

## 대하 *Fenneropenaeus chinensis* 집단의 AFLP 지문에 의한 유전 다양성 및 변이

성용길, 남윤권<sup>1</sup>, 한현섭<sup>2</sup>, 방인철\*

순천향대학교 해양생명공학과, 부경대학교 양식학과,  
<sup>2</sup>국립수산과학원 생명공학연구소

### Genetic Diversity and Variation of Chinese Shrimp *Fenneropenaeus chinensis* Populations as Inferred by AFLP Fingerprinting

Yong-Gil Sung, Yoon Kwon Nam<sup>1</sup>, Hyeon Seob Han<sup>2</sup> and In-Chul Bang\*

Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

<sup>1</sup>Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>2</sup>Biotechnology Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-900, Korea

Genetic diversity among four populations of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* from Narodo, Yeonggwang, Taean and Chinese Bohai Bay was assessed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) DNA fingerprinting. Total numbers of AFLP bands generated (ranging from 251 to 254) and average percent of polymorphic bands (27.1 to 28.1 %) were similar in the four populations. Heterozygosity and genetic diversity within or among the populations were very low for the populations with average values ranging from 0.1177 to 0.1288 and from 0.1099 to 0.1194, respectively. Analyses of pairwise distance, *Fst* index and genetic similarity among the populations also revealed the similar results with very low genetic differentiation each other. These results suggest that all the wild populations tested in the present analysis may be belonging to the same genetic origin, and also that they may have a close relationship in genetic structure without any significant differentiation.

**Keywords:** *Fenneropenaeus chinensis*, AFLP, Genetic diversity, Variation

#### 서 론

대하(*Fenneropenaeus chinensis*)는 분류학상 보리새우과에 속하는 대표적인 냉수성 새우로서 북중국해와 황해에 주로 서식하고 있으며, 남중국해와 대만해역에서도 일부 서식한다(허와 김, 1996). 우리나라의 대하 양식은 1980년대에 종묘생산과 양식이 발달하기 시작하여 최근 연간 2000여 톤의 새우를 생산하고 있지만, 매년 각종 질병, 특히 흰반점 바이러스(white spot syndrome virus, WSSV)에 의한 대량 폐사가 일어나고 이로 인한 양식 손실이 만연하고 있는 실정이다(Lim et al., 2004). 그러나 아직 대하의 WSSV 감염증을 예방하거나 발병한 바이러스 질환을 치료할 수 있는 약제 기술은 전세계적으로 전무한 실정이며, 더욱이 대하의 WSSV의 발병에 관한 분자 기작 역시 현재로서는 매우 불투명한 상태이다. 때문에 무척추 동물인 대하를 대상으로 획득 면역(acquired immunity)을 기반으로 한 재조합 백신 등의 이용

은 아직 기술적으로 기대하기 어렵다(Kim et al., 2007). 또한 일부 WSSV에 대한 무병새우(specific pathogen free; SPF) 종묘를 이용하고자 하는 연구가 실험적으로 시도된 바 있으나 WSSV의 경우 수직 감염은 물론 국내 새우 양식장 주변환경에 이미 만연한 상태로 알려져 있으며(Kim et al., 2001), 때문에 현장에서 무병새우 종묘를 생산하는 것은 현실적인 전략이 될 수 없다. 따라서 현재로서는 WSSV에 내성을 보이는 내병성 새우(specific pathogen resistant; SPR) 계통의 발굴이 가장 효과적인 대안으로 여겨진다(Li et al, 2006a). 그러나 WSSV-SPR 대하를 확보하기 위해서는 목적 계통들을 정확하게 선별할 수 있는 유전자 표지(genetic marker)를 확보해야 할뿐만 아니라 유전자 표지의 발굴을 위한 원천 소재인 생물 계통의 확보와 이들에 대한 유전적 다양성 분석 및 유연관계에 대한 정보가 반드시 선행되어 수집되어야만 한다.

유전적 다양성을 분석하는 기술 중 amplified fragment length polymorphism (AFLP) 기술은 random amplified polymorphic DNA (RAPD)의 간편성과 restriction fragment length polymorphism

\*Corresponding author: incbang@sch.ac.kr

(RFLP)의 재현성의 장점을 조합한 방법으로서 간편한 분석법과 높은 재현성 때문에 많은 유용 동식물로부터 유전자 표지를 발굴하기 위한 연구 방법으로서 각광 받고 있는 기술이다(Vos et al, 1995; Mackill et al., 1996; Osten et al, 1996; Jones et al., 1997; Li et al., 2006a). 본 기술은 유전적 유사도가 가까운 종이나 품종 간에도 고도의 유전적 변이와 다형성을 검출할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 한번에 많은 유전자 좌위(locus)를 검색할 수 있는 장점을 보유하고 있어 분석하고자 하는 시료의 수가 제한된 경우에도 많은 유전적 변이를 검출하고자 할 때 특히 유용한 방법으로 여겨지고 있다(Roa et al, 1997; Blears et al., 1998; Knorr et al., 1999; Mariette et al., 2001; Waycott and Barnes, 2001).

이에 본 연구는 WSSV 내성 새우를 개발하기 위한 기초 연구의 일환으로 우리나라 연근의 대하 야생집단을 대상으로 한 AFLP 지문 분석을 실시하고 이로부터 집단내 유전적 다양성, 집단간 유사성과 근연관계를 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 새우 및 핵산 시료의 분리

본 실험에 사용된 대하(*F. chinensis*)는 2006년 4월 전라남도 나로도 연안에서 채집된 30마리, 2006년 5월 전라남도 영광에서 채집된 37마리, 2006년 6월 충청남도 태안에서 채집된 30마리, 2005년 4월 중국 보하이만에서 채집된 47마리를 대상으로 하였다.

대하의 total DNA는 집단 별 30마리씩 다리근육을 절단하여 TNES-urea buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0; 125 mM NaCl; 10 mM EDTA pH 8.0; 0.5% SDS; 4 M urea)를 이용하여 분리하였다(Asajida et al., 1996). 상기 대하 시료를 포함하는 완충용액에 proteinase K (Sigma, USA)를 100 µg/mL의 농도로 첨가하여 55°C에서 12시간 동안 반응시켰고, phenol : chloroform : isoamylalcohol (25 : 24 : 1)을 처리하여 단백질을 제거하였으며, 2-propanol 500 µL를 이용하여 DNA를 침전시켰다. 침전시킨 DNA는 70% ethanol을 이용하여 세척하고 1X TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)로 용해시켰다. 준비한 시료는 spectrophotometer 측정과 0.7% agarose gel 전기영동을 통해서 DNA의 양과 질을 확인하였다.

### AFLP 지문 분석

대하 DNA를 대상으로 최적의 AFLP band들을 생산하기 위해서 total DNA의 양, 제한 효소 반응 조건, 1차 증폭 반응(preamplification) 및 2차 선택 증폭 반응(selective amplification)에 대한 최적 조건을 예비 실험을 통해서 조사하였다(data not shown). 최적화된 조건을 바탕으로 다음과 같이 AFLP profile을 작성하였다. 총 DNA 2 µg을 EcoR I 제한효소(Promega, USA) 10 unit로 37°C에서 12시간 절단한 후 절단 정도를 전기영동상으로 확인한 후 ethanol 침전을 이용하여 절단 DNA를 회수하였다.

두 번째 제한효소 반응을 위해서 Mse I 제한효소(Promega, USA) 2 unit를 첨가하여 65°C에서 4시간 동안 반응시켰으며, 절단 산물을 순수 분리 후 EcoR I/Mse I adapter를 첨가하여 ligation 반응을 실시하였다. Ligation된 DNA 산물 5 µL에 AFLP pre-amp primer mix I (Invitrogen, USA) 40 µL, 10X PCR buffer, 2 unit Taq DNA polymerase (Intron, Korea) 첨가하여 1차 PCR preamplification 반응을 수행하였다. PCR 반응조건은 94°C에서 30초, 56°C에서 60초, 72°C에서 60초간의 cycle을 총 20회 반복하였다. PCR 1차 반응 산물을 TE 완충용액으로 50배 희석한 후 희석산물 5 µL와 10 pmoles의 EcoR I 및 Mse I selective primer, 10X PCR buffer, 0.6 mM dNTPs, 1 unit Taq DNA polymerase (Intron, Korea)를 첨가하여 2차 PCR 조성물을 제조하였다. 이때 열 순환 반응은 touchdown PCR법을 이용하여 94°C에서 30초, 65°C-56°C (회당 0.7°C씩 감소)에서 30초, 72°C에서 60초간 12회 순환 반응을 실시 후 annealing 온도를 56°C에서 30초로 고정하여 총 24회를 반복 수행하였다. 최종 증폭 산물 20 µL에 6 µL의 formaldehyde loading dye (95% formamide, 10 mM EDTA, pH 8.0, 0.05% bromophenol blue, 0.05% xylene cyanol FF)를 첨가한 후 95°C에서 5분간 가열하고 이 중 3 µL를 취하여 5% denaturing polyacrylamide gel을 이용하여 1,600 V에서 3시간 동안 전기 영동하였다. 전기 영동된 DNA 단편들은 silver staining kit (Promega, USA)를 이용하여 염색 후 가시화시켰다. 본 연구의 AFLP 분석에 사용한 adapter 및 primer의 염기서열 정보는 Table 1에 나타내었다.

### 유전적 다형성, 유사도 및 통계 분석

Gel 상에서 각 위치에 확인된 DNA band의 유무에 따라 0 또는 1로 표시하여 matrix code를 작성한 후, TFPGA (ver. 1.3; <http://ubio.bio.indiana.edu.au/tfpga/>) 프로그램을 사용하여(Miller, 1997) 대하 각 집단 별 및 전체의 평균 이형접합율(heterozygosity,

**Table 1.** Oligonucleotide sequences for adaptors and primers used in this study

		Sequence (5' → 3')	
Adapter	EcoR I	F	CTCGTAGACTGCGTACC
		R	AATTGGTACGCAGTC
	Mse I	F	GACGATGAGTCCTGAG
		R	TACTCAGGACTCAT
Preamplification primer	EcoR I	GACTGCGTACCAATTCA	
	Mse I	ATGAGTCCTGAGTAAC	
Selective amplification primer	EcoR I	E/AAC	GACTGCGTACCAATTCAAC
		E/ACA	GACTGCGTACCAATTCACA
		E/ACT	GACTGCGTACCAATTTCACT
		E/ACC	GACTGCGTACCAATTCACC
		E/AGC	GACTGCGTACCAATTCAGC
	Mse I	M/CCA	ATGAGTCCTGAGTAACCA
		M/CAG	ATGAGTCCTGAGTAACAG
		M/CAT	ATGAGTCCTGAGTAACAT
		M/CTA	ATGAGTCCTGAGTAACTA
		M/CTT	ATGAGTCCTGAGTAACTT

He)과 평균 유전 다양성(genetic diversity, GD) 수준을 구하였다. 각 집단간의 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE)을 검정하기 위하여 유전적 분화도(genetic differentiation, *Fst*)를 분석하였다 (Wright, 1951). *Fst* 수치에 대한 유전적 검정(\*P)은 무작위 대립 유전자 치환(random allelic permutation) 과정을 10,000번 이상 반복하여 수행하였다. 이러한 작업은 Arlequin 프로그램(ver. 2.000, Stefan et al., 2000)을 사용하였다. 각 개체간의 유사도 matrix를 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means)로 분석하여 각각을 군집화(clustering)하고 이를 토대로 계층도(dendrogram)를 작성하였다. 각 집단별의 유전적 유사도(genetic similarity, GS)는 Nei and Li (1979)의 공식을 적용하여 직접 계산하였다.

### 결과 및 고찰

나로도, 영광, 태안, 중국 보하이만 4개 대하 집단을 대상으로 5개의 AFLP primer 조합형을 평가한 결과 비교적 많은 DNA band들이 검출된 primer 조합 형은 EcoR I-ACT/Mse I-CCA 조합으로 관찰되었다(gels not shown). 본 primer 조합을 통해, 나로도 집단은 총 74개의 bands가 검출되었고 그 중 polymorphic band의 수가 21개 검출되어 다형도(polymorphism)는 0.28를 나타내었다. 영광 집단은 총 73개 검출 bands 중 20개(다형도 0.27)에서, 태안 집단은 총 75개 중 22개의 polymorphic band (다형도 0.29), 그리고 보하이만 집단은 총 75개 중 22개의 polymorphic band (다형도 0.29)를 나타내어 집단간 다형성 수준은 거의 차이가 없는 것으로 관찰되었다. 그 외 4종류의 primer 조합 형을 이용한 AFLP 분석에서도 역시 유사한 결과치가 관찰되었으며 그 종합 결과를 Table 2 및 3에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와

같이 대하 4개의 집단은 모두 유사한 수준의 band 검출 및 다형성 수준을 나타내었으며 이에 총 AFLP DNA band의 수는 251개(영광 집단) - 254개(보하이만 집단)였고, 이들 총 band 수에 대한 다형성 비율은 27.1 % (영광 집단) - 28.1 % (태안 집단)으로 나타났으며, 그리고 평균 이형접합율은 영광 집단에서 0.1177로 가장 낮게 나타났고 보하이만 집단에서 0.1288로 상대적으로 높게 나타났다. 또한, 평균 유전 다양성(GD)에 있어서도 역시 보하이만 집단이 0.1194로 가장 높았으며 영광집단이 0.1094로 낮은 수치를 나타내었다. 한편 집단 내 유전적 유사도는 태안 집단이 0.914로 가장 높게 나타났다.

총 5종류의 selective primer 조합형을 이용하여 검출한 AFLP band를 기초로 하여 나로도, 영광, 태안, 보하이만 4집단간 유전적 근연 관계를 추정하기 위한 유전적 유사도(GS) 및 유전거리를 Table 3에 나타내었다. Table 3에 나타낸 바와 같이 집단간 분화도(*Fst*)는 나로도 집단과 보하이만 집단 0.05631이 다른 두 집단에 비해 상대적으로 높게 나타났으며, 유전적 거리(Ds) 역시 나로도 집단과 보하이만 집단에서 0.0105로 가장 멀게 측정되어 *Fst*와 유사한 경향을 보였다.

유전거리 계수를 기초로 작성한 UPGMA dendrogram은 Fig. 1에 제시하였다. 나로도 집단과 태안 집단의 평균 유전적 유사성은 0.9967로 가장 가까운 것으로 나타났으며, 반면 영광 집단과 보하이만 집단이 가장 낮은 0.9889을 보였지만, 이들 4집단 모두에서 최소 0.98 이상의 유사도를 나타냄으로써 집단간 거의 구분이 없는 높은 유전적 유사성을 나타내었다.

AFLP band의 수와 다형성 수준은 사용된 제한효소의 인식 서열의 위치와 프라이머의 3' 말단부위에 첨가된 선택적 nucleotide의 서열, G+C 함량 및 이들 primer의 조합형에 따라 크게 좌우된다 (Aarts et al., 1998; Reineke and Karlovsky, 2000). 본 연

**Table 2.** Summary for AFLP fingerprinting profiles generated in four wild populations of *Fenneropenaeus chinensis*

Information of AFLP markers	Populations			
	Narodo	Yeong-gwang	Taeon	Bohai Bay (China)
Total number of primer combinations	5	5	5	5
Total number of bands	252	251	253	254
Average number of bands	50.4	50.2	50.6	50.8
Total number of polymorphic markers	70	68	71	71
Average number of polymorphic markers	14.0	13.6	14.2	14.2
Average percentage of polymorphisms (%)	27.8	27.1	28.1	28.0
Average genetic similarity	0.911	0.910	0.914	0.906
Average heterozygosity	0.1206	0.1177	0.1220	0.1288
Average genetic diversity	0.1099±0.0552	0.1094±0.0549	0.1104±0.0554	0.1194±0.0598

**Table 3.** Pairwise distance (upper diagonal) and *Fst* (lower diagonal) calculated between four populations of *Fenneropenaeus chinensis* by AFLP analysis

	Narodo	Yeonggwang	Taeon	Bohai Bay (China)
Narodo	-	0.0038	0.0033	0.0105
Yeonggwang	0.01365	-	0.0039	0.0112
Taeon	0.00213	0.00323	-	0.0084
Bohai Bay (China)	0.05631	0.04818	0.03798	-

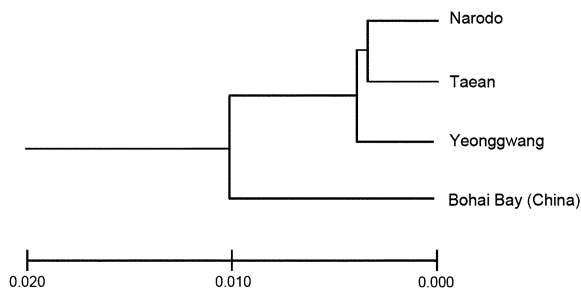


Fig. 1. Dendrogram showing phylogenetic relationships among four populations of *Fenneropenaeus chinensis* based on genetic distance data constructed by the UPGMA clustering algorithm.

구의 나로도, 영광, 태안, 중국 보하이만 집단간 AFLP 지문 분석에서 평균 검출 band 수는 모두 50개 내외로 나타나 Li et al. (2006b)의 대하를 대상으로 한 평균 58.3개의 AFLP band 수 그리고 Wang et al. (2005)이 보고한 중국 양식집단 및 우리나라 남해안 집단을 대상으로 한 평균 65.2개의 band수와 유사한 수준을 나타내었다. 본 연구에서 집단 내 다형성 비율은 태안 집단에서 28.06%으로 가장 높게 나타났으며, 이는 종래 Wang et al. (2004)에 의해 보고된 바 있는 *Penaeus* 속 새우류의 다형성 분석 결과와 비교 시 *P. monodon* (25.0%), *P. chinensis* (26.7%), 그리고 *P. canaliculatus* (24.6%)와 유사한 수치이다. 본 연구에서 5개의 primer 조합형에서 종내 집단간 특이 DNA marker는 탐색되지 않아 특정 집단을 AFLP에 의해 diagnostic한 방식으로 표지할 수는 없었다. 그러나 Wang et al. (2005)는 중국 양식 집단과 우리나라 남해안 집단간 분석을 통해 AFLP 특이 표지를 검출한 바 있어, 본 연구결과와 차이를 나타내었다. 이는 본 연구에서 실험한 4개의 집단이 유전적으로 매우 근연 관계에 있음을 시사하지만 앞으로 보다 많은 primer 조합형을 이용한 탐색이 요구된다.

집단간 평균 유전적 분화도는 나로도 집단과 보하이만 집단이 0.05631로 가장 높게 나타났지만, Wright (1978)의 제안에 의해 0.05에서 0.15까지 범위는 집단간 분화도가 낮은 집단으로 간주해야 함을 고려 시 이들 4 집단간에 유전적 분화도는 매우 낮은 수준인 것으로 판단된다. 이는 해산 갑각류의 집단 분석에서 경골 어류 집단에 비해 그 분화도가 매우 낮음을 보고하는 종래의 선행 연구들과 유사한 결과를 나타내며(Hedgecock et al., 1982), 특히 황해의 대하 집단을 대상으로 한 mtDNA 제한효소 절편 분석에서 역시 매우 낮은 유전적 변이가 검출되었음을 보고하는 연구 결과와도 잘 일치한다(Park and Kim, 1995; Wilson et al., 1987). 대하 집단간 평균 유사도 역시 모두 평균 0.99 수준으로 거의 동일한 집단으로 판단해도 무리가 없는 수준이며, 본 연구 결과는 RFLP 분석법에 의해 우리나라의 대천, 진도, 나로도 집단과 중국의 보하이, 칭다오 등 5개 집단의 mtDNA를 분석한 결과, 13종의 제한 효소 절편 양상이 모두 동일한 것으로 나타난 이전의 결과와도 잘 일치한다(황 등, 1997). 각 집단간

유전적 거리에 의해 그려진 UPGMA dendrogram 결과에서도 집단간 유전적 거리가 매우 가깝고 높은 유사성을 잘 표현하고 있다. 이에 본 연구 결과는 향후 WSSV 내성 형질과 관련한 대하 유전자 표지의 발굴 시 집단 수준에서 이들 4개 집단 별로 각각 유전자 표지 발굴을 수행할 필요성은 없는 것으로 판단되며, 아울러 집단간 유전적 분화에 따른 내성 형질의 유의적 차이 역시 크지 않을 것으로 판단된다.

## 요 약

우리나라 나로도, 태안, 영광 및 중국 보하이만에서 채집된 4개의 대하(*Fenneropenaeus chinensis*) 자연산 집단에 대한 유전학적 다양성 및 근연 관계를 AFLP 지문 분석을 통해 조사하였다. 5종의 primer 조합형을 이용한 AFLP 분석에서 각 집단으로부터 251~254개의 bands를 얻어 분석한 결과, 집단내 다형 band의 출현 빈도는 4개 집단에서 27.1~28.1%로 유사하게 나타났고 이형접합율(0.1177~0.1288)및 유전적 다양도(0.1099~0.1194) 역시 4개 집단에서 동일한 수준을 보였다. Pairwise distance, 유전적 분화도( $F_{st}$  index) 및 유전적 상동성 분석 역시 유사한 결과를 나타내어 본 연구에서 분석한 4개 대하 집단은 유전적으로 매우 밀접한 근연 관계를 나타내었고 특정 집단의 유전적 분화는 없는 것으로 판단되었다.

## 감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정 연구개발과제의 지원에 의하여 이루어졌음.

## 참고문헌

- Aarts, H. J., L. A. van Lith and J. Keijer, 1998. High-resolution genotyping of *Salmonella* strains by AFLP-fingerprinting. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 131-135.
- Asahida, T., T. Kobayashi, K. Saitoh, I. Nakayama, 1996. Tissue preservation total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fish. Sci.*, 62, 727-730.
- Bleas, M. J., S. A. De Grandis, H. Lee and J. T. Trevors, 1998. Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 21, 99-114.
- Hedgecock, D., M. L. Tracey and K. Nelson, 1982. Genetics. (in) L. G. Abelle and D. E. Bliss (eds.), *The Biology of Crustacea*. Academic Press, New York, pp. 283-403.
- Jones, C. J., K. J. Edwards and S. Castaglione, 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol. Breed.*, 3, 381-390.
- Kim, C. S., Z. Kosuke, Y. K. Nam, S. K. Kim and K. H. Kim, 2007. Protection of shrimp (*Penaeus chinensis*) against white

- spot syndrome virus (WSSV) challenge by double-stranded RNA. *Fish Shellfish Immunol.*, 23, 242–246.
- Kim, Y. J., S. J. Jung and M. J. Oh, 2001. Investigation of the pathway of white spot syndrome virus (WSSV) infection. *J. Fish Pathol.*, 14, 129–136.
- Knorr, C., H. H. Cheng and J. B. Dodgson, 1999. Application of AFLP markers to genome mapping in poultry. *Anim. Genet.*, 30, 28–35.
- Li, Z., J. Li, Q. Wang., Y. He and P. Liu, 2006a. The effects of selective breeding on the genetic structure of shrimp *Fenneropenaeus chinensis* populations. *Aquaculture*, 258, 278–282.
- Li, Z., J. Li, Q. Wang., Y. He and P. Liu, 2006b. AFLP-based genetic linkage map of marine shrimp *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis*. *Aquaculture*, 261, 463–472.
- Lim, H. J., J. H. Park and I. K. Jang, 2004. Effect of probiotics on water quality in the shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) pond. *J. Kor. Fish. Soc.*, 37, 91–97.
- Mackill, D. J., Z. Zhang, E. D. Renona and P. M. Colowit, 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome*, 39, 969–977.
- Mariette, S., D. Chagne, C. Lezier, P. Pastuszka, A. Raffin, C. Plomion and A. Kremer, 2001. Genetic diversity within and among *Pinus pinaster* populations: comparison between AFLP and microsatellite marker. *Heredity*, 86, 469–479.
- Miller, M., 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: a windows programme for the sanalysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author. Website address <http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>.
- Nei, M and W. H. Li, 1979. Mathematical model for studing genetical variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74, 5267–5273.
- Osten, M., M. Den Bieman, M. T. R. Kuiper, M. Pravenec, V. Kren, T. W. Kurtz, H. J. Jacob, E. Lankhorst and B. F. M. Van Zutphen, 1996. Use of AFLP markers for gene mapping and QTL detection in the rat. *Genomics*, 37, 289–292.
- Park, J. Y and Y. Kim, 1995. The number of nucleotide substitutions per sites of mitochondrial DNA in the four pleuronectid species. *J. Kor. Fish. Soc.*, 28, 649–658. (in Korean)
- Reineke, A and P. Karlovsky, 2000. Simplified AFLP protocol: replacement of primer labeling by the incorporation of alpha-labeled nucleotides during PCR. *Biotechniques*, 28, 622–623.
- Roa, A. C., M. M. Maya, M. C. Duque, J. Tohme, A. C. Allem and M. W. Bonierbale, 1997. AFLP analysis of relationships among cassava and other *Manihot* species. *Theor. Appl. Genet.*, 95, 741–746.
- Stefan S., D. Roessli and L. Excoffier, 2000. Arlequin ver. 2.000. A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Vos, P., R. Hodgson, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Homes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau, 1995. AFLP, a new technique for DNA fingerprinting. *Nuc. Acids Res.*, 23, 4407–4414.
- Wang, W., H. Gao, J. Kong and Q. Wang, 2005. Genetic variation between Chinese shrimp populations from Korean South Sea and from Chinese cultured detected by AFLP markers. *Gaojishu Tongxin/Chi. High Tech. Letters*, 15, 81–86.
- Wang, Z. Y., K. H. Tsoi and K. H. Chu, 2004. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32, 399–407.
- Waycott, M and P. A. G. Barnes, 2001. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nuc. Acids Res.*, 23, 4407–4414.
- Wilson, G. M., W. K. Thomas and A. T. Beckenbach, 1987. Mitochondrial DNA analysis of Pacific northwest populations of *Oncorhynchus tshawytscha*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 1301–1305.
- Wright, S., 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15, 313–354.
- Wright, S., 1978. Evolution and genetics of populations: Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, 562 p.
- 허성범, 김현준, 1996. 대하(*Penaeus chinensis*) 수정란의 부화에 미치는 수온과 염분의 영향. *한국수산학회지*, 29, 1–8.
- 황규린, 이영철, 장정순, 1997. 황해산 대하(*Penaeus chinensis*)의 계군분석을 위한 미토콘드리아 DNA 분석. *J. Kor. Fish. Soc.*, 30, 88–94.

---

원고접수 : 2007년 9월 3일

수정본 수리 : 2007년 11월 6일