

ISSR 마커를 이용한 서식 면적에 따른 통통마디의 유전적 다양성^{1a}

김석규² · 조윤식² · 허영백² · 송재희² · 정희도² · 정상옥^{2*}

Genetic Diversity of *Salicornia herbacea* according to Habitat Area by ISSR Markers^{1a}

Suk-Kyu Kim², Yoon Sik Cho², Young Baek Hur², Jae Hee Song², Hee Do Jeong², Sang Ok Chung^{2*}

요약

통통마디 개체군의 서식 면적에 따른 유전적 다양성을 조사하기 위하여 6개 군집 96개체를 대상으로 ISSR marker를 사용하여 분석하였다. 6개 ISSR 프라이머에서 총 49개의 PCR 증폭 밴드가 관찰되었으며 이 중 30개의 밴드가 유전적 다형성을 갖는 밴드로 나타났다. 통통마디 개체군 전체의 유전적 다양성을 나타내는 지수 I(Shannon's information index)는 0.382로 나타났으며 h(gene diversity)는 0.249으로 나타났다. 군집 크기에 따른 유전적 다양성 지수는 0.1m×0.1m에서 0.092(I), 0.058(h)로 가장 낮게 나타났고 25m×25m에서 0.338(I), 0.227(h)로 가장 높게 나타나 유전적 다양성이 높은 군집 형성에 적합한 면적이라 할 수 있다. 통통마디 개체군 간 거리에 따른 유전적 다양성의 상관관계를 UPGMA 방법으로 분석한 결과 통통마디 개체군 간 거리와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 본 연구 결과 제한된 환경에서 서식하는 통통마디는 유전적 다양성을 갖는 군집 형성을 위해 일정한 크기 이상의 면적이 확보되어야 할 것으로 판단된다.

주요어: 염생식물, 다형성, 군집크기, 최소면적

ABSTRACT

This study analyzed 96 individuals in 6 populations using ISSR marker to investigate the genetic diversity of *Salicornia herbacea* populations. The total of 49 PCR amplification bands was observed in 6 ISSR primers, and 30 of them had genetic polymorphisms. The Shannon's information index (I) and gene diversity index (h), which indicate the genetic diversity of the *Salicornia herbacea* populations, were 0.382 and 0.249, respectively. The genetic diversity according to the population size was lowest with 0.092 (I) and 0.058 (h) in 0.1 m × 0.1 m and highest with 0.338 (I) and 0.227 (h) in 25 m × 25 m, which was suitable for the furtherance of the high population with high genetic diversity. The UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance did not show a significant correlation with the distance between the *Salicornia herbacea* population. The results indicate that the *Salicornia herbacea* habiting in the restricted environment should have an area over a certain size to ensure the formation of a population with genetic diversity.

KEY WORDS: HALOPHYTE, POLYMORPHISMS, POPULATION SIZE, MINIMUM AREA

1 접수 2017년 7월 14일, 수정 (1차: 2017년 11월 7일), 게재확정 2017년 11월 15일

Received 14 July 2017; Revised (1st: 7 November 2017); Accepted 15 November 2017

2 국립수산과학원 서해수산연구소 갯벌연구센터 Tidal Flat Research Center-National Institute of Fisheries Science, Gunsan, Jeonbuk 54014, Korea

a 이 논문은 국립수산과학원 수산과학연구사업 갯벌어장환경모니터링(R2017056)의 지원에 의하여 수행되었음.

* 교신저자 Corresponding author: Tel: +82-63-472-8616, Fax: +82-63-467-2675, E-mail: hydbiol@korea.kr

서론

식물의 환경변화에 적응할 수 있는 능력은 그것이 포함하고 있는 유전적 다양성의 수준에 달려있으며(Ayala and Kiger, 1984) 적절한 양의 유전적 다양성은 변화하는 환경에서 적응하는데 유리하게 작용함으로써 진화과정에서 식물 개체군을 유지하는데 도움이 된다. 따라서 유전적 다양성의 평가와 유전자 연관지도 작성은 식물 개체군에서 나타나는 유전적 변이를 확인, 유전자형을 특성화하고 더 정확한 유전적 관계를 측정할 수 있다(Paterson *et al.*, 1991). 종의 유전적 다양성과 개체군의 구조에 대한 연구는 진화과정과 매커니즘을 규명할 뿐만 아니라 생물학적 보전에 유용한 정보를 제공한다(Schaal *et al.*, 1991).

RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 기술은 개체군 및 보전유전학 분야에서 유전적 다양성을 확인하는데 유용한 마커를 제공하고 있다(Williams *et al.*, 1990; Smith and Wayne 1996; Cruzan, 1998). RAPD 마커는 소량의 식물재료로부터 게놈 전 부분에서 증폭시킬 수 있으며 프라이머 제작의 간편성, 비용 절감등 여러 가지 장점을 지니고 있다(Fritsch and Rieseberg, 1996). 그러나 RAPD는 명확하지 않은 유전자 좌위의 상동성, 반응조건에 대한 민감성 및 DNA 증폭에 대한 재현성 등 제한적인 문제점을 나타내고 있어 이를 보완하기 위한 방법으로 ISSR(Inter Simple Sequence Repeat) 기술이 사용되고 있다. ISSR는 microsatellite 반복서열 내에 존재하는 영역으로 다른 임의의 프라이머와 비교했을 때 여러 위치에서 게놈의 특이적 변이를 동시에 밝혀낼 수 있기 때문에 게놈 내의 유전적 다형성을 결정할 가능성이 매우 높다(Zietkiewicz *et al.*, 1994). microsatellites의 특이성은 분류군 사이의 높은 변동성과 진핵세포의 게놈 어디에서나 발생하며, 높은 카피수는 ISSR을 매우 유용한 마커로 만든다(Gortner *et al.*, 1998). ISSR 마커는 RAPD 보다 더 많은 수의 다형성 DNA 단편을 증폭할 수 있으며 프라이머 디자인을 위해 DNA 서열에 대한 사전 정보를 필요로 하지 않기 때문에 RAPD와 유사한 장점을 지닌다(Kantety *et al.*, 1995; Yang *et al.*, 1996; Fang and Roose, 1997). 또한 프라이머의 길이는 더 길고 높은 온도에서 어닐링(annealing)되기 때문에 RAPD보다 증폭 DNA 밴드의 재현성이 높은 장점을 가지고 있다(Nagaoka and Ogihara, 1997; Wolfe and Liston, 1998).

통통마디속은 세계적으로 약 30종이 분포하는 것으로 알려져 있으며(Davy *et al.*, 2001)우리나라에는 1종이 자생하는 것으로 보고되어있다. 우리나라 통통마디는 주로 갯벌이나 간척지 염전주변에서 생육하며 군락을 이룬다. 간척지에 형성되는 통통마디 군락은 간척 초기에 넓은 군락을 형성하다가 토양의 탈염이 진행되면서 사라지기도 하며 서해안에

서는 고정적으로 분포하기보다 환경적 영향으로 기회적인 군락형성이 많이 이루어지고 있다(Kim and Ihm, 1988). 통통마디의 제한적인 서식 특성은 환경변화에 민감하게 나타남으로써 자연상태의 서식 분포가 감소하고 있다. 통통마디의 제한적인 서식 특성은 환경변화에 민감하게 나타남으로써 자연상태의 서식 분포가 감소하고 있다. 통통마디는 많은 연구를 통해 항산화 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Bang *et al.*, 2002; Han and Kim, 2003; Cha *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2009; Cho *et al.*, 2010). 이러한 기능적 효과는 상업적 이용가치가 매우 높기 때문에 재배를 위해 통통마디 발아특성연구(Jo *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2016), 간척지 재배방법연구(Park *et al.*, 2004; Jeong *et al.*, 2013) 등이 보고되어 있다. 안정적인 통통마디 보존, 복원 및 재배를 위해서는 유전자의 다양성에 관한 연구가 필요하며 유전자원 보존을 위해 유전적 특성이 안정적으로 유지될 수 있는 식물 개체군의 크기를 파악하고 유전적 다양성을 유지하기 위한 최소 면적 산출등과 같은 연구가 필요하다. 그러나 염생식물군락에 대한 유전적 다양성에 관한 연구는 해홍나물에 대한 연구(Ihm *et al.*, 2004), 서남해안 염생식물 4종(칠면초, 해홍나물, 갯잔디, 갈대) 개체군의 최소 보존 면적 결정에 관한 연구(Lee *et al.*, 2006)등이 이루어져 있어 매우 미흡한 실정이다.

본 연구는 통통마디에서 보다 안정적이고 다양한 유전적 특성을 규명하기 위해 ISSR 마커를 이용하여 개체군 군집 크기에 따른 유전적 다양성을 확인함으로써 보존 및 복원에 필요한 최소 보존 면적 결정에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

연구 방법

1. 연구대상

본 조사 연구를 위하여 충남 태안군 이원면 관리 이원방 조제 내측에 위치한 통통마디 서식지역에서 군집 크기를 고려하여 방형구를 설치한 후 각각의 방형구 내에서 임으로 16개체씩을 채집하여 ISSR 분석을 위한 DNA 추출재료로 사용하였다(Table 1).

2. Genomic DNA 추출

DNA 추출에 사용한 시료는 액체질소를 사용하여 분말로 만든 후, 분말 100mg을 취하여 1.5ml Eppendorf tube에 넣은 후 Accuprep®GMO DNA Extraction Kit(Bioneer., Korea) 제품의 방법에 따라 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는

Table 1. Locality of population and the number of individuals sample

Population	Quadrat area(m ²)	No. of Sample
IW01	0.1m×0.1m	16
IW02	1m×1m	16
IW03	5m×5m	16
IW04	10m×10m	16
IW05	25m×25m	16
IW06	50m×50m	16

1% 아가로스 겔(STRATAGENE Agarose I, USA)에서 전기영동하여 확인하였으며, DNA의 순도와 농도는 분광광도계(ATI Unicam Ltd, UK)를 사용하여 260nm와 280nm에서 OD(Optical Density)값을 측정하여 확인하고, 각각의 농도를 20ng/ μ l로 희석한 후 PCR 반응에 사용하였다.

3. PCR 조건 및 전기영동

통통마디 개체간 유전적 다양성을 분석하기 위해 10개의 프라이머를 사용하였으며, 예비 실험을 통해 ISSR 증폭 DNA 밴드가 잘 나타나는 6개의 프라이머를 선정하여 연구에 적용하였다(Table 2). ISSR-PCR 반응실험에 사용한 PCR 반응액은 0.2ml microtube에 1 μ l 주형 DNA(20ng/ μ l), 2.5 μ l 1X Taq 중합효소 완충액(10mM Tris HCl pH8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂), 2 μ l 2.5mM dNTP mix(dATP, dCTP, dGTP and dTTP, Promega, USA), 1unit Taq DNA 중합효소(Elpis Biotech Co., Korea) 1 μ l ISSR 프라이머 (10pM/ μ l)첨가하여 최종 volume이 25 μ l로 조성하였으며, PCR 반응은 Thermal cycler (GeneAmp® PCR System 9700)를 사용하여 94℃에서 5분간 predenaturation 시킨 후 94℃에서 1분 denaturation, 50℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 extension의 단계를 1 cycle로 하여 총 35cycle을 진행하였으며 최종적으로 72℃에서 10분간 반응시킨 후 4℃에서 보관하였다가 전기영동 하였다. PCR은 각각의 프라

이머에 관계없이 동일한 조건으로 수행 하였다. PCR 산물의 전기영동은 1X TAE(40mM Tris-Acetate, 1mM EDTA, pH8.0)을 사용하여 1.5% 아가로스 겔에서 100V의 전압로 30분 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 gel 을 EtBr(ethidium bromide, 10mg/ml)로 15분간 염색한 후 흐르는 물에서 15분간 탈색하여 UV transilluminator 상에서 밴드를 확인하였다 (Sambrook *et al.*, 1989). 확인된 밴드는 gel photodocumentation system (Vilber Lourmat, France)을 사용하여 촬영하였다.

4. 자료 분석

ISSR-PCR을 통해 얻은 DNA 밴드 양상은 이진법을 이용하여 밴드 유·무에 따라 1과 0으로 코드화 하여 유전적 다양성의 척도를 POPGENE 1.32 program(Yeh *et al.*, 1999)을 이용하여 추정하였다. 유전적 다양성은 Shannon's information Index(Shannon, 1948)로 구하였으며 개체군 집단간 유전적 거리는 Nei's genetic distance(Nei, 1978)를 통해 구하였다.

Table 2. List of ISSR primers in this study

primer No	Sequence	GC content(%)
TFRC-03	(CA)8R*G	52
TFRC-04	(GGAGA)3	60
TFRC-05	(GA)8GT	50
TFRC-07	(GA)8TC	50
TFRC-09	GCG(AC)8	57
TFRC-10	CCGG(AC)8	60

*R = A+G

결과 및 고찰

ISSR 분석을 이용한 통통마디 서식면적에 따른 유전적 다양성 분석을 위해 10개의 프라이머를 사용하였으며, PCR 반응의 재현성이 낮은 4개의 프라이머는 본 실험에서 제외시켰다. 6개의 프라이머를 통해 개체군 집단 내에서 다형성을 갖는 DNA 절편을 증폭하였으며, 이를 바탕으로 각 개체군 간의 유전적 다형성을 비교하였다. ISSR-PCR 결과 DNA 증폭 산물의 총 수는 49개였으며 이 중 30개의 다형성 밴드가 나타나 평균 61.7%의 다형적 유전자좌의 비율(%P)을 보였다. 절편들의 주요 증폭 범위는 150~1,800bp 사이에서 나타나 ISSR분석에 적합한 것으로 나타났다(Fig 1). 각각의 프라이머별 DNA 증폭결과는 TFRC-03에서는 7개의 증폭밴드가 나타났으며 이 중 5개의 밴드가 다양성을 나타내고 증폭 범위는 300~1,500bp이다. TFRC-04은 7개의 밴드가 증폭되었으며 4개의 밴드가 다양성을 나타내고 증폭 범위는 300~1,500bp이다. TFRC-05는 9개의 증폭밴드와 6개의 다양성을 갖는 밴드가 나타났으며 증폭 범위는 350~1,600bp이다. TFRC-07는 8개의 DNA 증폭밴드가 나타났으며 6개의 다양성을 갖는 밴드가 나타나 가장 높은 변이율을 갖는 DNA 반복서열인 것으로 나타났으며 증폭 범위는 400~1,500bp이다. TFRC-09는 10개로 가장 많은 증폭 밴드를 형성하였으나 5개의 다형성 밴드가 나타나 50%를 보였으며 증폭 범위는 250~1,600bp 사이에서 나타났다. TFRC-10 프라이머의 경우 8개의 증폭밴드가 나타났으며 4개의 다양성 밴드가 나타났으며 증폭 범위는 150~1,800bp이다. 전체적인 결과로 보았을 때 각각의 프라이머는 50%이상의 다양성 밴드를

형성하여 개체간 유전적 다양성을 보여주고 있다(Table 3).

통통마디는 염분이 있는 환경에서 서식하기 때문에 대부분의 일반적인 식물과는 다르게 분포지역이 제한적이며 형성되는 군락의 크기가 매우 다양하게 나타난다. 동일 지역에 서식하는 집단이라고 하더라도 분포하는 군락의 패치 크기와 형태가 매우 다르기 때문에 종 내의 유전적 특징에 대한 연구가 매우 중요하다. 군집 크기에 따른 유전적 다양성을 분석하기 위해 ISSR 마커를 이용하여 증폭한 결과 평균 61.7%의 다형성을 갖는 DNA 밴드가 나타남으로써 감자 60.5%(Prevost and Wilkinson, 1999), 흑녹두 54.5%(Souframanien and Gopalakrishna, 2004), 호로파 72%(Dangi *et al.*, 2004) 왕바랭이 83.3%(Kelkar *et al.*, 2017)의 다형성 연구결과와 차이를 보이지 않아 종 내 유전적 다양성을 확인 할 수 있는 유용한 도구임을 확인하였다.

ISSR 분석을 이용한 유전적 다양성의 척도는 POPGENE (Ver. 1.32)를 이용하여 추정하였다. 군집 크기에 따른 통통마디 6개 군집 전체의 유효 대립유전자 수(n_e)는 평균 1.415로 나타났으며, Shannon의 다양성 지수(I)의 평균은 0.382로 나타났다. 군집 내 다형성 유전자좌 비율(%P)은 평균 44.89%로 나타났으며 유전적 다양성 지수(h)는 0.249로 나타났다. 군집의 크기별 다형성 유전자좌 비율과 유전적 다양성 지수는 IW01(0.01m²)에서 20.41%와 0.058로 나타나 가장 낮게 나타났으며, IW02(1m²)에서 30.61%와 0.073로 IW01 보다 약간 높았으나 전체적으로 보았을 때 낮게 나타났다. IW03(25m²)에서는 다형성 유전자좌 비율을 57.14%로 높게 나타났으나 다양성 지수는 0.118로 나타났다. IW04(100m²)는 다형성 유전자좌 비율은 38.78%로 낮게 나타났으나 유전적

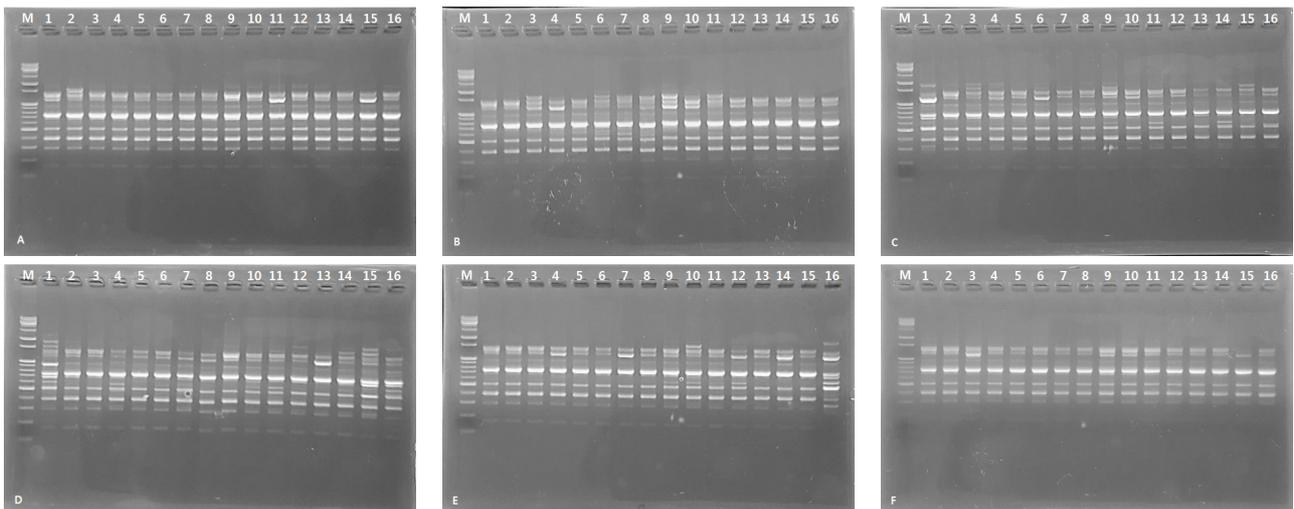


Fig 1. Electrophoretic patterns of DNA fragments amplified using TFRC-10 primer. fragment patterns of *Salicornia herbacea* obtained with the primer TFRC-10. M: 1kb ladder size marker, A: IW01 B: IW02, C: IW03, D: IW04, E: IW05, F: IW06

Table 3. Summary of ISSR results for *Salicornia herbacea*

primer	NF*	PF*	%P*	Fragment size(bp)
TFRC-03	7	5	71.4	300-1,500
TFRC-04	7	4	57.1	300-1,500
TFRC-05	9	6	66.7	350-1,600
TFRC-07	8	6	75.0	400-1,500
TFRC-09	10	5	50.0	250-1,600
TFRC-10	8	4	50.0	150-1,800

*NF = number of total fragments obtained

*PF = number of polymorphic fragments

*P = percentage of polymorphic loci

다양성 지수는 0.141로 IW03보다 높게 나타났다. 다형성 유전자좌 비율과 유전적 다양성 지수가 가장 높게 나타나는 군집의 크기는 IW05(625m²)로 65.31%와 0.227로 나타났으며 IW06(2500m²)에서 57.14%와 0.176으로 나타나 면적 크기의 증가에 따른 유전적 다양성 지수의 증가는 보이지 않았다(Table 4). 유전적 다양성을 갖는 최소 단위면적은 다양성 지수의 변화 양상이 포화상태를 나타내는 면적을 최소 단위면적으로 판정하고 있다(Lee *et al.*, 2006). 따라서 통통마디의 유전적 다양성을 갖는 단위 면적은 IW05에서 가장 높은 다양도 지수를 보이고 있으며 단위 면적 증가에도 불구하고 더 이상 다양도 지수의 증가를 보이지 않기 때문에 유전적 다양성 지수의 포화 단위면적은 25m×25m로 판정할 수 있다.

유전적 다양성 지수와 서식 면적의 상관관계는 관목식물의 경우 각 개체간의 유전적 차이를 보이는 거리를 최소 8~24m 이상의 간격을 두어야 하는 것으로 보고되었으며(Choi *et al.*, 2004a) 과 초본식물은 개체간 거리 20~25m에서 유전적 다형성을 보인다고 보고하였다(Choi *et al.*, 2004b). 일년생 초본 식물인 통통마디 또한 유전적 다양성 지수의 포화상태인 25m×25m의 결과를 보여 초본식물의

공간구조에 따른 유전구조 전형적인 특징을 보인다.

통통마디 집단 간 유전자 교류 지수(Nm)는 0.569로 나타났다(Table 5). 일반적으로 유전자 교류 지수가 1.0이하로 나타나면 유전적 부동 효과가 크게 작용하는 것으로 말할 수 있다(Slatkin, 1987). 관목식물인 만리화 집단의 유전적 교류 지수는 낮게 나타는 것으로 보고되어 있으며 이러한 결과는 집단 규모가 작고 불연속적으로 분포하기 때문에 집단 간 유전자 교류가 원활하지 못함으로써 집단 간 유전적 분화 정도가 커진다(Kim *et al.*, 2009). 따라서 통통마디 집단은 한정된 서식환경으로 인해 유전적 부동 효과가 크게 작용하는 것으로 보인다.

통통마디 군집 쌍사이의 유전적 거리는 IW01과 IW04 사이에서 0.120으로 가장 낮게 나타났으며 IW02와 IW06 사이에서 0.253으로 최대치를 보였다(Table 6). 군집 쌍의 평균적 유전적 거리는 0.175로 나타났으며 UPGMA (Sneath and Sokal, 1973)법을 이용하여 계통수를 작성하여 분석한 결과 IW01과 IW04가 그룹을 형성하였으며 IW02와 IW05, IW03과 IW06에서 각각 그룹을 형성하여 각 집단 간 거리에 관계없이 나타났다(Fig 2).

Table 4. The estimated genetic diversity base on ISSR fragments from sampled area

Population	na*	ne*	h*	I*	%P*
IW01(0.01 m ²)	1.204	1.092	0.058	0.092	20.4
IW02(1 m ²)	1.306	1.109	0.073	0.119	30.6
IW03(25 m ²)	1.571	1.172	0.118	0.198	57.1
IW04(100 m ²)	1.388	1.245	0.141	0.210	38.8
IW05(625 m ²)	1.653	1.396	0.227	0.338	65.3
IW06(2,500 m ²)	1.571	1.289	0.176	0.270	57.1

*na = Observed number of alleles

*ne = Effective number of alleles

*h = gene diversity

*I = Shannon's Information index

*P = Percentage of polymorphic loci

Table 5. Nei's analysis of gene diversity in subdivided populations

HT*	HS*	GST*	Nm*
0.2487	0.1323	0.4679	0.5685

*HT = Total genetic diversity

*HS = Mean within-population genetic diversity

*GST = The proportion of the total genetic diversity found among populations

*Nm = Estimate of gene flow from GST or GCS. E, g., Nm=0.5(1-GST)/GST (McDermott and McDonald, 1993)

Table 6. Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

Pop	IW01	IW02	IW03	IW04	IW05	IW06
IW01	-	0.806	0.782	0.887	0.881	0.869
IW02	0.216	-	0.865	0.803	0.871	0.776
IW03	0.246	0.145	-	0.827	0.865	0.781
IW04	0.120	0.219	0.190	-	0.867	0.856
IW05	0.126	0.139	0.145	0.143	-	0.875
IW06	0.141	0.253	0.248	0.156	0.134	-

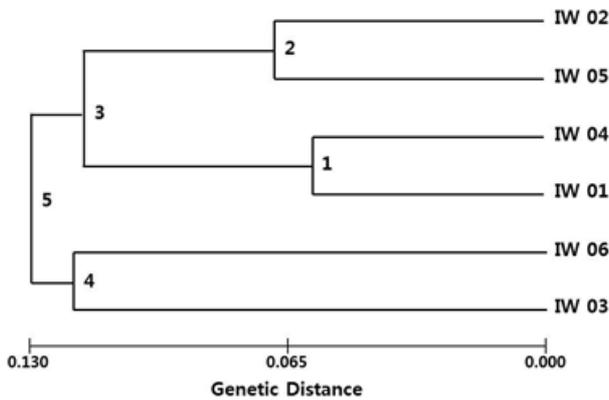


Fig 2. UPGMA tree based on ISSR data for 6 population of *Salicornia herbacea*

식물 종의 지리적 분포, 군집의 크기, 군집간 거리는 집단 내 그리고 집단 간의 유전적 다양성 및 구조를 결정짓는 중요한 요인으로 작용한다(Chung *et al.*, 2013). ISSR 분석을 통한 전나무(Kim *et al.*, 2014) 집단연구와 가침박달(Hong *et al.*, 2013)연구에서 유전적 거리는 집단 간 지리적 거리와 유전적 거리가 상관성이 있는 것으로 보고되어 있으며 반면 느릅나무(Ahn *et al.*, 2013) 집단의 경우 집단 간 거리와 유전적 거리와 상관관계가 유의하지 않는 것으로 나타나 통통마디에서 나타나는 집단사이의 거리와 유전적 다양성 지수가 관계없는 것과 같은 결과를 보이고 있다. 제한적 서식공간을 이용하고 있는 통통마디는 환경 변화로 인해 분포면적이 점점 감소하고 있다. 사라져가고 있는 통

통마디를 보존하기 위해 유전적 다양성이 유지될 수 있는 최소한의 서식공간을 확보할 필요가 있다. 본 연구가 간척지에 서식하는 통통마디 군락을 대상으로 이루어진 연구라는 제한점이 있으나 개체군의 서식 면적에 따른 유전적 다양성 확인을 통해 통통마디의 유전적 다양성 지수가 포화 상태에 이르는 625m²의 면적을 제시함으로써 보존 및 복원에 필요한 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 국립수산물연구원 수산과학연구사업 갯벌어장 환경모니터링(R2017056)의 지원으로 수행된 연구입니다. 시료채집과 현장조사에 함께해주신 장소라 연구원께 감사드립니다. 또한 좋은 논문이 될 수 있도록 고견을 주신 심사 위원께 감사의 말씀 드립니다.

REFERENCES

Ahn, J.Y., K.N. Hong, J.W. Lee and B.H. Yang(2013) Population genetic variation of *Ulmus davidiana* var. *japonica* in South Korea based on ISSR markers. *J. Korean For. Soc.* 102(4): 560-565.(In Korean with English abstract)

Ayala, F.J and J.A. Kiger(1984) *Modern genetics*, 2nd (edn) Benjamin-Cummings. Menlo Park. USA.

Bang, M.A., Kim, H.A and Y.J. Cho(2002) Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in Streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Kor Soc Food Sci Nutr.* 31: 840-846.(in Korean with English abstract)

- Cha, J.Y., Netty, E. Kim, S.G. Lee, J.J. Lim, C.O. Chung, W.S. Lee, K.H. and D.Y. Son(2003) Molecular cloning and characterization of salt-inducible Aldolase from *Salicornia herbacea*. Kor J. Plant Biotechnol. 30(4): 323-328.(in Korean with English abstract)
- Cho, J.Y., S.Y. Park, M.J. Shin, T.C. Gao, J.H. Moon and K.S. Ham(2010) Isolation and Identification of Antioxidative Compounds in Fermented Glasswort (*Salicornia herbacea* L.) Juice. Korean Soc Food Sci Nutr. 39(8): 1137-1142. (in Korean with English abstract)
- Choi, H.S., K.N. Hong, J.M. Chung and W.W. Kim(2004)a Spatial genetic structure and genetic diversity of a rare endemic *Juniperus chinensis* var. *sargentii* in Mt. Halla, Korea. Korean J. Ecol. 27(5): 257-261.(In Korean with English abstract)
- Choi, H.S., K.N. Hong, J.M. Chung and B.Y. Kang(2004)b Genetic diversity and spatial genetic structure of *Empetrum nigrum* var. *Japonicum* in Mt. Halla, South Korea. J. Korean For. Soc. 93(3): 175-180
- Chung, J.M., S.W. Son, S.Y. Kim, G.W. Park and S.S. Kim(2013) Genetic diversity and geographic differentiation in the endangered *Primula farinosa* subsp. *modesta*, a subalpine endemic to Korea. Korean J. Pl. Taxon. 43(3): 236-243.(In Korean with English abstract)
- Cruzan, M.B.(1998) Genetic markers in plant evolutionary ecology. Ecology. 79: 400-412
- Dangi, R.S., M.D. Lagu, L.B. Choudhary, P.K. Ranjekar and V.S. Gupta(2004) Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. BMC Plant Biology. 4: 13.
- Davy, A.J., G.F. Bishop, C.S.B. Costa(2001) *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* L., *S. obscura* P.W. Ball & Tutin, *S. nitens* P.W. Ball & Tutin, *S. fragilis* P.W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss). Journal of Ecology. 89: 681-707.
- Fang, D.Q and M.L. Roose(1997) Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. Theor Appl Genet. 95: 408-417.
- Fritch, P and L.H. Rieseberg(1996) The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In: Molecular Genetic Approaches in Conservation Oxford University Press New York. 54-73.
- Gortner, G., M. Nenno, K. Weising, D. Zink, W. Nagl and G. Kahl(1998) Chromosomal localization and distribution of simple sequence repeats and the Arabidopsis-type telomere sequence in the genome of *Cicer arietinum* L. Chromosome Res. 6: 97-104.
- Han, S.K. and S.M. Kim(2003) Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. j. Kor Soc Food Sci Nutr. 32: 207-210.(in Korean with English abstract)
- Hong, K.N., J.W. Lee and J.T. Kang(2013) Genetic diversity and population genetic structure of *Exochorda serratifolia* in South Korea. J. Korean For. Soc. 102(1): 122-128.(In Korean with English abstract)
- Ihm, B.S., H.H. Myung, D.S. Park, J.Y. Lee and J.S. Lee(2004) Morphological and genetic variations in *Suaeda maritima* based on habitat. J Plant Biol. 47:221-229.
- Jeong, J.H. Kim, T.K. Choi, W.Y. Baek, N.H. Yang, C.H. Kim, D.H. Kim, S. Kim, Y.D. Lee, S.B. Lee, K.B. Park, K.H. and K.M. Cho(2013) Optimum salinity concentration and nitrogen fertilization for *Salicornia herbacea* growth in reclaimed land. Korean J. Intl Agri. 25(1): 62-67.(in Korean with English abstract)
- Jo, Y.C. Lee, K.S. Chon, S.M. and D.S. Byun(2002) Characteristics of growth and germination of *S. herbacea* L. for the soil salinity and manure condition. Korean J. Medicinal Crop Sci. 10: 100-108.(in Korean with English abstract)
- Kantety, R.V., X.P. Zeng, J.L. Bennetzen and B.E. Zehr(1995) Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. Molecular Breeding. 1: 365-373.
- Kelkar, V.G., S.V. Sawardekar, S.G. Bhavne, N.B. Gokhale, D.V. Rasam and S.S. Sawant(2017) Analysis of genetic variability among the finger millet germplasm by using ISSR markers. Environment & Ecology. 35(2C): 1233-1237.
- Kim, C.S and B. S. Ihm(1988) Studies on the vegetation of the salt marsh in the southwestern coast of Korea. Korean J Ecol. 11(4): 175-192.(In Korean with English abstract)
- Kim, H.S. Park, J.W. Lee, Y.J. Shin, G.W. Park, I.B. and Y.C. Jo(2009) The amino acid content and antioxidant activities of glasswort. Kor J Food Preserv. 16: 427-434.(in Korean with English abstract)
- Kim, S.K., S.O. Chung and J.G. Na(2016) Molecular isolation and characterization of the 2CysPrx gene from *Salicornia herbacea*. Korean J. Environ. Ecol. 30(5): 810-820.(in Korean with English abstract)
- Kim, S.Y., Y.D. Kim, J.S. Kim, B.H. Yang, S.H. Kim and B.C. Lee(2009) Genetic diversity of *Forsythia ovata* Nakai (Oleaceae) based on inter-simple sequence repeats(ISSR). Korean J. Pl. Taxon. 39(1): 48-54.(In Korean with English abstract)
- Kim, Y.M., K.N. Hong, J.W. Lee and B.H. Yang(2013) Genetic variation of *Abis holophylla* population in South Korea based on ISSR markers. J. Korean For. Soc. 103(0): 182-188.(In Korean with English abstract)
- Lee, J.S., B.S. Ihm and W.J. Lee(2006) Determination on the minimum area for conservation of four halophyte species from the southwestern coast of Korea based of AFLP. J. Ecol Field Biol. 29(6): 503-509.(in Korean with English abstract)

- McDermott, J.M and B.A. McDonald(1993) Gene flow in plant pathosystems. *Annual Review of Phytopathology*. 31: 353-373.
- Nagaoka, T and Y. Ogiwara(1997) Applicabilty of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 94: 597-602.
- Nei, M(1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance form a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.
- Park, J.C., Jeong, Y.O. Kim, Y.S. and M.R. Huh(2004) Research on transplant possibility of glasswort(*Salicornia herbacea*) into new reclaimed land. *KSPF Envir*. 7: 59-63.(in Korean with English abstract)
- Paterson, A.H., S.D. Tanksley and M.E. Sorrells(1991) DNA markers in plant improvement. *Adv Agron*. 46:39-90
- Prevost, A and M.J. Wilkinson(1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet*. 98: 107-112.
- Sambrook, J., E.F. Frisch and T. Maniatis(1989) *Molecular cloning: Laboratory manual*, 2nd edition. Cold Spring Harbro Press. Cold Spring Harbor Laboratory. New York. (1):6.6.
- Schaal, B.A., W.J. Leverich and S.H. Rogstad(1991) Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology. In: Falk DA, Holsinger KE (eds) *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, New York. 123-134.
- Shannon, C.E(1948) A mathematical theory of communication. *Bell System Tech J*. 27: 379-423.
- Slatkin, M(1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*. 236: 787-792.
- Smith, T.B and R.K. Wayne(1996) *Molecular genetic approaches in conservation*. Oxford University Press, London.
- Sneath, P.H.A and R. R. Sokal(1973) *Numerical Taxonomy*. Freeman San Francisco. CA. P. 573.
- Souframanien, J and T. Gopalakrishna(2004) A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. *Theor Appl Genet*. 109: 1687-1693.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey(1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*. 18: 6531-6535.
- Wolfe, A.D and A. Liston(1998) Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ, eds. *Molecular systematics of plants*. II. DNA sequencing. New York: Chapman and Hall. 43-86.
- Yang, W., A.C. de Oliveira, I. Godwin, K. Schertz and J.L. Bennetzen(1996) Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity: variability in Chinese sorghums. *Crop Sci*. 36: 1669-1676.
- Yeh, F.C., R.C. Yang and T. Boyle(1999) POPGENE. Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis. Release ver.1.32. Edmonton: University of Alberta, Canada.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda(1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 20: 176-183.