

여름철 서식 한국산 홍조류 둥근돌김 (*Porphyra suborbiculata*)의 형태 및 18S rDNA 염기서열 분석

Long-Guo JIN · 김명숙 · 최재석 · 조지영 · 진형주 · 홍용기*
부경대학교 생물공학과

Morphology and Sequence Analysis of Nuclear 18S rDNA from the Summer Strain of *Porphyra suborbiculata* (Rhodophyta) in Korea

Long-Guo JIN, Myung-Sook KIM, Jae-Suk CHOI, Ji-Young CHO
Hyung-Joo JIN and Yong-Ki HONG
Department of Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

The 18S ribosomal RNA gene (18S rDNA) of the marine alga *Porphyra* sp. 723 (Bangiales, Rhodophyta) was amplified using the polymerase chain reaction and its sequence was analysed. The *Porphyra* species was a summer strain collected on rocks in upper intertidal zone at Ikidae, Pusan on 23rd July 1999. The fronds were 1~5 cm long, monostromatic, and orbicular or ovate shaped. They had spinulate processes at margin of the frond. Comparison of this 18S rDNA sequence with the other *Porphyra* species indicates that *Porphyra* sp. 723 has the same 18S rDNA sequence derived from *Porphyra suborbiculata* (NCBI access number; AB 013180) except one base pair substitution in 2327 base pairs.

Key words: 18S rDNA, *Porphyra suborbiculata*, seaweed, sequence comparison, summer *Porphyra*

서 론

해조류 중 홍조류에 속하는 김 (*Porphyra* sp.)은 산업적으로 매우 높은 가치를 가지고 있는 종으로서 우리 나라의 남해안과 서해안을 비롯한 일본, 중국 등지에서 양식으로 대량 생산되고 있다. 한국에서는 양식으로 방사무늬김 (*Porphyra yezoensis*) 및 참김 (*P. tenera*)이 주종을 이루며, 일부 쿠니에다김 (*P. kuniedae*) 등이 있는데 (Kang, 1970), 이들 모든 종들은 그 생육시기가 겨울철이므로 김 양식은 겨울철에만 집중적으로 국한되어 있다. 이 종들 중에서 쿠니에다김 (일명 둥근김)은 그 동안 참김의 한 품종인 둥근 형태로 알려져 왔으나, 그 생활사가 사상체 외에 일부 여름김으로써 여름을 난다는 사실이 밝혀져 별개의 종으로 독립된 바 있다 (Kurogi, 1957). 즉 쿠니에다김은 사상체가 아닌 무성생식을 하는 여름김의 상태인 염체로도 여름을 나는 것이 특색으로 알려져 있었다 (Kang and Ko, 1977). 따라서 그 동안 한국에서는 여름철에도 생육하고 있는 김을 쿠니에다김으로 동정해온 경우가 간혹 있었다.

최근 선진국들에서 진행되고 있는 생물체 유전 자원의 상품화 움직임은 국내 해양 유전 자원을 외국에 예측화시킬 우려가 높으므로 국내에서도 시급히 고유 해양생물종의 동정 및 보존에 대한 연구와 유전 자원의 확보 및 보존에 대한 연구가 본격적으로 시작되어야 할 시점이다. 특히 외국산 우수 김 품종이라도 우리나라 지역에서는 생육이 적합하지 않아 양식 생산량의 감소를 초래하거나 또한 환경 변화에 적응하지 못하여 생산 효율이 감소할수도 있으므로, 장차 우리 나라 지역 특성에 적합한 한국 고유 종의 개발 등으로서 각 지역 특성에 합당한 품종 개량이 요구된다.

최근의 분자생물학적 연구에서는 김 종들의 구별을 위하여 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 방법에 의한 동정 (Araki et al., 1992; Stiller and Waaland, 1993), Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) 방법에 의한 동정 (Dutcher and Kapraun, 1994; Shin et al., 1996), 혹은 18S rDNA 염기서열에 의한 분류 (Saunders and Druehl, 1992; Oliveira et al., 1995; Tan and Druehl, 1996; Yamazaki et al., 1996), Rubisco spacer 염기서열에 의한 분류 (Brodie et al., 1996; 1998) 등의 방법들이 쓰여지고 있다. 그중 특히 세포 핵내에 존재하는 ribosomal RNA 지령의 유전자 (rDNA)는 직렬로 반복되어 있는 repeated transcription unit로서 진핵생물에서는 28S rDNA, 18S rDNA, 5.8 S rDNA의 3개 전사영역을 포함하고 있다 (Williams et al., 1988). 이들 영역들 중에서 특히 18S rDNA gene은 염기서열이 많이 보존되어 있어서 종의 구별 등 분류학적 연구에 많이 쓰여지고 있다.

따라서 본 연구에서는 여름철에도 김 양식이 가능한 고유종의 개발 가능성을 확인하기 위한 기초적인 단계로서, 남해안에서 여름철까지 생육하고 있는 여름김을 대상으로하여 18S rDNA 유전자의 염기서열분석을 수행하고 이를 기준으로 하여 그 동안 여름 김이라고 알려져 왔던 종의 실체를 밝히고자 하는데 그 목적이 있다. 특히 김과 같은 유용 해조류를 대상으로 유용품종을 탐색하여 외국 종과 유전자원을 비교 분석함으로써 유전자원으로서의 보존활용, 종묘 및 개체 수준에서의 종보존 체계를 확립하고 이의 응용에 대한 연구의 기초자료로서 제공되는 것을 목적으로 한다.

재료 및 방법

형태학적 관찰

본 연구에 사용된 여름김은 부산시 이기대 해안의 암반에서 1999년

*Corresponding author: ykhong@pknu.ac.kr

6월과 7월에 걸쳐서 채집하였으며, 채집한 엽체는 실험실에 옮긴 직후 초음파 및 betadine 처리 등의 무균화처리 (Park et al., 1998)를 하였다. 형태분류학적인 식별형질의 분석은 식물의 생체와 건조표본을 대상으로 수행하고 분류군의 특징을 나타내는 형태적 형질과 해부학적 형질은 광학 현미경으로 관찰하면서 사진을 찍었다.

DNA 추출

7월 23일에 채집한 여름김 (*Porphyra* sp. 723) 조직으로부터 total DNA의 추출은 LiCl방법 (Hong et al., 1995)에 따라 추출하였다. 이때 시료는 0.1 g을 약 0.2 cm씩 자른후 15 ml plastic tube에 넣고 4 ml의 추출용액 (0.8 M LiCl, 10 mM EDTA, 0.6% Sarcosyl, 0.2% PVPP, 5% β -mercaptoethanol, pH 9.0)으로 55°C에서 10분간 열처리한 다음 4°C에서 1시간동안 진탕하였다. 그리고 1000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상등액에 0.1배의 3 M sodium acetate (pH 5.4)와 2배의 ethanol을 넣어 -20°C에서 1시간동안 놓아두면서 침전이 잘 이루어지게 한 다음 3000 rpm에서 5분간 원심분리하여 DNA를 회수하였다. 마지막으로 70% ethanol로 세척한후 건조한 다음 300 μ l의 증류수에 녹였다.

DNA 정량

추출한 DNA는 Mini Fluorometer (Hoefer, Model TKO 100)로 정량하였으며, PCR의 주형으로 사용하기 위하여 최종농도를 3 ng/ μ l로 조정하였다.

PCR 증폭

PCR 증폭은 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Co.)를 사용하여 수행하였다. 전체 18S rDNA 영역을 증폭하기 위하여는 specific한 primer set인 5'SSU와 NS2, F397와 R1132, F1092와 NS4, NS5와 3'SSU의 조합으로 사용하였다 (Table 1). PCR 반응액은 25 μ l당 1 μ l의 template DNA (3 ng/ μ l), 1 μ l의 각 primer (50 pmol/ μ l), 1 μ l의 2.5 mM dNTPs, 2 μ l의 25 mM MgCl₂, 2.5 μ l의 10 \times PCR buffer, 1 μ l의 12.5% Tween 20, 0.3 μ l의 Taq DNA polymerase (5 u/ μ l) (Promega)를 첨가하였다. PCR반응조건은 초기 반응을 94°C에서 5분간 시킨 다음, 94°C에서 1분간 DNA denaturation, 45°C에서 1분간 primer annealing, 72°C에서 2분간 DNA extension의 cycle로 35회 반응시키고 나서, 마지막으로 72°C에서 10분간 PCR 생성물들을 충분히 extension시켰다.

Table 1. Primer list for amplification of 18S rDNA sequence used in this work

Primer	Sequence	Reference
5'SSU	5'-CAACCTGGTTGATCCTGCCAG-3'	Stiller and Waaland, 1993
3'SSU	5'-TGATCCTTCTGGCAGGTTCCACCTAC-3'	Stiller and Waaland, 1993
NS 2	5'-GGCTGCTGGCACCAGACTTGC-3'	White et al., 1990
NS 5	5'-AACTTAAAGGAATTGACGGAAG-3'	White et al., 1990
F 397	5'-CTGAGAAACGGCTACCATAC-3'	Kunimoto et al., 1999
R 1132	5'-GTCCGACTACGAGCGTTTAACTG-3'	Kunimoto et al., 1999
F 1092	5'-CGCGGTAATTCAGCTCCAATAGCA-3'	Kunimoto et al., 1999
NS 4	5'-CTTCCGTCAATTCCTTAAAG-3'	White et al., 1990

Agarose gel 전기영동 및 DNA 회수

10 μ l의 PCR product는 0.5 μ g/ml의 EtBr가 포함된 2% agarose gel 상에서 0.5 \times TAE buffer (20 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA, pH 8.0)로서 100 V 전압으로 30분간 전기영동하였다 (Sambrook et al., 1989). 전기영동을 한 다음, 원하는 DNA band만을 agarose gel에서 오려내어 DNA extraction kit (Boehringer Mannheim Co.)의 protocol에 따라 DNA를 회수하였다.

DNA ligation 및 형질전환

DNA ligation과 형질전환은 Invitrogen사의 Topo TA cloning kit의 protocol에 따라 수행하였다.

Plasmid 추출 및 제한효소 처리

Plasmid 추출은 High Pure Plasmid Isolation Kit (Boehringer Mannheim Co.)의 protocol에 따라 추출하였다. Plasmid를 추출한 다음, 원하는 PCR product가 삽입되었는지의 여부를 확인하기 위하여 Eco RI 제한효소로 분해하여 DNA 삽입을 확인하였다.

DNA 염기서열 분석

DNA 염기서열은 DNA Auto Sequencer (ABI PRISM 377, Perkin Elmer Co.)로 분석하였으며, 염기 상동성은 NCBI의 BLAST search 프로그램을 이용하여 비교하였다. 전체 18S rDNA sequence는 기존의 NCBI에 등록된 *Porphyra* 종들 (Table 2)을 대상으로 Clustal W program을 이용하여 alignment시켰고, alignment view는 Genedoc program (Nicholas et al., 1997)을 사용하였다. Phylogentic tree는 Treecon program (Van de Peer and de Wachter, 1994)을 이용하여 그렸다.

결 과

형태적 분석

식물체는 부산 이기대의 조건대 상부 파도가 심하게 치는 암반

Table 2. The *Porphyra* species and GenBank accession numbers for genetic analysis

Species	GenBank accession number	Reference
<i>Porphyra dentata</i>	AB013183	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra haitanensis</i>	AB013181	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra katadae</i>	AB013184	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra leucosticta</i>	L26199	Ragan et al. (1994)
<i>Porphyra miniata</i>	L26200	Ragan et al. (1994)
<i>Porphyra pseudolinearis</i>	AB013185	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra</i> sp. 723		In this study
<i>Porphyra suborbiculata</i>	AB013180	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra tenera</i> (KK)	D86237	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra tenera</i> (SK)	AB013175	Kunimoto et al. (1999)
<i>Porphyra tenera</i> (T8)	AB000964	Unpublished data
<i>Porphyra yezoensis</i> (TU-1)	D79976	Yamazaki et al. (1996)

위에서 생육하고 있었으며, 그 체장은 1~5 cm 내외로 비교적 작았다. 식물체의 형태는 난형 또는 원형이었는데 엽체의 가장자리 부분은 많이 소실된 상태로 상부 쪽에서는 말리는 현상이 나타나며, 적갈색이나 암적색을 띠었다 (Fig. 1A, 1B). 광학 현미경으로 관찰한 결과 엽체의 하부 가장자리에는 거치상 돌기가 뚜렷하고 (Fig. 1C), 영양세포는 단층으로 불규칙하게 배열되어 있으며, 두께는 30~50 μm 이었다 (Fig. 1D, 1F). 가근세포는 표면에서 타원

형, 단면에서 사각형이며, 두께는 50~80 μm 이었다 (Fig. 1E, 1G). 식물체를 6월과 7월에만 채집하였으므로, 생식기관이 형성된 재료는 관찰하지 못하였다.

18S rDNA의 증폭

전체 18S rDNA 영역을 증폭하기 위하여 각종 primer set를 조합하여 PCR 반응시킨 후 그 생성물을 TA cloning vector인 pCR

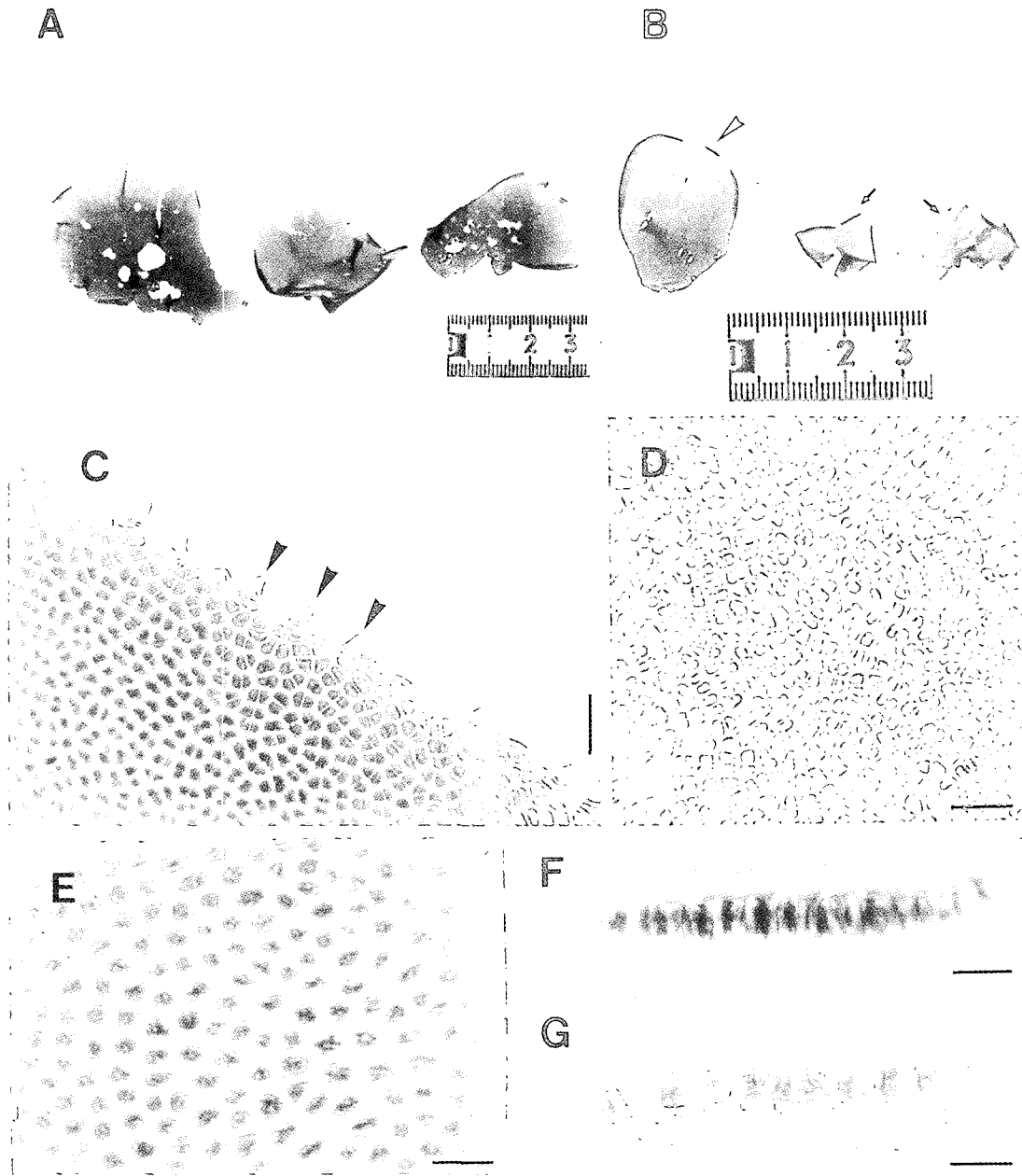


Fig. 1. The rhodophyta *Porphyra suborbiculata* Kjellman collected from Ikidae, Pusan. A, Plants collected on 13th June 1999. B, Plants collected on 13th June 1999 (arrowhead) and on 23th July 1999 (arrow). C, Thallus margin with spinulate processes (arrowhead). D, Vegetative cell disposition in surface view. E, Rhizoidal cells in surface view. F, Transverse sections of vegetative cells. G, Transverse sections of rhizoidal cells. (Scale bars; 20 μm).

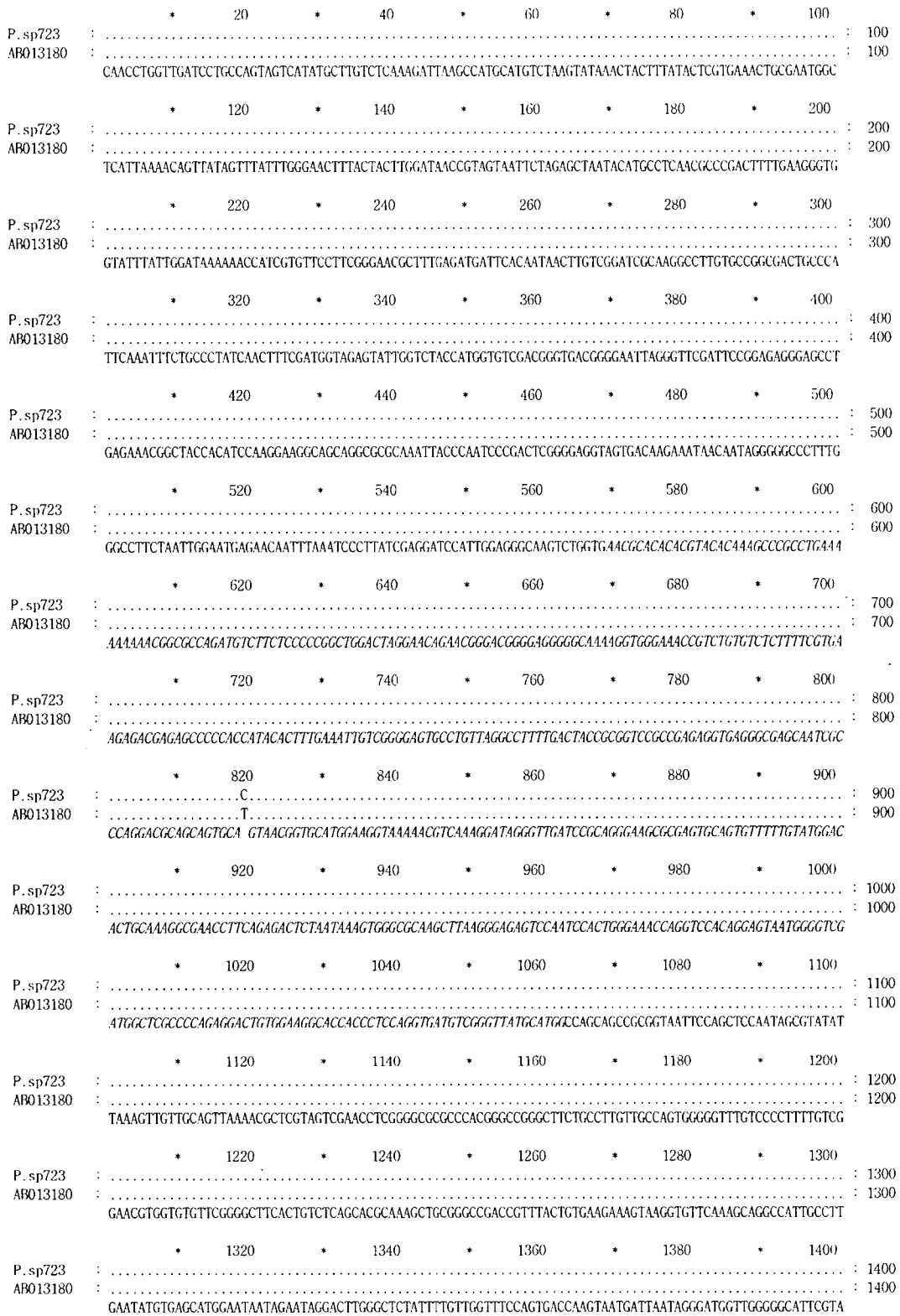


Fig. 2. Alignment of 18S rDNA sequence from the *Porphyra* sp. 723 using Clustal W program. The *Porphyra* sp. 723 is summer strain of the *Porphyra* species collected from Ikidae in Pusan. The AB013180 indicates the *Porphyra suborbiculata* (NCBI accession number AB013180). Numbers refer to nucleotide positions. Dots represent identity with the sequence of *Porphyra* sp. 723 and AB013180. Italic part is an intron of 494 bp.

P. sp723	:	:	1500
AB013180	:	:	1500
		TTTCATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTGATGGAAGACGCACTACTGCGAAAGCATCTGCCATGGATGTTTCATTGATCAAGAACGAAAGTTAGGGG		
P. sp723	:	:	1600
AB013180	:	:	1600
		ATCGAAGACGATCAGATACCGTCTGTAGTCTTAACCATAAACGATGCCACTGGGGATTGGCGGGGCAATAITTTATGACTTCGTGACACCCGTAGGGA		
P. sp723	:	:	1700
AB013180	:	:	1700
		AACCAAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACAGGAGTGGACCTGCGGCTTAATT		
P. sp723	:	:	1800
AB013180	:	:	1800
		TGACTCAACACGGGAAAACCTACCAGGTCCGGACAGAAGATGATGACAGACTGAAAGCTCTTCTTGATTTTTGGTTGGTGGTGCATGGCCGTTCTT		
P. sp723	:	:	1899
AB013180	:	:	1900
		AGTTGGTGGAGTGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACCTCGCCCTGCTAAATAGGTGCGCGATGCCAGAAGTGGCTTCTTACCTCTTAG		
P. sp723	:	:	1999
AB013180	:	:	2000
		AGGGACTATGCGCGTCTAGCGTATGGAAGATTGAGGCAATAACAGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGGCGCTACACTGATGCTTTCA		
P. sp723	:	:	2099
AB013180	:	:	2100
		ACGAGTTTCACTTGACAGCCCTGGGTGGAAGGCCGGTAATCTTTTGAAAATGCATCGTGTGGGATAGATCATTGCAATTATGATCTTAAACGAG		
P. sp723	:	:	2199
AB013180	:	:	2200
		GAAATCTTGTAGGCGCAGGTATCAGCCTGCGCCGAATACGTCCCTTGTACACACCGCCGTCGCTCTACCGATTGAATGGTCCGATGAAAT		
P. sp723	:	:	2299
AB013180	:	:	2300
		GTCCGGATGCGCGCTGTGTGATGGTTTCATCCAGAACGCTAGCGGTGAGAAGCTCATTAAATCTTACCATTAGAGGAAGGAGAAGTGTAAACAGGTT		
P. sp23	:	:	2326
AB013180	:	:	2327
		TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCA		

Fig. 2. (Continued)

2.1에 삽입하여 형질전환시켰다. 이때 PCR product가 정확히 삽입된 plasmid인지의 여부를 확인하기 위하여, 형질전환된 각 집락으로부터 vector plasmid를 추출한 후, 우선 제한효소 *Eco* RI으로 분해하여 비교하여 보았다. 이 형질전환 집락으로부터 약 3 ml의 균체를 배양하여 재조합된 plasmid를 plasmid isolation kit로서 분리하여 DNA 염기서열 조사를 행하였다.

DNA 염기서열 비교

TA cloning vector에 삽입된 18S rDNA 부분의 구조를 알기 위하여, DNA sequencer에 의한 그 염기서열을 조사하였다. Fig. 2와 같이 *Porphyra* sp. 723 (여름김)의 18S rDNA sequence 부분을 NCBI의 BLAST search 프로그램을 이용하여 알려진 김 종류의 18S rDNA 유전자들과 유사성 검색을 실시한 결과, GenBank accession number AB013180의 등근돌김 (*Porphyra suborbiculata*)과 염기서열 한 곳에서만 즉 819번 위치에서 Thymine 염기가

Cytosine 염기로의 치환 (transition substitution)을 제외하고는 2327 bp 염기 모두가 완전히 일치하였다. 그리고 여름김과 등근돌김 모두 568번에서 1062번까지 494 bp의 똑같은 크기와 배열의 intron을 가지고 있었다. 그리고 Treecon program으로 작성한 phylogenetic tree (Fig. 3) 상에서도 본 여름김은 다른 김 종 그룹과는 유전적으로 거리가 멀며 등근돌김 (*P. suborbiculata*)과는 bootstrap analysis를 1000번 반복하였을 때도 100% 유사성을 나타내었다. 따라서 부산 이기대에서 여름철인 7월 23일에 채집된 여름김은 형태적으로나 18S rDNA의 염기서열로나 등근돌김에 속하는 것으로 여겨진다.

고찰

Kang and Ko (1977)에 따르면, 쿠니에다김으로 불리었던 여름김은 4월경에는 2~4 cm의 크기이고, 7~8월에는 더욱 작아져서

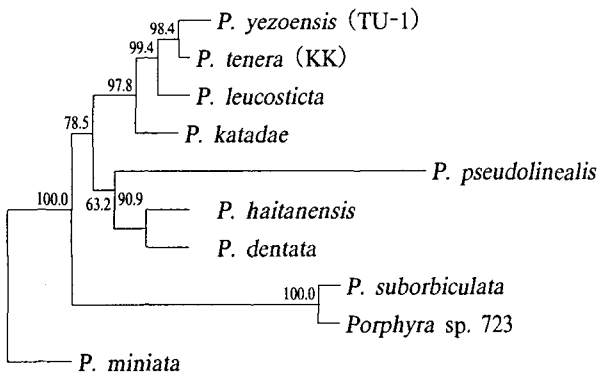


Fig. 3. Phylogenetic tree of the members of the species *Porphyra* based on the neighbor-joining method with values for each internal branch, determined by bootstrap analysis with 1000 replicaitons. The values indicate percentages along the branch.

1 mm~1 cm의 크기이며, 8~9월까지 남아 있던 여름김에서 나온 중성 포자는 사상체에서 나온 각포자와 같이 발아하여 다음 양식기의 김으로 된다는 것이다. 본 연구 결과 부산 이기대에서 채집한 식물체의 체장은 1~5 cm로 그 동안 알려져 왔었던 것보다 큰 것으로 확인되었다. 또한 여름김은 여름 수온이 낮은 해에 많고 광선이 잘 쬐지 않는 건조되기 어려운 곳에 많이 있다고 보고되었으나 (Kang and Ko, 1977), 채집지인 이기대에서의 식물체는 직사광선이 내리 쬐고 파도가 많이 치는 조건대 상부의 넓은 암반 위에서 생육하고 있었다.

참김 아속에 속하는 분류군에 대하여 연구자들은 엽체 가장자리의 거치상 돌기의 유무를 주요 형질로 다루어 왔는데 (Kurogi, 1972; Miura, 1988), 한국산 김속 식물 중에는 잇바다돌김과 둥근돌김이 거치상 돌기를 갖고 있는 분류군으로 보고되어 왔다 (Hawng, 1994). 본 연구에서 여름김의 관찰 결과 뚜렷하게 거치상 돌기가 존재함을 확인하였다 (Fig. 1C). Hawng (1994)은 정자낭반의 유형에 따라 김속 식물을 4가지 유형으로 구분하였는데, 특히 오카무라돌김과 둥근돌김은 정자낭반이 엽체 가장자리를 따라서 형성된다고 언급하였다. 이들 두 분류군은 정자낭반이 파도자낭보다 먼저 성숙하여 방출하므로 대개의 경우 정자낭반은 엽체 좌우 가장자리의 아래부분에서만 관찰된다는 것이다. 본 연구에서는 재료의 채집이 6월과 7월에만 국한된 관계로 정자낭반의 형성을 관찰하지는 못하였다.

쿠니에다김은 Kurogi (1957)가 독립된 종으로 만들기까지는 참김의 한 형태인 둥근형으로 알려져 왔으며 방사무늬김으로 혼동되기도 하였다 (Hawng, 1994). Kurogi (1957)는 체형이 난형, 원형 또는 신장형으로서 참김에 비하여 폭이 넓은 편이고 7~8월까지 생육하는 점, 항상 자동동주인 점등의 특성을 근거로 본 종을 참김과 분리시켜 신종으로 처리하였다. 따라서 그 동안 한국에서는 여름철에 생육하고 있는 식물체를 여름김이라 칭하고 이것은 쿠니에다김과 동일한 종으로 알려져 왔었다 (Kang and Ko, 1977). 그러나 쿠니에다김의 주요 식별형질을 살펴보면, 가근세포의 가근이 한쪽 방향으로 배열하고 표면에서의 가근세포의 형태가

유선형이며, 거치상 돌기가 없다는 것이다 (Hawng, 1994). 이와는 달리 본 연구에서 관찰한 식물체는 가근이 양쪽 방향으로 배열하고 가근세포는 타원형이며, 거치상 돌기가 뚜렷하였다 (Fig. 1). 이처럼 본 연구에서 채집된 식물체의 형태분류학적 결과와 쿠니에다김과는 전혀 다른 특징을 보이고 있으므로 부산 이기대 해안 암반에서 생육하고 있는 여름김을 쿠니에다김으로 동정하는 것은 타당하지가 않으며, 둥근돌김 (*Porphyra suborbiculata*)으로 분류하는 것이 옳다고 하겠다.

또한 본 연구에서 18S rDNA영역을 PCR증폭하여 염기서열을 기존의 NCBI GenBank에 등록된 *Porphyra* 종들의 염기서열과 비교하였다. 이러한 김 염기서열들을 clustal W program을 이용하여 alignment시키고 Treecon program을 이용하여 phylogenetic tree를 그린 결과 여름김은 일본산 둥근돌김과 염기 한곳의 차이를 제외하고는 완전히 일치한 결과를 나타내었으며 bootstrap 분석에서도 1000번 반복하였을 때 100% 다른 group과 구별 가능성을 나타내었다. 염기서열 구조적으로도 전체 2327 bp의 염기들 중 819번 위치에서 염기가 Thymine에서 Cytosine으로 같은 pyrimidine 구조의 염기로 치환되는 transition substitution 형식으로 치환되어 있으며, 둘 다 494 bp의 똑같은 크기와 배열의 intron도 지니고 있다. 따라서 최소한 여름철 (7월 23일)에 부산 이기대에서 서식하는 여름김은 지금까지 일반적으로 여름김으로 알려진 쿠니에다김 또는 독립적인 종이 아니라 둥근돌김 (*P. suborbiculata*)이라는 것이 형태적으로나 유전자 염기서열 비교에서 공통적으로 나타났다.

사 사

이 논문은 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구결과 일부입니다. 김명숙은 부경대학교 해양식량자원개발 특성화사업단 박사후 전임연구원임.

참 고 문 헌

- Araki, S., T. Sakurai, T. Oohusa and N. Sato. 1992. Comparative restriction endonuclease analysis of rhodoplast DNA from different species of *Porphyra*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 477~480.
- Brodie, J., P.K. Hayes, G.L. Barker and L.M. Irvine. 1996. Molecular and morphological characters distinguishing two *Porphyra* species (Rhodophyta, Bangiophycidae). *Eur. J. Phycol.*, 31, 303~308.
- Brodie, J., P.K. Hayes, G.L. Barker, L.M. Irvine and I. Bartsch. 1998. A reappraisal of *Porphyra* and *Bangia* (Bangiophycidae, Rhodophyta) in the northeast Atlantic based on the *rbcl-rbcS* intergenic spacer. *J. Phycol.*, 34, 1069~1074.
- 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.
- 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.
- Hwang, M.S. 1994. A taxonomic study on the genus *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) in Korea. Ph. D. dissertation. Seoul National University,

- Korea. pp. 277 (in Korean).
- Kang, J.W. 1970. Species of cultivated *Porphyra* in Korea. Bull. Kor. Fish. Soc., 3, 77~92 (in Korean).
- Kang, J.W. and N.P. Ko. 1977. Seaweed Aquaculture. Taewha Publication, Pusan, Korea. pp. 294 (in Korean).
- Kunimoto, M., H. Kito, Y. Kaminishi, Y. Mizukami and N. Murase. 1999. Molecular divergence of the ssu rRNA gene and internal transcribed spacer 1 in *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta). J. Appl. Phycol., 11, 211~216.
- Kurogi, M. 1957. "Yoshoku-nori no Shurui" (Species of cultivated *Porphyra*). Aquaculture, 4, 21~28 (in Japanese).
- Kurogi, M. 1972. Systematics of *Porphyra* in Japan. In *Contributions to the systematics of benthic marine algae of the North Pacific*. Abbott, I.A. and M. Kurogi, ed. Jap. Soc. Phycol., Kobe. pp. 167~191.
- Miura, A. 1988. Taxonomic studies of *Porphyra* species cultivated in Japan, referring to their transition to the cultivated variety. J. Tokyo Univ. Fish., 75, 311~325.
- Nicholas, K.B., H.B. Nicholas Jr. and D.W. Deerfield. 1997. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation. EMBNEW News, 4, 14.
- Oliveira, M.C., J. Kurniawan, C.J. Bird, E.L. Rice, C.A. Murphy, R.K. Singh, R.R. Gutell and M.A. Ragan. 1995. A preliminary investigation of the order Bangiales (Bangiothecaceae, Rhodophyta) based on sequences of nuclear small-subunit ribosomal RNA genes. Phycol. Res., 43, 71~79.
- Park, J.W., Y.C. Cho, B.H. Nam, H.J. Jin, C.H. Sohn and Y.K. Hong. 1998. RAPD identification of genetic variation in the seaweed *Hizikia fusiformis*. J. Mar. Biotechnol., 6, 62~64.
- Ragan, M., C.J. Bird, E.L. Rice, R. Gutell and R.K. Singh. 1994. A molecular phylogeny of the marine red algae (Rhodophyta) based on the nuclear small-subunit rRNA gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 7276~7280.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. pp. 18~88.
- Saunders, G.W. and L.D. Druehl. 1992. Nucleotide sequences of the small-subunit ribosomal RNA genes from selected Laminariales (Phaeophyta): Implications for kelp evolution. J. Phycol., 28, 544~549.
- Shin, J.A., N. Morikawa, H. Akita and A. Miura. 1996. Polymerase chain reaction-based identification of varieties in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). J. Aomori Univ. & Aomori Jr. Coll., 18, 101~106.
- Stiller, J.W. and J.R. Waaland. 1993. Molecular analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta). J. Phycol., 29, 506~517.
- Tan, I.H. and L.D. Druehl. 1996. A ribosomal DNA phylogeny supports the close evolutionary relationships among the Sporochneales, Desmarestiales, and Laminariales (Phaeophyceae). J. Phycol., 32, 112~118.
- Van de Peer, Y. and R. de Wachter. 1994. TREECON for windows: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the microsoft windows environment. Comput. Applic. Biosci., 10, 569~570.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Innis, M., J. Gelfand, J. Sninsky and T. White ed. Academic Press, Florida. pp. 315~322.
- Williams, S.M., R.W. de Bry and J. Feder. 1988. A commentary on the use of ribosomal DNA in systematic studies. Syst. Zool., 37, 60~62.
- Yamazaki, S., Y. Kitade, T. Maruyama and N. Saga. 1996. Phylogenetic position of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) based on the 18S rDNA sequence. J. Mar. Biotechnol., 4, 230~232.

2000년 9월 14일 접수

2000년 11월 4일 수리