

한국 남서해안 자연채묘 양식 김의 DNA 염기서열과 종 동정

황미숙 · 김선미¹ · 하동수 · 백재민 · 김형섭¹ · 최한구^{2*}

(국립수산과학원 남해수산연구소 해조류연구센터 · ¹강릉대학교 생물학과 · ²강릉대학교 자연과학연구소)

DNA Sequences and Identification of *Porphyra* Cultivated by Natural Seeding on the Southwest Coast of Korea

Mi Sook Hwang, Sun-Mi Kim¹, Dong-Soo Ha, Jae Min Baek,
Hyeung-Seop Kim¹ and Han-Gu Choi^{2*}

Seaweed Research Center, South Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Mokpo 530-831 and

¹Department of Biology and

²Institute for Natural Sciences, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

Nuclear SSU and ITS1 rDNA and plastid *rbcl* sequences were determined to identify the seven samples of *Porphyra* cultivated by means of natural seeding on the southwest coast of Korea and analyzed to access the phylogenetic relationships of them with the natural populations of *P. tenera* and *P. yezoensis* from Korea and Japan. SSU, *rbcl* and ITS1 data from 18, 21 and 31 samples, respectively, including previously published sequences were investigated in the study. Results from our individual and combined data indicated that the seven samples were all *P. yezoensis* and the entities except one from Muan 2 aquafarm strongly grouped together with the natural populations of *P. yezoensis* from the south and the west coast of Korea. The sample from Muan 2 seems to be derived from a strain of *P. yezoensis* introduced from Japan by *Porphyra* farmers, based on DNA sequence data.

Key Words: ITS1, natural seeding, *Porphyra tenera*, *P. yezoensis*, *rbcl*, SSU

서 론

우리나라 양식 김은 2004년도 기준으로 연간생산량이 22.8만톤이고 생산액은 1,915억원으로, 전체 해조류 연간 총생산액인 2,560억원의 약 75%를 차지하고 있다(해양수산부 2004). 현재 국내에서 주로 양식되고 있는 김은 참김(*Porphyra tenera* Kjellman), 방사무늬김(*P. yezoensis* Ueda), 모무늬돌김(*P. seriata* Kjellman) 그리고 잇바디돌김(*P. dentata* Kjellman)의 4종이다. 부산·경남지역과 경기·충청·전북 지역에서는 참김과 방사무늬김을, 전남지역에서는 4종 모두를 양식하고 있으며 대부분 인공채묘를 채택하고 있다. 그러나 완도, 진도, 해남을 중심으로 하는 남서해안 지역에서는

인공채묘와 더불어 자연채묘를 이용하여 생산되는 김(일명 '동아 김' 또는 '동아채묘 김')도 많아 전체 김 생산량의 약 20%를 차지한다.

인공채묘가 도입되기 전까지 우리나라에서 양식되어 온 김은 주로 참김으로 알려져 왔다(Ueda 1932; 강 1970). 그러나 강(1970)은 1968년부터 1970년까지 각 양식장의 표본을 채취하여 조사한 결과 참김은 일부 지역 또는 한 시기에 국한되는 반면 대부분의 양식장에서 방사무늬김이 주류임을 확인한 바 있으며, 이러한 방사무늬김의 강세현상은 향후 인공채묘가 보급됨에 따라 더욱 가속화될 것으로 예측하였다. 1980년대 이후 우리나라의 김 양식은 인공채묘의 보편화, 유리사상체 배양기술의 발달, 일본에서 도입된 다수확 품종의 양식, 부류식 양식, 양식어장의 확대 등에 의하여 생산량이 급격히 증가하게 되었다(Sohn 1993, 1998). 특히 유리사상체 배양기술에 의한 인공채묘로 어업인이 원하는 품종을 양식

*Corresponding author (hchoi82@mac.com)

Table 1. Sample information for *Porphyra* cultivated by natural seeding, *P. koreana*, *P. kuniedae*, *P. tenera* and *P. yezoensis* used in this study

Taxon	Collection details	Sample	SSU	<i>rbcL</i>	ITS1
<i>Porphyra</i> cultivated by natural seeding	Sisando, Goheung, 12 May 2003	NS001	DQ227853	DQ227860	DQ227867
	Ihwoejin, Jangheung, 17 Apr. 2003	NS002	DQ227854	DQ227861	DQ227868
	Guiseongri, Jindo, 26 Feb. 2000	NS003	DQ227855	DQ227862	DQ227869
	Hwawon, Haenam, 4 Mar. 2000	NS004	DQ227856	DQ227863	DQ227870
	Wangsanri, Muan 1, 8 Jan. 2003	NS005	DQ227857	DQ227864	DQ227871
	Wangsanri, Muan 2, 8 Jan. 2003	NS006	DQ227858	DQ227865	DQ227872
	Eoido, Sinan, 6 May 2003	NS007	DQ227859	DQ227866	-
<i>P. koreana</i> Hwang et Lee	Yeonamdong, Pohang, 1 Mar. 2002	KO301	unpubl.	unpubl.	unpubl.
<i>P. kuniedae</i> Kurogi	Sachon, Namhae, 4 Feb. 2001	KU204	unpubl.	unpubl.	-
<i>P. tenera</i> Kjellman	Sopo, Tongyoung, 7 Feb. 2001	HM003	unpubl.	unpubl.	unpubl.
	Cheongsando, 19 Feb. 2004	HM007	unpubl.	unpubl.	unpubl.
<i>P. yezoensis</i> Ueda	Masanri, Pohang, 6 Feb. 2001	YEZ206	unpubl.	unpubl.	unpubl.
	Neungpo, Geojeodo, 6 Mar. 2000	CH394	unpubl.	unpubl.	unpubl.
	Cheongsando, 19 Feb. 2004	HM006	-	-	unpubl.
	Pajanggeum, Wido, 7 Apr. 2004	HM012	unpubl.	unpubl.	-
	Daechonhang, Daechon, 22 Apr. 2004	HM014	unpubl.	unpubl.	unpubl.

할 수 있게 됨으로써 일본산 다수확 품종들이 널리 보급되어 양식되었으며(정 등 1977; 고 등 1980; Oohusa 1993), 이에 따라 자연채묘 김 중에도 일본 품종이 혼입되었을 가능성이 증가되어 왔다.

참김과 방사무늬김은 형태적으로 가장 유사한 종으로서 엽체 두께와 정자낭 및 접합포자낭(과포자낭)의 분열양식으로 두 종을 구분하고 있지만(Ueda 1932; Kurogi 1972), 이들 형질 역시 생육지의 환경특성에 따라 변이가 나타나므로(Kurogi 1961, 1972) 이러한 차이만으로 두 종을 정확히 구분하기는 쉽지 않다(황과 이 2001, 2002). 그러나 최근에는 DNA 염기서열 분석과 RFLP 등의 분자생물학적 기법을 이용하여 김속 식물의 계통학적 유연관계를 파악하고 종 또는 종내 strain을 식별할 수 있게 되었다(Stiller and Waaland 1993; Ragan et al. 1994; Oliveira et al. 1995; Broom et al. 1999, 2002; Kunimoto et al. 1999a, b, 2003; Nelson et al. 2001; Teasdale et al. 2002; Klein et al. 2003; Lindstrom and Fredericq 2003; Niwa and Aruga 2003; Jones et al. 2004; Niwa et al. 2004, 2005). 특히 참김과 방사무늬김의 종 구분에는 SSU rDNA의 exon 부위의 염기서열이 유용하며, 종내 strain 구분에는 SSU rDNA의 intron 부위와 ITS1 염기서열이 유용한 유전적 표지(genetic marker)로 제안되었다(Kunimoto et al. 1999a, b, 2003; Niwa et al. 2005)

본 연구에서는 우리나라 남서해안 지역에서 자연채묘되는 양식 김의 핵 SSU 및 ITS1 rDNA와 색소체 *rbcL* 염기서열을 분석한 후, 이를 한국산과 일본산 참김 및 방사무늬김의 염기서열과 비교함으로써 자연채묘 양식 김의 분류학적 실체를 밝히고 이들 간의 계통학적 유연관계를 파악하고자 하였다.

재료와 방법

시료의 채집 및 보관

자연채묘 양식 김의 시료는 고흥, 장흥, 진도, 해남, 무안 및 신안 지역의 양식장에서 채집하였다. DNA 염기서열 비교 및 분자계통학적 분석을 위하여 참김의 2개 자연개체군, 방사무늬김의 5개 자연개체군 그리고 쿠니에다김(*P. kuniedae* Kurogi) 및 비단잎돌김(*P. koreana* Hwang et Lee) 시료를 분석에 포함시켰다(Table 1, Fig. 1). 자연채묘 양식 김 중 NS005(무안 1)와 NS006(무안 2)은 동일 양식장에서 채집되었으나 형태적으로 차이가 나타난 시료를 구분한 것이다. 무안 지역 양식장의 경우 둥근돌김(*P. suborbiculata* Kjellman)과 잇바디돌김(*P. dentata* Kjellman)이 혼입된 것을 발견하였으나 본 연구에서는 제외하였다. 야외에서 채집한 시료는 실험실로 운반하였으며 형태관찰을 위한 시료는 5% 포르말린 해수로 고정하여 건조표본을 만들었다. DNA 염기서열 분석을 위한 시료는 멸균 해수용액으로 부착생물과 오염물질을 제거하고 Kimwipes로 수분을 제거한 후 건조제가 담긴 원심분리용 튜브에 넣어 상온에 보관하였다. 본 연구에 사용된 시료에 대한 확증 건조표본은 국립수산물과학원 해조류연구센터에 소장하였다.

형태·해부학적 형질 분석

자연채묘 양식 김의 형태적 특징은 건조표본을 만든 후 조사하였다. 지역별 형태·해부학적 변이를 파악하기 위하여 엽체 형태, 기부 형태, 현미경적 거치의 유무, 수정모의 특징, 정자낭과 접합포자낭의 분열형식 등의 정성형질과 엽장,

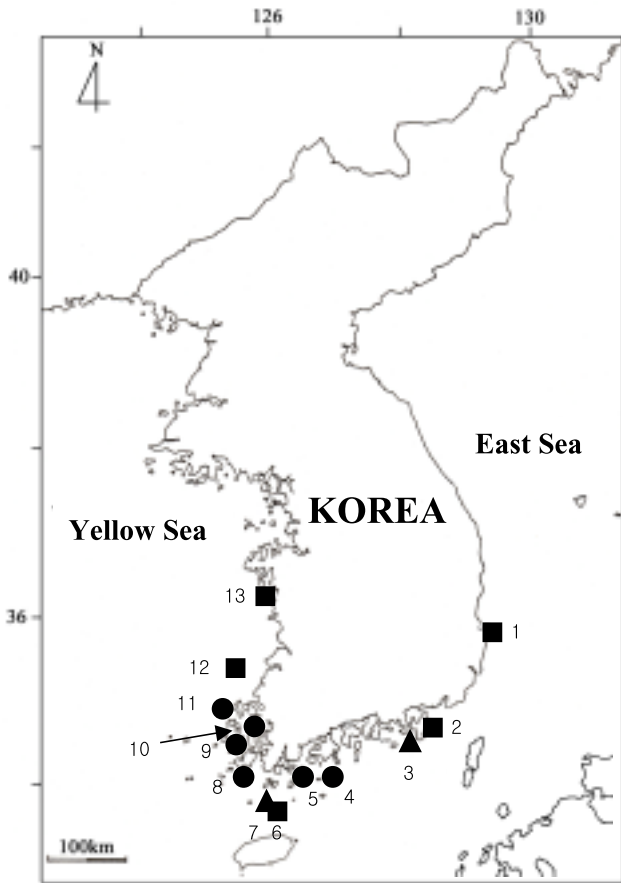


Fig. 1. Sampling sites of *Porphyra* cultivated by natural seeding (circle), *P. tenera* (triangle) and *P. yezoensis* (square). 1, Yeonamdong, Pohang; 2, Neungpo, Geoje-do; 3, Sopo, Tongyoung; 4, Sisando, Goheung; 5, Ihwoejin, Jangheung; 6, 7, Cheongsando; 8, Guiseongri, Jindo; 9, Hwawon, Haenam; 10, Wangsanri, Muan; 11, Eido, Sinan; 12, Pajanggeum, Wido; 13, Daecheonhang, Daecheon.

엽폭, 엽체 두께 등의 정량형질을 비교하였다.

DNA 염기서열 분석

DNA 추출을 위하여 건조 보관한 재료를 대상으로 Strach-Crain 등(1997)의 방법으로 세포를 분해하고 단백질을 제거한 후 Wizard® DNA Clean-Up System(Promega, WI, USA)의 resin을 1 mL 첨가하여 column을 통과시켰다. 그리고 2 μ L의 80% isopropanol을 column에 통과시킨 후 2분간 12,000 rpm으로 원심분리한 후에 10분간 건조한 다음 50 μ L의 증류수를 column에 넣고 20초간 12,000 rpm으로 원심분리하여 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 EtBr이 첨가된 0.8% agarose gel 상에서 확인하였다.

핵의 SSU rDNA 부위는 Saunders와 Kraft(1994)의 G01/G14와 G04/G07의 primer 조합을 사용하였고, ITS1 부위는 IIC01(최 등, 미발표 자료)과 White 등(1990)의 ITS2 primer 조합을 사용하였으며, 색소체의 *rbcL* 부위는 F-

20/R1150+와 F993+/RrbcSP(최 등, 미발표 자료)의 primer 조합을 사용하여 GeneAmp® PCR System 2400과 2720 Thermal Cycler(ABI, Singapore)로 증폭하였다. 증폭된 유전자 부위의 PCR product는 DNA High Pure® PCR Product Purification Kit(Roche Diagnostics corporation, Indianapolis, IN, USA) 또는 QIAquick® Gel Purification Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA)를 사용하여 정제하였다. 정제 후 BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(ABI, Foster City, CA, USA)를 사용하여 Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 분석하였다.

분석된 염기서열은 SeqEd™ Program(ABI)을 사용하여 각 유전자 부위를 완성시킨 후 각각의 염기서열과 GenBank로부터 입수한 일본산 참김과 방사무늬김의 SSU와 ITS1 rDNA 그리고 *rbcL* 염기서열(Table 2)을 SeqPup Program(Gilbert 1995)에서 정렬을 확인하였다. 또한 SSU rDNA의 intron 영역은 알려진 김속 식물의 염기서열과 함께 Clustal X Program(v. 1.64b, Thompson et al. 1997)을 사용하여 정렬시킨 후 MacClade Program(v. 3.08a, Maddison and Maddison 1999)을 사용하여 염기서열의 변화를 확인하였다. 계통학적 유연관계는 PAUP* 프로그램(v. 4.0b10 for Macintosh, Swofford 2002)을 사용하여 근린결합분석(neighbor-joining analysis; 2000 rounds of bootstrap resampling), 최대절약분석(maximum parsimony analysis; R=10, 1000 rounds of bootstrap resampling) 그리고 최대유사분석(maximum likelihood analysis; R=100)을 수행하였다. 근린결합분석과 최대유사분석에서는 Modeltest 프로그램(v. 3.06, Posada and Crandall 1998)을 사용하여 각 분자 자료를 위한 가장 좋은 진화모델을 결정하고 분석에 적용하였다. 한편, Bayesian 계통분석에서는 MrBayes 프로그램(v. 3.0b4, Huelsenbeck and Ronquist 2001)을 사용하여 GTR+ Γ +I model(a general time reversible(GTR) model with a gamma correction for among-site variation(Γ) and invariant sites(I))을 적용하고 four chain으로 5,000,000 generations를 수행하였다.

결 과

자연채모 양식 김의 형태·해부학적 특징

자연채모 양식 김의 엽체 형태는 원형, 타원형, 난형, 도란형, 선형, 피침형 등 다양하였으며 한 쪽으로 구부러진 형태도 나타났다(Table 3, Fig. 2). 기부 형태는 썩기꼴, 원형 또는 심장형이었으며 현미경적인 거치는 관찰되지 않았다. 엽장은 대체로 8-20 cm였으며 NS005(무안 1)와 NS006(무안 2)은 25-30 cm에 이르렀다. 엽폭은 대체로 3-12 cm였으나 NS005(무안 1)에는 1-2 cm의 좁은 개체들이 나타났으며

Table 2. Sources of additional SSU, *rbcL* and ITS1 sequence data included in the multiple alignments

Taxon	Sample location	GenBank accession No.			
		SSU	<i>rbcL</i>	ITS1	
<i>Porphyra tenera</i> Kjellman	Kawaura, Kumamoto, Japan	AB013176	AB118576	AB017073	
<i>P. yezoensis</i> Ueda	Hakodate, Hokkaido, Japan	AB013177	AB118574	-	
	Nanaehama, Hokkaido, Japan	-	-	AB017074	
	"Na-2", Hokkaido, Japan	-	-	AB017075	
	"Na-4", Hokkaido, Japan	-	-	AB017076	
	Ogatsu, Miyagi, Japan	AB013178	AB118575	-	
	"Ogatsu-1", Miyagi, Japan	-	-	AB017078	
	"Ogatsu-2", Miyagi, Japan	-	-	AB017079	
	"Ogatsu-4", Miyagi, Japan	-	-	AB017081	
	<i>P. yezoensis</i> f. <i>narawaensis</i> Miura	"Ariyake-1", Japan	-	-	AB019191
		"Fukuoka-1", Japan	-	-	AB017082
		"F6-1", Japan	-	AB118590	AB017083
		"Harima-7", Japan	-	-	AB125319
		"Midorime", Japan	-	AB118589	AB017084
		"Noma-1", Japan	-	-	AB017085
"Noriken-4", Japan		-	-	AB125316	
"Saga 103", Japan		-	-	AB017086	
"Saga-5", Japan		-	AB118587	AB019187	
"Sasaki", Japan		-	-	AB019188	
"Shikoku", Japan	-	-	AB017087		

Table 3. Morphological characteristics of *Porphyra* cultivated by natural seeding on the southwest coast of Korea

Character	NS001 from Goheung (Fig. 2A)	NS002 from Jangheung (Fig. 2B)	NS003 from Jindo (Fig. 2C)	NS004 from Haenam (Fig. 2D)	NS005 from Muan 1 (Fig. 2E)	NS006 from Muan 2 (Fig. 2F)	NS007 from Sinan (Fig. 2G)
Thallus shape	elliptical to obovate	round to elliptical	elliptical to lanceolate	ovate to elliptical	linear to lanceolate	curved shape	round to elliptical
Basal shape	round to cordate	round to cordate	cuneate	round to cuneate	round to cordate	round to cordate	round to cordate
Marginal denticulation	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent
Trychogyne	conspicuous	conspicuous	conspicuous	conspicuous	(not mature)	conspicuous	conspicuous
Thallus length (cm)	12 - 20	10 - 15	8 - 15	10 - 15	10 - 25	15 - 30	10 - 15
Thallus width (cm)	5 - 8	5 - 12	3 - 5	5 - 12	1 - 2	8 - 20	8 - 12
Thickness (μm)	20 - 25	20 - 28	20 - 25	20 - 25	18 - 22	28 - 35	30 - 35
Division pattern of zygotosporangium	a/2(4),b/2,c/2(4)	a/2,b/2,c/2(4)	a/2,b/2,c/2(4)	a/2,b/2,c/2(4)	(not mature)	a/2,b/2,c/2(4)	a/2,b/1(2),c/2(4)
Divison pattern of spermatangium	a/4,b/4,c/4(8)	a/4,b/4,c/4(8)	a/4,b/4,c/4(8)	a/4,b/4,c/4(8)	(not mature)	a/4,b/4,c/4(8)	a/4,b/4,c/4(8)

NS006(무안 2)에는 20 cm에 이르는 넓은 개체가 나타났다. 엽체 두께는 18–35 μm 범위였으며 NS006(무안 2)과 NS007(신안)은 다른 지역의 자연채묘 김에 비하여 더 두꺼웠다(Table 3).

NS005(무안 1)는 미성숙하여 생식세포를 관찰할 수 없었다. 그 외 시료에서 조파기의 수정모는 모두 뚜렷하였다. 정자낭의 분열형식은 미성숙 개체를 제외하면 모두 a/4,b/4,

c/4(8)였으며 접합포자낭 분열형식은 a/2,b/1,c/2(4), a/2,b/2,c/2(4), 또는 a/4,b/2,c/2(4)로 다양하게 나타났다(Table 3).

자연채묘 양식 김의 DNA 염기서열 특징과 분자 계통학적 유연관계

핵의 SSU rDNA 염기서열 분석: 자연채묘 양식 김의 정

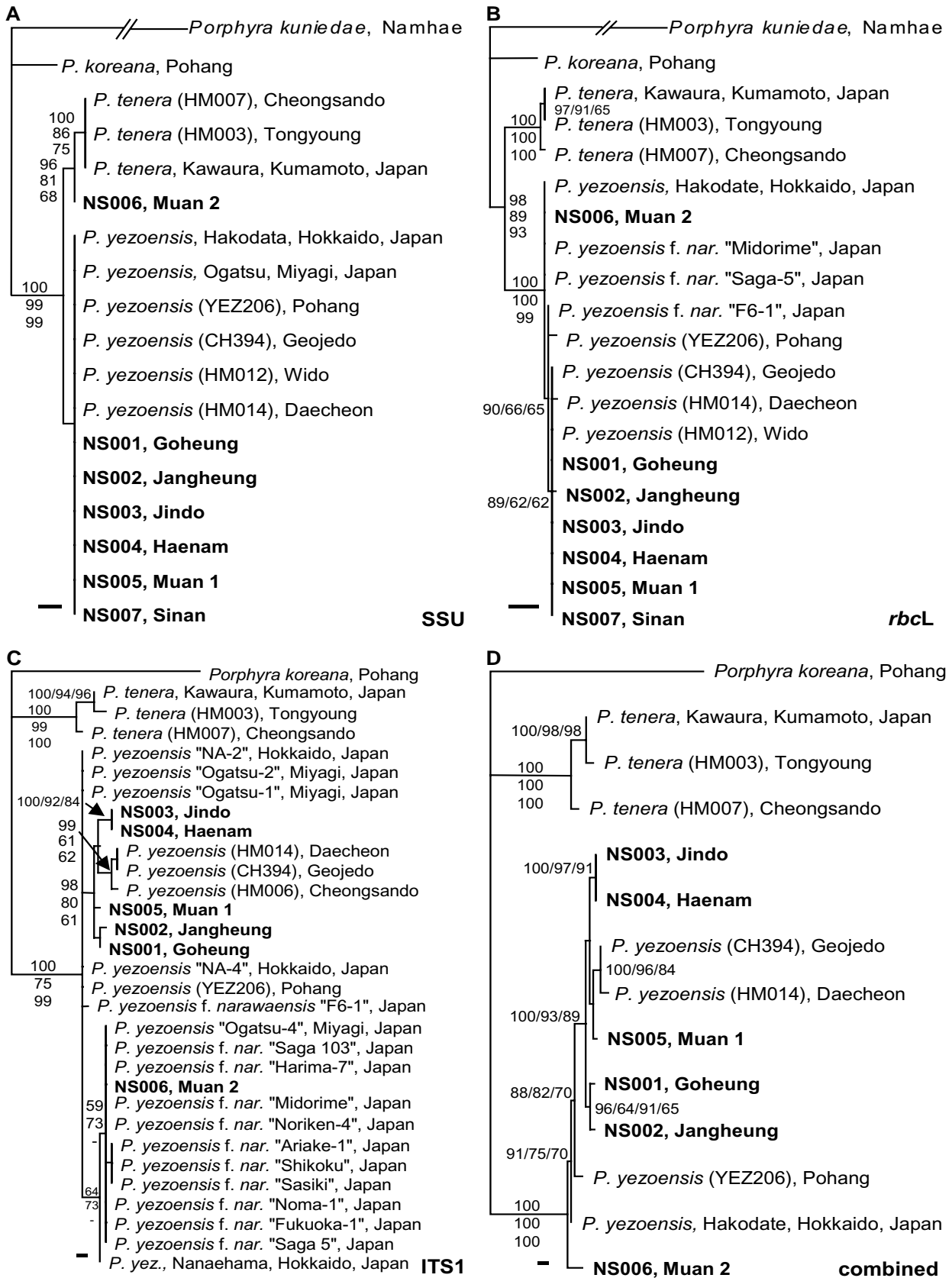


Fig. 4. Trees constructed with Bayesian inference for the SSU (A), *rbcL* (B), ITS1 (C) and combined (D) alignment (GTR+ Γ + I model). Values at branches represent Bayesian posterior probabilities (left value), and 2000 and 1000 bootstrap replicates for distance and parsimony (middle and right values, respectively) analyses. Branches lacking values received less than 50% support. Scale bars = 0.001 substitutions/site in A and D; scale bars = 0.005 substitutions/site in B and C.

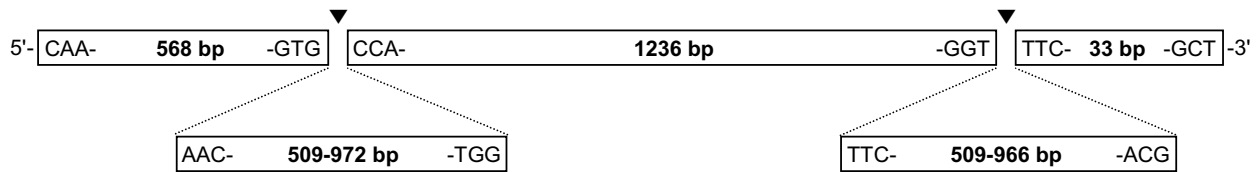


Fig. 5. Putative primary structure of nuclear SSU rDNA from *Porphyra* cultured by natural seeding, *P. tenera* and *P. yezoensis*. The upper and lower frames represent exon and introns, respectively. Arrow heads indicate the positions of intron insertion. Letters and numbers designate the partial sequences and total nucleotide number of the fragment, respectively.

Table 5. Length (bp) of the introns of SSU rDNA on the upstream and downstream

Taxon	Sample	Upstream intron	Downstream intron
<i>P. tenera</i> Kjellman	AB013176 (Kawanra Kumamoto, Japan)	972	783
	HM003 (Tongyoung)	509	615
	HM007 (Cheongsando)	509	521
<i>P. yezoensis</i> Ueda	AB013177 (Hakodate, Hokkaido, Japan)	517	-
	AB013178 (Ogatsu, Miyagi, Japan)	517	509
	YEZ206 (Pohang)	516	520
	CH394 (Geojedo)	-	524
	HM012 (Wido)	511	527
	HM014 (Daecheon)	511	527
	<i>Porphyra</i> cultivated by natural seeding	NS001 (Goheung)	510
NS002 (Jangheung)		513	529
NS003 (Jindo)		512	963
NS004 (Haenam)		512	966
NS005 (Muan 1)		512	529
NS006 (Muan 2)		517	959
NS007 (Sinan)		510	-

표 김은 동일한 염기서열을 보였으며 참김과는 3 bp(position 211, 1055, 1599)에서 염기치환이 확인되었으나, 방사무늬김과는 동일하였다. NS006(무안 2)은 다른 자연채묘 김과 1 bp(position 1599, C→T)에서 치환이 확인되었으며, 참김과 방사무늬김에 대해서도 각각 1 bp(position 1055와 1559)에서 치환이 확인되었다. 그 밖에 일본의 Hakodate와 Ogatsu 그리고 포항에서 채집한 방사무늬김과 NS006(무안 2)의 염기서열은 211과 212 염기 위치에서 2 bp 크기의 gap이 존재하는 것으로 확인되었다.

정렬된 SSU rDNA의 exon 염기서열 자료로부터 Bayesian 계통수를 구하고, Bayesian posterior probability, 근린결합분석과 최대절약분석의 bootstrap value를 표시하였다(Fig. 4A). 쿠니에다김(*P. kuniedae*)과 비단잎돌김(*P. koreana*)을 외군으로 하였을 때 참김과 방사무늬김은 뚜렷이 구분되는 계통군을 형성하였다. NS006(무안 2)을 제외한 자연채묘 김은 방사무늬김과 동일 계통군을 형성하였으며 NS006(무안 2)은 참김과 동일 계통군을 형성하였다.

SSU rDNA의 intron 분석은 exon 부위에서 염기서열의 차이가 1-3 bp로 확인된 참김, 방사무늬김 그리고 자연채묘 김을 대상으로 하였다(Table 5). 대부분의 시료들의 intron은 upstream과 downstream에 각각 한 개씩의 intron이 존재하

였으나 NS007(신안)과 일본 Hakodate에서 채집된 방사무늬김(AB013177)은 upstream에 한 개의 intron만 존재하였고 거제도에서 채집된 방사무늬김(CH394)은 downstream에 한 개의 intron만 존재하였다. Intron의 길이는 upstream intron이 509 bp(HM003, HM007)에서 972 bp(AB013176), 그리고 downstream intron이 509 bp(AB013178)에서 966 bp(NS004)로 다양하였다(Table 5, Fig. 5).

Upstream intron의 길이는 NS006(무안 2), 포항 방사무늬김(YEZ206) 그리고 일본산 방사무늬김(Hakodate, AB013177; Ogatsu, AB013178)에서 516-517 bp로 거의 동일하였으며, 염기서열도 이들 사이에 단 1개에서 3개의 치환만이 확인되었다(Table 5와 6). 한편 다른 자연채묘 김들은 길이가 510-513 bp로서 위도(HM012)와 대천(HM014)에서 채집된 방사무늬김과 유사하였으며, 염기서열 또한 동일하거나 단 1개의 치환만이 확인되었다.

Downstream intron은 upstream intron에 비해 그 크기와 염기서열에서 보다 다양한 양상을 보였다(Table 5와 7). 특히 NS006(무안 2)은 통영에서 채집된 참김(HM003)과 길이에서는 비록 959 bp와 615 bp로 크게 차이가 있었으나, 단 1개의 염기치환만이 확인되어 주목되었다. 한편 다른 자연채묘 김 사이에는 길이가 529-966 bp까지로 다양하였고 염기서열

Table 6. Pairwise distances (total character differences) between samples for the upstream intron of SSU sequence data. Dashed triangle indicates the character differences between three samples of *Porphyra yezoensis* and NS006, and solid triangle indicates those between two samples of *P. yezoensis* and six samples of *Porphyra* cultivated by natural seeding from Korea

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>P. tenera</i> , Kawaura, Kumamoto, Japan	-														
2 <i>P. tenera</i> (HM003), Tongyoung	36	-													
3 <i>P. tenera</i> (HM007), Cheongsando	39	3	-												
4 <i>P. yezoensis</i> , Hakodate, Hokkaido, Japan	40	18	21	-											
5 <i>P. yezoensis</i> , Ogatsu, Miyagi, Japan	40	18	21	0	-										
6 NS006, Muan 2	39	17	20	1	1	-									
7 <i>P. yezoensis</i> (YEZ206), Pohang	37	15	18	3	3	2	-								
8 <i>P. yezoensis</i> (HM012), Wido	33	8	11	13	13	12	10	-							
9 <i>P. yezoensis</i> (HM014), Daecheon	33	8	11	13	13	12	10	0	-						
10 NS001, Goheung	34	8	11	14	14	12	11	1	1	-					
11 NS002, Jangheung	33	8	11	13	13	12	10	0	0	1	-				
12 NS003, Jindo	33	8	11	13	13	12	10	0	0	1	0	-			
13 NS004, Haenam	33	8	11	13	13	12	10	0	0	1	0	0	-		
14 NS005, Muan 1	33	8	11	13	13	12	10	0	0	1	0	0	0	-	
15 NS007, Sinan	34	8	11	14	14	13	11	1	1	0	1	1	1	1	-

Table 7. Pairwise distances (total character differences) between samples for the downstream intron of SSU sequence data. Dashed triangle indicates the character differences between three samples of *Porphyra tenera* and NS006, and solid triangle indicates those between five samples of *P. yezoensis* and six samples of *Porphyra* cultivated by natural seeding from Korea

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>P. tenera</i> , Kawaura, Kumamoto, Japan	-													
2 NS006, Muan 2	16	-												
3 <i>P. tenera</i> (HM003), Tongyoung	15	1	-											
4 <i>P. tenera</i> (HM007), Cheongsando	37	29	29	-										
5 <i>P. yezoensis</i> , Ogatsu, Miyagi, Japan	44	46	46	20	-									
6 <i>P. yezoensis</i> (YEZ206), Pohang	49	50	50	23	11	-								
7 <i>P. yezoensis</i> (CH394), Geojedo	49	50	50	22	10	3	-							
8 <i>P. yezoensis</i> (HM012), Wido	49	50	50	23	11	4	1	-						
9 <i>P. yezoensis</i> (HM014), Daecheon	48	49	49	21	11	4	1	2	-					
10 NS001, Goheung	47	50	50	22	6	8	7	8	8	-				
11 NS002, Jangheung	47	50	50	22	6	8	7	8	8	0	-			
12 NS003, Jindo	32	36	25	51	38	41	41	41	42	34	34	-		
13 NS004, Haenam	29	33	22	48	35	38	38	38	39	31	31	3	-	
14 NS005, Muan 1	49	50	50	22	7	6	5	6	6	2	2	36	33	-

도 36 bp까지의 염기치환이 확인되었다.

색소체의 *rbcl* 유전자 염기서열 분석: 본 연구에서 새로이 결정된 자연채묘 양식 김의 *rbcl* 염기서열을 GenBank에 등록하였다(Table 1). 분석한 *rbcl*의 염기서열 자료는 GenBank에서 입수한 자료(Table 3)를 포함하여 총 21개 시료에 1,446 bp로 구성되었다. Pairwise distance 분석에서 자연채묘 김은 0-3 bp의 염기서열 차이가 확인되었다(Table 8). 자연채묘 김 중에서 NS006(무안 2)을 제외하였을 때 자연채묘 김 사이에는 염기서열이 동일하거나 단 1개의 염기치환이 확인되었다. 자연채묘 김은 방사무늬김과 0-4 bp 차이를 보였으며 참김과는 20-23 bp 차이를 나타내었다. 한편

NS006(무안 2)은 다른 자연채묘 김과 2-3 bp 차이를 보였으나 일본산 방사무늬김(Hakodate와 Ogatsu) 및 큰방사무늬김(*P. yezoensis* f. *narawaensis*)과는 동일하거나 단 1개의 염기치환만이 확인되었다.

정렬된 *rbcl* 염기서열 자료로부터 Bayesian 계통수를 구하고, Bayesian posterior probability, 근린결합분석과 최대질량 분석의 bootstrap value를 표시하였다(Fig. 4B). 쿠니에다김(*P. kuniedae*)과 비단잎돌김(*P. koreana*)을 외군으로 하였을 때 자연채묘 김, 방사무늬김 및 큰방사무늬김으로 구성된 계통군과 참김만으로 구성된 계통군을 형성하였으며 이들 두 개의 계통군은 모두 강하게 지지되었다. NS006(무안 2)을 제

Table 8. Pairwise distances (total character differences) between samples for *rbcL* sequence data. Dashed triangle indicates the character differences between three samples of *Porphyra tenera* and solid triangle indicates those between nine samples of *P. yezoensis* and seven samples of *Porphyra* cultivated by natural seeding from Korea

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1 <i>P. kuniedae</i> , Namhae	-																					
2 <i>P. koreana</i> , Pohang	81	-																				
3 <i>P. tenera</i> , Kawaura, Kumamoto, Japan	83	26	-																			
4 <i>P. tenera</i> (HM003), Tongyoung	83	26	0	-																		
5 <i>P. tenera</i> (HM007), Cheongsando	81	27	2	2	-																	
6 <i>P. yezoensis</i> , Hakodate, Hokkaido, Japan	83	25	20	20	20	-																
7 <i>P. yezoensis</i> , Ogatsu, Miyagi, Japan	83	25	20	20	20	0	-															
8 <i>P. yezoensis</i> f. nar. "F6-1", Japan	84	26	22	21	21	1	1	-														
9 <i>P. yezoensis</i> f. nar. "Midorime", Japan	83	25	20	20	20	0	0	1	-													
10 <i>P. yezoensis</i> f. nar. "Saga 5", Japan	83	25	20	20	20	0	0	1	0	-												
11 <i>P. yezoensis</i> (YEZ206), Pohang	86	28	22	23	23	3	3	2	3	3	-											
12 <i>P. yezoensis</i> (CH394), Geoje-do	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	-										
13 <i>P. yezoensis</i> (HM012), Wido	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	-									
14 <i>P. yezoensis</i> (HM014), Daecheon	86	28	22	23	23	3	3	2	3	3	4	1	1	-								
15 NS001, Goheung	86	28	22	23	23	3	3	2	3	3	4	1	1	2	-							
16 NS002, Jangheung	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	0	1	1	-						
17 NS003, Jindo	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	0	1	1	0	-					
18 NS004, Haenam	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	0	1	1	0	0	-				
19 NS005, Muan 1	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	0	1	1	0	0	0	-			
20 NS006, Muan 2	83	25	22	20	20	0	0	1	0	0	3	2	2	3	3	2	2	2	2	-		
21 NS007, Sinan	85	27	22	22	22	2	2	1	2	2	3	0	0	1	1	0	0	0	0	2	-	

외한 자연채묘 김은 거제도, 위도 및 대천의 방사무늬김 자연채묘체군과 연관되었으며 NS006(무안 2)은 이들과 분리되어 일본산 방사무늬김 및 큰방사무늬김과 연관되었다.

ITS1 염기서열 분석: 본 연구에서 새로이 결정된 자연채묘 양식 김의 ITS1 염기서열을 GenBank에 등록하였다(Table 1). 분석한 ITS1 염기서열 자료는 GenBank에서 입수한 자료(Table 3)를 포함하여 총 31개의 시료 399 bp로 구성되었다.

Pairwise distance 분석(Table 9)에서 자연채묘 김 시료들 사이에는 0-9 bp의 염기서열 차이를 보였다. 자연채묘 김 중에서 가장 큰 차이를 나타낸 NS006(무안2)을 제외하였을 때 이들 사이에는 0-5 bp의 염기치환이 확인되었다. 자연채묘 김은 방사무늬김과 0-10 bp 차이를 보였으며 참김과는 22-28 bp 차이를 나타내었다. 한편 NS006(무안 2)은 다른 자연채묘 김 시료와 7-9 bp 차이를 보였으나 일본산 방사무늬김 및 큰방사무늬김과는 0-3 bp 차이만을 보였다.

정렬된 ITS1 염기서열 자료로부터 Bayesian 계통수를 구하고, Bayesian posterior probability, 근린결합분석과 최대절약분석의 bootstrap value를 표시하였다(Fig. 4C). 비단잎돌김(*P. koreana*)을 외군으로 하였을 때 자연채묘 김, 방사무늬김 및 큰방사무늬김으로 구성된 계통군과 참김만으로 구성된 계통군을 형성하였으며 이들 두 개의 계통군은 비교적 강하게 지지되었다. NS006(무안 2)을 제외한 자연채묘 김은 거제도, 청산도 및 대천의 방사무늬김과 강하게 연관되었으며

NS006(무안 2)은 일본산 방사무늬김 및 큰방사무늬김과 약하게 연관되었다.

SSU exon, rbcL 그리고 **ITS1** 염기서열의 유합자료 분석: 본 연구에서 분석한 유합자료는 14개 시료에 3,627 bp로 구성되었다(Table 10). 유합자료의 AT ratio는 54.8%였으며 transition과 transversion의 비율은 1.590으로 SSU exon 자료와 ITS1 자료 보다는 높고 rbcL 자료보다는 낮았다. Informative site의 비율은 ITS1 자료가 가장 높았고 다음으로 rbcL 자료, 유합자료 그리고 SSU exon 자료의 순이었다.

유합자료로부터 Bayesian 계통수를 구하고, Bayesian posterior probability, 근린결합분석과 최대절약분석의 bootstrap value를 표시하였다(Fig. 4D). 비단잎돌김(*P. koreana*)을 외군으로 하였을 때 자연채묘 김과 방사무늬김으로 구성된 계통군과 참김만으로 구성된 계통군을 형성하였으며 이들 두 개의 계통군은 매우 강하게 지지되었다. NS006(무안 2)을 제외한 자연채묘 김은 거제도와 대천의 방사무늬김과 강하게 연관되었으며 NS006(무안 2)은 다른 자연채묘 김과 방사무늬김으로 구성된 계통군의 자매군으로 분석되었다.

고 찰

본 연구에서 관찰한 자연채묘 양식 김은 엽체 형태, 기부

Table 10. Nucleotide composition of the SSU, *rbcL* and ITS1 alignments and statistics from maximum parsimony analyses of the individual and combined SSU exon, *rbcL* and ITS1 data sets

	SSU			<i>rbcL</i>	ITS1	Combined
	Upstream intron	Exon	Downstream intron			
Number of taxa	15	18	14	21	31	14
Nucleotides (bp)	994	1,785	977	1,446	399	3,627
AT ratio (%)	44.9	51.6	45.9	60.1	49.3	54.8
Ts/Tv ratio	0.826	0.905	1.326	3.893	1.052	1.590
Variable sites (%)	55 (5.5)	71 (4.0)	84 (8.6)	107 (7.4)	67 (16.8)	116 (3.2)
Informative sites (%)	22 (2.2)	7 (0.4)	62 (6.3)	28 (1.9)	34 (8.5)	55 (1.5)
Divergence (%)						
Between all taxa	0 - 8.0	0 - 0.6	0 - 9.6	0 - 5.7	0 - 13.3	0 - 2.3
Between <i>P. tenera</i> vs. <i>P. yezoensis</i>	1.6 - 8.0	0.1 - 0.2	0.2 - 9.6	1.4 - 1.6	5.8 - 7.7	1.2 - 1.5
Within <i>P. yezoensis</i>	0 - 2.8	0 - 0.1	0 - 7.5	0 - 0.3	0 - 1.4	0 - 0.3
Number of MP trees	> 10,000	229	5	1	> 10,000	9
MP tree length	56	72	110	114	79	131
Consistency index	0.982	1.000	0.773	0.974	0.924	0.954
Retention index	0.980	1.000	0.877	0.963	0.949	0.957

형태, 엽체 두께 등에서 참김과 방사무늬김의 특징이 함께 나타났으나 단면에서 볼 때 정자낭은 8층까지, 접합포자낭은 4층까지 분열되었으므로 방사무늬김과 더 유사하였다. 또한 SSU rDNA, *rbcL* 및 ITS1 염기서열 분석에서도 자연채묘 김은 방사무늬김과 동일 계통군을 형성한 반면 참김과 뚜렷이 구분되었다. 자연채묘 김 중 가장 이질적인 특징을 보인 NS006(무안 2)을 제외하였을 때, *rbcL* 유전자 염기서열에서 자연채묘 김은 거제도, 위도 및 대천의 방사무늬김 자연개체군과, ITS1 염기서열에서는 거제도, 청산도 및 대천의 방사무늬김 자연개체군과 강하게 연관되었다. 따라서 남서해안 지역에서 자연채묘되고 있는 양식 김은 방사무늬김으로 확인되었으며 우리나라 남해안 및 서해안 지역의 자연암반에서 생육하는 방사무늬김과 동일한 계통으로 추정되었다.

최근에 Kunimoto 등(2003)은 일본산 참김과 방사무늬김의 SSU rDNA의 exon 염기서열을 분석한 결과, 두 분류군 사이에는 2개의 gap과 2개의 치환이 존재한다는 것을 밝혔다. 그러나 본 연구에서는 NS006을 제외한 다른 자연채묘 김과 거제도, 위도 및 대천의 자연산 방사무늬김 시료에서 2개의 gap 대신 GT로 되어 있으며, NS006의 경우에는 2개의 치환 중 position 1599의 C 대신 참김과 동일한 T로 되어 있음이 확인되었다. 따라서 Kunimoto 등(2003)이 참김과 방사무늬김의 구별을 위해 제안한 2개의 gap과 두 개의 치환 중 position 1055에 위치한 한 개의 치환(A↔T)만이 현재까지 알려진 모든 참김과 방사무늬김을 명확히 구별할 수 있는 유일한 유전적 표지(genetic marker)임을 확인하였다.

한편 NS006(무안 2)은 SSU rDNA의 exon 염기서열 자료에 의한 계통수(Fig. 4A)에서 비록 참김과 연관되었으나, 이

는 단지 position 1055에서의 1개의 염기치환으로 나타난 결과이므로 SSU rDNA의 계통수만으로 유연관계를 명확히 설명하는 데는 한계가 있다. NS006(무안 2)은 SSU의 exon 염기서열의 position 1055가 T이고(Fig. 3), upstream intron에서 일본산 방사무늬김과 강하게 연관되어 있으며(Table 6), ITS1 염기서열 분석에서도 일본산 방사무늬김 및 큰방사무늬김과 동일 계통군을 형성하였으므로(Fig. 4C) 이 시료는 일본산 방사무늬김에서 유래된 것으로 추정하였다. 그러나, downstream intron의 경우 959 bp로서 통영에서 채집된 참김(HM003)의 615 bp와는 길이에 있어 상당한 차이가 있으나 염기서열에서 단지 1개의 치환만이 확인되었으므로 참김과 방사무늬김 사이의 교배종일 가능성을 완전히 배제할 수는 없다.

자연채묘 양식 김이 방사무늬김이라는 사실은 강(1970)의 연구결과와 일치하였다. 강(1970)에 의하면 당시 양식 김 중 참김은 여수 개도, 고흥, 완도 금일, 진도 조도 등 일부 지역에서 발견되거나 또는 한 시기에 국한되는 반면 방사무늬김이 주류를 이루었다고 하였다. Kang(1972)은 Kurogi(1957)와 Suto(1957)의 지적을 인용하면서 참김은 일찍 출현하여 짧은 시기 동안에만 중성포자를 방출하는 데 비하여 방사무늬김은 늦게 출현하여 10월부터 이듬해 3월까지 계속적으로 중성포자를 방출하기 때문에 참김이 방사무늬김보다 갯병에 더 치명적이며, 이러한 생태적 특징의 차이에 의해 방사무늬김이 양식장에서 우세해질 수 있음을 설명하였다. 본 연구의 시료 채집지인 남서해안 6개 양식장에서 참김은 전혀 발견할 수 없었는데 이는 인공채묘가 보급됨에 따라 방사무늬김이 더욱 우세해질 것이라는 강(1970)의 예견을 뒷받

침하고 있다.

일본에서도 양식 김의 주종이 참김에서 방사무늬김으로 바뀌어 왔다. 이에 대해서는 원래 일본의 북부지역에서만 자생하던 방사무늬김이 1950년대부터 김 양식 어업인들에 의하여 동경만으로 이식된 후 점차 남쪽으로 확장하면서 그 동안 양식되어 왔던 참김과 그 외 지역 자생종들을 대체하였기 때문에 설명하고 있다(Miura and Aruga 1987; Miura 1988).

강(1970)은 우리나라 양식 김의 종류 중에는 참김과 방사무늬김 외에도 쿠니에다김, 둥근돌김과 모무늬돌김이 혼생한다고 하였다. 이들 3종과 더불어 잇바디돌김은 남서해안 지역의 자연암반에서 흔히 발견되는 종이므로(황과 이 2001) 자연채묘 양식 김에 일시적으로 혼입될 가능성이 있을 것으로 보인다. 실제로 본 연구의 시료 채집 시기에 무안 지역 양식장에서 둥근돌김과 잇바디돌김이 혼입된 것을 발견한 바 있다.

자연채묘에 의해 양식된 방사무늬김은 우리나라 남해안 및 서해안 지역의 자연암반에서 생육하는 방사무늬김과 동일한 계통으로서 오랫동안 그 지역 양식장 환경에 적응해 왔다. 따라서 자연채묘 양식 김을 육종재료로 활용함으로써 각 지역 양식장에 적합한 우량 양식품종을 개발할 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 본 연구 결과와 같이 일본산 방사무늬김이 자연채묘 양식 김 내에 혼입되어 있을 가능성이 있으므로 자연채묘 양식 김 계통주를 유전자원으로 보존하고 관리할 필요성이 있으며, 이와 더불어 우리나라에 생육하고 있는 김속 식물 전반에 대해서도 종합적인 분자계통학적 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원의 연구비(RP-2005-AQ-011)와 학술진흥재단의 연구비(KRF-2002-070-C00085) 지원에 의하여 수행되었습니다. 본 연구의 자연채묘 김 시료를 보내주신 장흥해양수산사무소의 김지환 지도사, 해남해양수산사무소의 최성제 지도사 그리고 신안 어의도의 강형석씨께 감사드립니다.

참고문헌

강제원. 1970. 한국산 양식 김의 종류. 한국수산물학회지 3: 77-92.
 고남표, 최규정, 노섬, 고창순. 1980. 김의 품종개량에 관한 연구. 수진연구보고 24: 47-58.
 정영균, 손창우, 고창순. 1977. 대엽김의 이식 시험. 수진연구보고 17: 67-75.
 황미숙, 이인규. 2001. 한국산 홍조식물 김속(*Porphyra*)의 분류. *Algae* 16: 233-273.

황미숙, 이인규. 2002. 한국산 김속(*Porphyra*) 식물의 식별형질 분석 및 수리분류학적 연구. *Algae* 17: 217-233.
 해양수산부. 2004. 어업생산통계. <http://fs.fips.go.kr/index.jsp>.
 Broom J.E., Jones W.A., Hill D.F., Knight G.A. and Nelson W.A. 1999. Species recognition in New Zealand *Porphyra* using 18S rDNA sequencing. *J. Appl. Phycol.* 11: 421-428.
 Broom J.E., Nelson W.A., Yarish C., Jones W.A., Aguilar Rosas R. and Aguilar Rosas L.E. 2002. A reassessment of the taxonomic status of *Porphyra suborbiculata*, *Porphyra carolinensis* and *Porphyra lilliputiana* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *Eur. J. Phycol.* 37: 227-235.
 Gilbert D.G. 1995. SeqPup-a biosequence editor and analysis application.
 Huelsenbeck J.P. and Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
 Jones W.A., Griffin N.J., Jones D.T., Nelson W.A., Farr T.J. and Broom J.E. 2004. Phylogenetic diversity in South African *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) determined by nuclear SSU sequence analyses. *Eur. J. Phycol.* 39: 197-211.
 Kang J.W. 1972. Species of cultivated *Porphyra* in Korea. In: Nisizawa K. (ed.) *Proceedings of the 7th International Seaweed Symposium*. University of Tokyo Press. Tokyo. pp. 108-110.
 Klein A.S., Mathieson A.C., Neefus C.D., Cain D.F., Taylor H.A., Teasdale B.W., West A.L., Hehre E.J., Brodie J., Yarish C. and Wallace A.L. 2003. Identification of north-western Atlantic *Porphyra* (Bangiaceae, Bangiales) based on sequence variation in nuclear SSU and plastid *rbcL* genes. *Phycologia* 42: 109-122.
 Kunimoto M., Kito H., Yamamoto Y., Cheney D.P., Kaminishi Y. and Mizukami Y. 1999a. Discrimination of *Porphyra* species based on small subunit ribosomal RAN gene sequence. *J. Appl. Phycol.* 11: 203-209.
 Kunimoto M., Kito H., Kaminishi Y., Mizukami Y. and Murase N. 1999b. Molecular divergence of ssu rDNA gene and internal transcribed spacer 1 in *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 11: 211-216.
 Kunimoto M., Kito H., Mizukami Y., Murase N. and Levine I. 2003. Molecular features of a defined genetic marker for the determination of the *Porphyra tenera* lineage. *J. Appl. Phycol.* 15: 337-343.
 Kurogi M. 1957. Species of cultivated *Porphyras*. *Aquaculture* 4: 21-27. (Japanese)
 Kurogi M. 1961. Species of cultivated *Porphyras* and their life histories (Study of the life history of *Porphyra* II). *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.* 18: 1-115. (Japanese)
 Kurogi M. 1972. Systematics of *Porphyra* in Japan. In: Abbott I.A. and Kurogi M. (eds), *Contributions to the systematics of benthic marine algae of the North Pacific*. Japanese Society of Phycology, Kobe. pp. 167-191.
 Lindstrom S.C. and Fredericq S. 2003. *rbcL* gene sequence reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis*. *Phycol. Res.* 51: 211-224.
 Maddison W.P. and Maddison D.R. 1999. MacClade, version 3.08a, Sinauer Associated, Inc., Sunderland, Massachusetts.

- 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.
- Miura A. and Aruga Y. 1987. Distribution of *Porphyra* in Japan as affected by cultivation. *J. Tokyo Univ. Fish.* **74**: 41-50.
- Nelson W.A., Broom J.E. and Farr T.J. 2001. Four new species of *Porphyra* (Bangiales Rhodophyta) from New Zealand region described using traditional characters and 18S rDNA sequence data. *Cryptog. Algol.* **22**: 263-284.
- Niwa K. and Aruga Y. 2003. Rapid DNA extraction from conchocelis and ITS-1 rDNA sequences of seven strains of cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* **15**: 29-35.
- Niwa K., Kikuchi N., Iwabuchi M. and Aruga Y. 2004. Morphological and AFLP variation of *Porphyra yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). *Phycol. Res.* **52**: 180-190.
- Niwa K., Kikuchi N. and Aruga Y. 2005. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* **41**: 294-304.
- Oliveira M.C., Kurniawan J., Bird C.J., Rice E.L. Murphy C.A., Singh R.K., Gutell R.R. and Ragan M.A. 1995. A preliminary investigation of the order Bangiales (Bangioophyceae, Rhodophyta) based on sequences of nuclear small-subunit ribosomal RNA genes. *Phycol. Res.* **43**: 71-79.
- Oohusa T. 1993. The cultivation of *Porphyra* "Nori". In: Ohno M. and Critchley A.T. (eds), *Seaweed Cultivation and Marine Ranching*, JICA, pp. 57-73.
- Posada D. and Crandall K.A. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- Ragan M.A., Bird C.J. Rice E.L., Gutell R.R., Murphy C.A. and Singh R.K. 1994. A molecular phylogeny of the marine red algae (Rhodophyta) based on the nuclear small-subunit ribosomal RNA gene. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* **91**: 7276-7280.
- Saunders G.W. and Kraft G.T. 1994. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). I. Evidence for the Plocamiales ord. nov. *Can. J. Bot.*, **72**: 1250-1263.
- Sohn C.H. 1993. *Porphyra*, *Undaria* and *Hizikia* cultivation in Korea. *Korean J. Phycol.* **8**: 207-216.
- Sohn C.H. 1998. The seaweed resources of Korea. In: Critchley A.T. and Ohno M. (eds), *Seaweed resources of the world*, JICA, pp. 15-31.
- Stiller J.W. and Waaland J.R. 1993. Molecular analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta). *J. Phycol.* **29**: 506-517.
- Strach-Crain B., Muller D.G. and Goff L.J. 1997. Molecular systematics of *Ectocarpus* and *Kuchuckia* (Ectocarpales, Phaeophyceae) referred from phylogenetic analysis of nuclear- and plastid encoded DNA sequences. *J. Phycol.* **33**: 152-168.
- Suto S. 1957. Species of *Porphyras* in Tokyo Bay. *Aquaculture* **4**: 28-32. (Japanese)
- Swofford D.L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods), version 4.0b10. Sinauer Associated, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Teasdale B., West A., Taylor H. and Klein A. 2002. A simple restriction fragment length polymorphism (RFLP) assay to discriminate common *Porphyra* (Bangioophyceae, Rhodophyta) taxa from the Northwest Atlantic. *J. Appl. Phycol.* **14**: 293-298.
- Thompson J.D., Gilson T.J., Plewniak F. and Higgins D.G. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **25**: 4876-4882.
- Ueda S. 1932. Systematic study of the genus *Porphyra* in Japan. *J. Imp. Fish. Inst.* **28**: 1-45. (In Japanese)
- White T.J., Burns T., Lee S. and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M., Gelfand J., Sninsky J. and White T.J. (eds), *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, Orlando, Florida. pp. 315-322.

Received 27 June 2005

Accepted 20 September 2005