Min, K.S., Kim, B.H., Lee, S.J., Park, K.Y. and Kim, B.G. (2004) Intermediate culture of the spat arkshell, *Scapharca broughtonii* in summer. *Korean Journal of Malacology*, **20**: 125-130. [in Korean]

Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. *Americal Naturalist*, **106**: 283-292.

Park, M.S., Lim, H.J. and Kim, P.J. (1998) Effect of Environmental Factors on the Growth, Glycogen and Hemoglobin Content of Cultured Arkshell, *Scapharca broughtonii*. *Journal of Korean Fishery Society*, **31**: 176-185. [in Korean]

Pyon, C.K., Rho, Y.G. and Yoo, Y.K. (1976) Studies on spat collection and rearing of the larvae, *Anadara broughtonii* (SCHRENCK) in tank. *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **15**: 7-18. [in Korean]

Raymond, M. and Rousset, F. (1995) GENEPOP Version 1.2, a population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**:248-249.

Rho, Y.G., Pyon, C.K. (1977) Experimental studies on the seed collection of *Anadara broughtonii* (Schrenck). *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, **16**: 135-149. [in Korean]

Rice, W.R. (1989) Analysing Tables of Statistical Tests. *Evolution*, **43**: 223-225.

Shin, Y.K., Kim, B.H., Choi, N.J., Jung, C.K. and Park, M.W. (2008) Influence of Temperature, Salinity and Hypoxia on Survival and Metabolic Rate in the Ark Shell, *Scapharca broughtonii*. *Korean Journal of Malacology*, **24**: 59-65. [in Korean]

Slate, J., Marshall, T.C. and Pemberton, J.M. (2000) A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program CERVUS. *Molecular Ecology*, **9**: 801-808.

Weir, B.S. and Cockerham, C.C. (1984) Estimating F-statics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

Yoo, S.K. (2000) In: Shallow Sea Aquaculture. Gudeok Press, Busan, Korea. pp. 203. [in Korean]