



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

한국 남해와 서해에 분포하는 비단풀과 깃꼴비단풀
개체군의 *cox1* 및 세포소기관 유전체 비교



2022년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

지 구 환 경 시 스 템 과 학 부 해 양 학 전 공

이 지 영

이 학 석 사 학 위 논 문

한국 남해와 서해에 분포하는 비단풀과 깃꼴비단풀
개체군의 *cox1* 및 세포소기관 유전체 비교



이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2022년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

지 구 환 경 시 스 템 과 학 부 해 양 학 전 공

이 지 영

이지영의 이학석사 학위논문을 인준함.

2022년 8월 26일



위 원 장

이학박사

박 범 수



위 원

이학박사

양 은 찬



위 원

이학박사

김 선 주



목 차

Abstract	ii
List of Tables	iv
List of Figures	vii
 I. 서론	 1
II. 재료 및 방법	4
1. 확증 표본 확보	4
2. DNA 추출	11
3. <i>cox1</i> PCR 및 시퀀싱	12
4. 개체군 구조 분석	13
5. gDNA 추출 및 QC	14
6. 세포소기관 유전체 시퀀싱 및 조립	15
III. 결과	16
1. 확증 표본 및 <i>cox1</i> 계통수	16
2. <i>cox1</i> haplotypes 분포 및 다양성	23
3. 개체군 구조 분석	34
4. 세포소기관 유전체 완성	42
IV. 고찰	65
1. 개체군 분포 및 다양성	65
2. 세포소기관 유전체 비교	68
V. 요약	71
VI. 참고문헌	73

Population dynamics of *Ceramium kondoi* and *C. japonicum* (Ceramiales,
Florideophyceae) in the South Sea and Yellow Sea of Korea
based on *cox1* and organelle genomes

Ji Young Lee

Division of Earth and Environmental System Sciences, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Ceramium (Roth 1797) appeared about 120 million years ago and 210 species are known worldwide. Currently, 15 species of *Ceramium* are known in Korea. *C. kondoi* and *C. japonicum* are distributed in the intertidal zone along the entire coast of Korea. Both are sister species and distributed in the Northwest Pacific (Korea, China, Japan, Russia) and Northeast Pacific (Canada and USA). *Ceramium* are well known as a target for marine biogeography research. In this study, first, haplotype distribution and diversity were identified through mitochondrial *cox1* analysis. Second, the mitochondria genome was completed for the first time among the genus *Ceramium*. Finally, the populations were compared through organelles (ptDNA, mtDNA) genome analysis. From September 2019 to June 2021, a total of 252 *C. kondoi* specimens collected from 17 localities in the Yellow

Sea and South Sea of Korea. 186 *cox1* was sequenced and showed a total 37 haplotypes, including 18 haplotypes in the West, 10 haplotypes in the South-West, and nine haplotypes in the South populations. As a result of *cox1* ML tree, first diversification occurred in the South-West population. A total of 309 *C. japonicum* specimens collected in the Yellow Sea, the South Sea, and the East Sea. 220 *cox1* was sequenced and showed a total 30 haplotypes, including 10 haplotypes in the West, 14 haplotypes in the South, and six haplotypes in the East. As a result of the *cox1* ML tree, first diversification occurred in the South population. The organelle genomes were completed for 35 *C. kondoi* and for 22 *C. japonicum*. The ptDNA of *C. kondoi* was about 171.8 Kb in length. The genome included 200 Coding Sequence (CDS), 3 rRNA, and 28 tRNA. The mtDNA of *C. kondoi* was about 31.4 Kb in length. The genome included 28 CDS, 2 rRNA, and 26 tRNA. The ptDNA of *C. japonicum* was about 171.6 Kb in length. The genome included 199 coding sequence (CDS), 3 rRNA, and 28 tRNA. The mtDNA of *C. japonicum* was about 27.9 Kb in length. The genome included 27 CDS, 2 rRNA, and 27 tRNA. Organelle genome of *C. kondoi* showed variations between the West and South populations and those between South and South-West populations. Short tandem repeats (STRs) with a length of 12 bp were found in the *C. kondoi* ptDNA orf156. The number of repetitions in the West and South-West populations, and it showed a tendency to increase with higher latitudes. In this study, *cox1* and organelle genomes showed genetic diversity of *C. kondoi* and *C. japonicum*. The estimated population number (K=2) represent a geographical barrier between the South Sea and Yellow Sea since the last glacial maximum (LGM).

List of Tables

Table 1. Sampling sites of *Ceramium kondoi*.

Table 2. Sampling sites of *Ceramium japonicum*.

Table 3. Numbers of voucher, *cox1* and NGS sample in *Ceramium kondoi*.

Table 4. Numbers of voucher, *cox1* and NGS sample in *Ceramium japonicum*.

Table 5. Distribution and frequency of *cox1* haplotypes in *Ceramium kondoi*.

Table 6. Condensed alignment of *cox1* in *Ceramium kondoi*. Dots indicate identical nucleotides to that of the first haplotype.

Table 7. Summary statistics of mitochondrial *cox1* haplotypes of *Ceramium kondoi*: N = number of samples, V = number of variable sites, Nh = number of haplotypes, h = haplotype diversity, SD = standard deviation, π = nucleotide diversity, and NA = data not available. Asterisk (*) indicates statistically significant difference, $P\text{-value} < 0.05$.

Table 8. Distribution and frequency of *cox1* haplotypes in *Ceramium japonicum*.

Table 9. Condensed alignment of *cox1* in *Ceramium japonicum*. Dots indicate identical nucleotides to that of the first haplotype.

Table 10. Summary statistics of mitochondrial *cox1* haplotypes of *Ceramium japonicum*: N = number of samples size, V = number of variable sites, Nh = number of haplotypes, h = haplotype diversity, SD = standard deviation, π = nucleotide diversity, and NA = data not available. Tajima's D Asterisk (*, **) indicates statistically significant difference, P -value < 0.05, P -value < 0.02. Fu and Li Asterisk (*, **) indicates statistically significant difference, P -value < 0.05, P -value < 0.01.

Table 11. Summary of Next Generation Sequencing (NGS) in *Ceramium kondoii*.

Table 12. Summary of Next Generation Sequencing (NGS) in *Ceramium japonicum*.

Table 13. Assembled organelle genomes (ptDNA, mtDNA) statistics in *Ceramium kondoii*.

Table 14. Assembled organelle genomes (ptDNA, mtDNA) statistics in

Ceramium japonicum.

Table 15. Gene contents of ptDNA in *Ceramium kondoi*.

Table 16. Gene contents of ptDNA in *Ceramium japonicum*.

Table 17. Gene contents of mtDNA in *Ceramium kondoi*.

Table 18. Gene contents of mtDNA in *Ceramium japonicum* .



List of Figures

Fig. 1. Field pictures of *Ceramium kondoi* and *Ceramium japonicum*. (A) *C. kondoi*, Uihang-ri, Taean, 29th Nov. 2019. (B) *C. japonicum*, Myeongseondo, Ulsan, 21st Jan. 2020. (C) *C. kondoi*, Uihang-ri, Taean, 13rd Jan. 2020. (D) *C. japonicum*, Uihang-ri, Taean, 11st Feb. 2020.

Fig. 2. Voucher collection localities of *Ceramium kondoi*.

Fig. 3. Voucher collection localities of *Ceramium japonicum*.

Fig. 4. Maximum-likelihood (ML) tree of seven *Ceramium* species based on *cox1* (771 bp). *Gayliella* sp. was used as the outgroup. Numbers associated with node are ML bootstrap support values (only values >50% are shown).

Fig. 5. Maximum likelihood (ML) tree of *Ceramium kondoi* based on *cox1* (771 bp). *Ceramium sungminbooi* was used as the outgroup. West, South-West and South populations are indicated by green, purple and blue, respectively.

Fig. 6. Maximum likelihood (ML) tree of *Ceramium japonicum* based on *cox1* (771 bp). *Ceramium sungminbooi* was used as the outgroup. West, South and East populations are indicated by green, blue and orange, respectively.

Fig. 7. Haplotype distribution and frequency map for *Ceramium kondoi*. The locality IDs are correspondence to that of Table 1. Different colors refer to different haplotypes.

Fig. 8. Haplotype distribution and frequency map for *Ceramium japonicum*. The locality IDs are correspondence to that of Table 2. Different colors refer to different haplotypes.

Fig. 9. Minimum spanning network (MSN) of *Ceramium kondoi* based on *cox1*. Open circle represents missing haplotype. Each line represents a single substitution. Circle size represents number of individuals as shown in Table 5.

Fig. 10. Minimum spanning network (MSN) of *Ceramium japonicum* based on *cox1*. Open circle represents missing haplotype. Each line represents a single substitution. Circle size represents number of individuals as shown in Table 8.

Fig. 11. Principal component analysis (PCA) of the genetic structure in *Ceramium kondoi* populations. West, South-West and South populations are indicated by green, purple, and blue, respectively.

Fig. 12. Principal component analysis (PCA) of the genetic structure in *Ceramium japonicum* populations. West, South and East populations are indicated by green, blue, and orange, respectively.

Fig. 13. Structure of *Ceramium kondoi* populations in Korea revealed by STRUCTURE analyses. Each individual is represented by a vertical bar broken into different colored genetic clusters, with length proportional to probability of assignment to each cluster. The graph results from 17 localities, 186 individuals, with possible numbers of clusters (K) ranging from 2 - 5.

Fig. 14. Structure of *Ceramium japonicum* populations in Korea revealed by STRUCTURE analyses. Each individual is represented by a vertical bar broken into different colored genetic clusters, with length proportional to probability of assignment to each cluster. The graph results from 15 localities, 220 individuals, with possible numbers of clusters (K) ranging from 2 - 4.

Fig. 15. Complete plastid genome (ptDNA) map of *Ceramium kondoi*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

Fig. 16. Complete plastid genome (ptDNA) map of *Ceramium japonicum*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

Fig. 17. Complete mitochondria genome (mtDNA) map of *Ceramium*

kondoi. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map

Fig. 18. Complete mitochondria genome (mtDNA) map of *Ceramium japonicum*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

Fig. 19. Plastid genome alignment in *Ceramium kondoi* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

Fig. 20. Plastid genome alignment in *Ceramium japonicum* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

Fig. 21. Mitochondria genome alignment in *Ceramium kondoi* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected

with a line and identified by the same color.

Fig. 22. Mitochondria genome alignment in *Ceramium japonicum* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

Fig. 23. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among plastid genomes of *Ceramium kondoi*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

Fig. 24. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among plastid genomes of *Ceramium japonicum*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa,

Fig. 25. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among mitochondria genomes of *Ceramium kondoi*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

Fig. 26. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among mitochondria genomes of *Ceramium japonicum*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

Fig. 27. Repeat region map of the ptDNA orf156 of *Ceramium kondoi*.

The different number of repeat unit (12 bp length sequence; four amino acids) were found in the West and South-West populations.

Fig. 28. Mitochondria genome comparison of three *Ceramium* species. *Ceramium kondoii* and *C. japonicum* showed inverted repeats.



I. 서론

홍조류 (Rhodophyta)는 전세계에 약 7,500여종이 알려져 있으며 (<https://www.algaebase.org>, 2022), 우리나라에는 641종이 분포한다 (환경부 국립생물자원관, 2019). 김이나 풀가사리와 같은 종은 얕은 곳에서 분포하기도 하지만 대부분의 홍조식물은 간조선보다 더 깊은 곳에서 자란다 (Lobban & Wynne 1981). 또한 홍조류는 우리나라에서 자라는 해조류의 절반 이상을 차지하며, 전 연안에 고루 분포한다 (국가생물다양성통계자료집, 2019). 대부분이 다세포체이고, 현미경적인 크기를 가지는 것부터 1~2m에 이르는 큰 개체도 있다 (Lobban & Wynne 1981).

비단풀속 (*Ceramium* Roth)은 계통학적으로 복잡하고 수 많은 종명이 제안되어 명명 규약 등 많은 분류학적 문제를 내포하고 있는 분류군이다 (Maggs & Hommersand 1993; Boo and Lee 1994). 이 속은 온대부터 한대에 이르는 전 세계 곳곳에 광범위하게 분포한다. 이들은 흔히 다른 해조류 위나 부두 선창가 부유물 등에 착생하는 오손 생물 (biofouling)로 쉽게 장거리 이동이 가능하고, 이로 인해 범 세계 종들이 많은 것으로 추정된다 (Cho et al. 2001). 전세계에 비단풀속 (*Ceramium*)은 184종으로 알려져 있으며 우리나라에는 13종이 분포한다 (김 2012). 그 중 비단풀 (*Ceramium kondoi*), 갯꿀비단풀 (*Ceramium japonicum*), 단박 (*Ceramium boydenii*)을 제외한 나머지 10종의 개체 크기는 10 cm 미만으로 작은 크기이다 (김 2012).

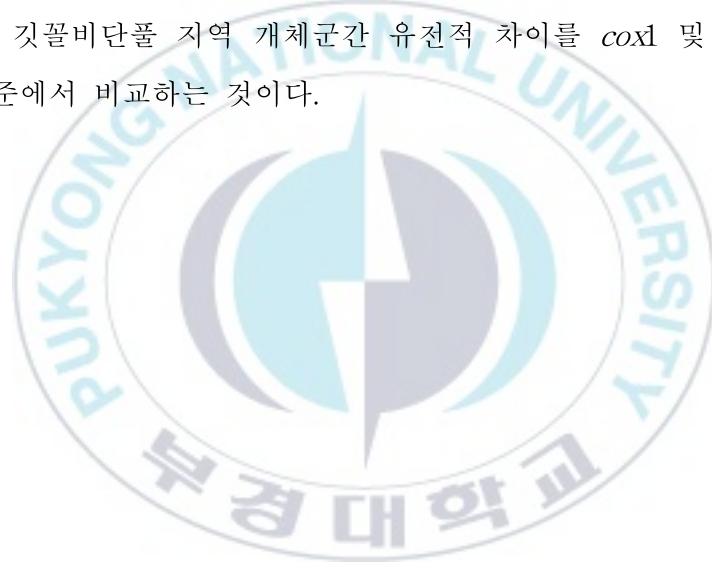
비단풀 (*Ceramium kondoi* Yendo 1920)은 홍조식물문 (Rhodophyta Wettstein 1901) 진정홍조강 (Florideophyceae Cronquist 1960) 비단풀목 (Ceramiales Nägeli 1847) 비단풀과 (Ceramiales Dumortier 1822)에 속한

다. 분포지는 북서 태평양 (한국, 러시아, 일본, 중국) 및 북동 태평양 (미국 알래스카주, 워싱턴주, 오래곤주, 캐나다 브리티시컬럼비아주)이다 (김 2012). 우리나라 비단풀은 전 연안에 분포하며 주 생육 시기는 봄부터 여름철로 (Boo & Yoon 1993), 특히 봄철 남해안 및 서해안 조간대에 번무한다 (김 2012). 비단풀 (*C. kondoi*)은 난류역보다 한류역에 분포한다고 알려져 있다 (Yendo. 1920). 비단풀은 (*C. kondoi*)은 3차 - 4차상 분지를 가지는 형태적 특징으로 다른 비단풀속 종과 쉽게 구별된다. 이전 연구 (Yang et al. 2008)에 따르면 비단풀속 (*Ceramium*) 종 내에는 형태적으로는 구분되지 않는 은둔종 (cryptic species)이 존재한다. 종내 개체군연구에서, 색소체 루비스코 (RuBisCO) 유전자 염기서열을 통해 북방계보 및 남방계보의 2개 유전계보로 나누었다. 북방계보는 극동 러시아 및 일본 북해도의 북부 연안에 분포하며, 남방계보는 우리나라 남해 및 서해안, 일본 남부 연안 및 북동 태평양에 분포한다.

깃꼴비단풀 (*Ceramium japonicum* Okamura 1896)은 홍조식물문 (Rhodophyta) 진정홍조강 (Florideophyceae) 비단풀목 (Ceramiales) 비단풀과 (Ceramiales)에 속한다. 생육 시기는 전 계절, 특히 봄부터 가을철에 흔하다고 알려져 있다. 우리나라 전 연안에 분포할 뿐만 아니라 일본 및 중국에도 분포한다고 알려져 있다 (Kim, 2012). 이전 연구 (Yang et al. 2009)에 따르면 우리나라 서해의 깃꼴비단풀은 남해에서 기원하였다. 깃꼴비단풀 미토콘드리아 *cox1*의 haplotypes 네트워크 및 Neutrality test 결과는 3개의 개체군 서해, 남해 및 동해로 세분되며, 마지막 최대 빙하기 (Last Glacial Maximum, LGM) 이후 남해안 개체군의 확장 및 서해의 개체군 재유입에 대한 증거를 시사한다.

본 연구에서는 마지막 최대 빙하기 이후 우리나라 서해 환경에 적응한 유전형 패턴을 추정하기 위하여 (Yi & Kim 2010; Weber & Schmid, 1998),

비단풀속(*Ceramium*)내 자매군인 비단풀 (*C. kondo*)과 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*) 두 종을 선정하였다 (Hughey & Boo, 2016). 두 종은 조간대 암반에 부착하여 생육하므로 해양환경 (염분, 수온, 조석) 적응이 필수적이다. 미토콘드리아 DNA는 모계로만 유전되어 생물지리적 연구에 유용한 대상이다 (Robin & Wong 1988; Chaitanya et al. 2014). 세포소기관 (색소체 및 미토콘드리아) 유전체는 단일 유전자 영역 보다 더 많은 수의 염기서열 변이를 확인할 수 있어 분석대상 간의 식별력을 높일 수 있다 (Just et al. 2015; Park et al. 2017). 본 연구의 목표는 서해와 남해에 분포하는 비단풀 및 깃꼴비단풀 지역 개체군간 유전적 차이를 *cox1* 및 세포소기관 유전체 수준에서 비교하는 것이다.



II. 재료 및 방법

1. 확증 표본 확보

2019년 9월부터 2021년 6월 우리나라 서해, 남해 및 동해에 분포하는 비단풀 (*Ceramium kondoi*) 252개체, 깃꼴비단풀 (*Ceramium japonicum*) 309개체를 채집하였다 (Figs 1-2, Tables 1-4). 채집지역의 선정은 지점간 거리 (위도 및 경도; 지역간 직선거리 60 Km 이상)를 고려하였다. 채집지는 인천 (대청도, 소청도, 소무의도), 충남 태안 (민어도, 학암포, 의항리, 신온리), 충남 보령 (무창포), 전북 부안 (격포 채석강), 전남 영광 (가마미), 전남 신안 (임자도, 자은도), 전남 해남 (남성리), 전남 고흥 (녹동항), 전남 여수 (초도, 장수리, 금오도 직포, 돌산도 두문포, 평사리, 만성리), 경남 사천 (대방동), 경남 통영 (상항도), 부산 (영도), 울산 (명선도), 경북 경주 (감포리), 경북 포항 (석병리), 경북 울진 (나곡리) 이다. 야외채집시 각 지점별 개체 간 2 m 이상 거리를 두고 채집하였다. 각 개체는 자연건조하였으며 실리카겔과 함께 보관하였다. 모든 확증 표본은 고유번호를 부여하여 보관하였다. NGS 분석을 위한 개체는 20℃ 배양기에 보관 하였다.



Fig. 1. Field pictures of *Ceramium kondoi* and *Ceramium japonicum*. (A) *C. kondoi*, Uihang-ri, Taean, 29th Nov. 2019. (B) *C. japonicum*, Myeongseondo, Ulsan, 21st Jan. 2020. (C) *C. kondoi*, Uihang-ri, Taean, 13rd Jan. 2020. (D) *C. japonicum*, Uihang-ri, Taean, 11st Feb. 2020.

Table 1. Sampling sites of *Ceramium kondoi*.

Population	Region	Locality	Latitude (N)	Longitude (E)
West				
	IO	DCD	37.8089	124.6975
		SCD	37.7690	124.7518
	IJ	SMU	37.3707	126.4484
	TA	MED	36.9140	126.2516
		HAP	36.9003	126.1992
		UHR	36.8435	126.1709
	BR	MCP	36.2387	126.5277
	BA	CSG	35.6263	126.4636
		SDR	35.0802	126.0444
		BSR	35.8674	126.9813
South-West				
	HN	NSR	34.3285	126.5920
	GH	NDH	34.5232	127.1540
South				
	YS	DMR	34.5116	127.7388
		JPR	34.6451	127.7955
		PSR	34.7024	127.7552
	SC	DBD	34.9333	128.0492
	TY	SHD	34.8389	128.3825

Table 2. Sampling sites of *Ceramium japonicum*.

Population	Region	Locality	Latitude (N)	Longitude (E)
West				
	TA	MED	36.9140	126.2516
		UHR	36.8435	126.1709
		SOR	36.6222	126.2827
	BR	MCP	36.2387	126.5277
	BA	CSG	35.6263	126.4636
	SA	GMM	35.3996	126.4040
South				
	HN	NSR	34.3285	126.5920
	CD	CDR	34.2235	127.2269
	YS	JSR	34.6442	127.6082
		DMR	34.5116	127.7388
		MSR	34.7739	127.7472
East				
	BS	YD	35.0751	129.0836
	US	MSD	35.3844	129.3489
	GJ	GPR	35.8100	129.5110
	PH	SBR	36.0100	129.5780
	UJ	NGR	37.1271	129.3730

Abbreviations: BA. Buan, BR. Boryeong, BS. Busan, BSR. Baeksan-ri, CDR. Chodo-ri, CSG. Chaeseokgang, DBD. Daebang-dong, DCD. Daechong-do, DMR. Dumo-ri, GH. Goheung, GJ. Gyeongju, GMM. Gamami, GPR. Gampo-ri, HAP. Hakampo, HN. Haenam, IO. Ongjin Incheon, IJ. Junggu Incheon, JPR. Jukpo-ri, JSR. Jangsu-ri, MCP. Muchangpo, MED. Mineo-do, MSD. Myeongseon-do, MSR. Manseong-ri, NDH. Nokdong, NGR. Nagok-ri, NSR. Namseong-ri, PH. Pohang, PSR. Pyeongsa-ri, SA. Shinan, SBR. Seokbyeong-ri, SC. Seochon, SCD. Socheong-do, SDR. Samdo-ri, SHD. Sanghang-do, SMU. Somuui-do, SOR. Sinon-ri, TA. Taean, TY. Tongyeong, UHR. Uihang-ri, UJ. Uljin, US. Ulsan, YD. Yeong-do, YS. Yeosu



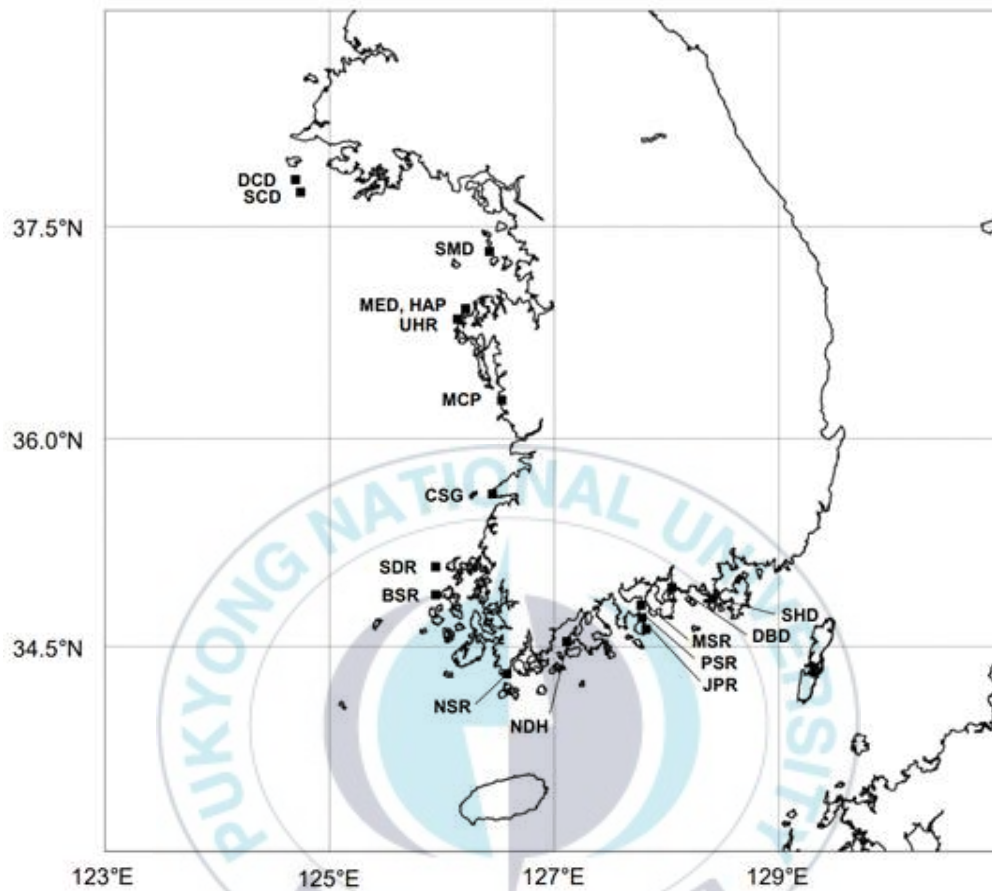


Fig. 2. Voucher collection localities of *Ceramium kondoi*.

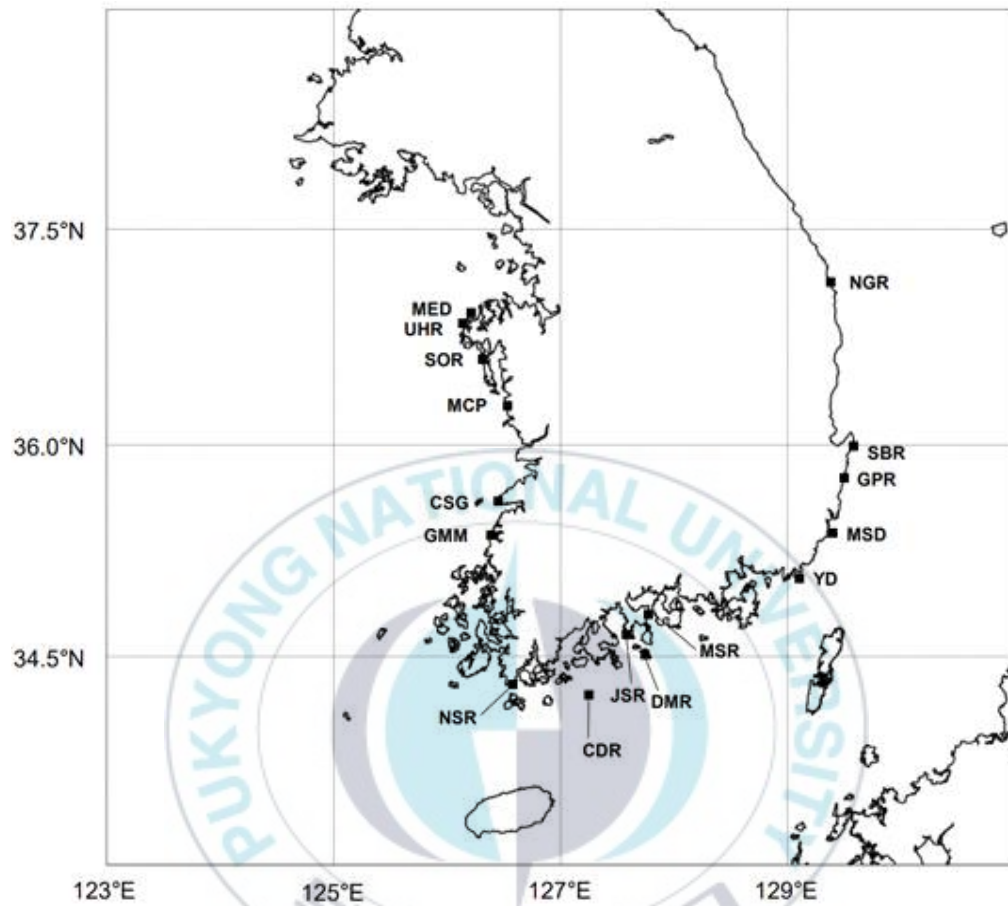


Fig. 3. Voucher collection localities of *Ceramium japonicum*.

2. DNA 추출

건조한 시료를 멸균한 여과해수를 사용하여 부착 생물을 제거한 뒤 다시 건조하였다. 건조시료 0.02 g을 액체질소로 곱게 마쇄하여 LaboPass™ Tissue Genomic DNA Isolation Kit Mini (COSMOGENETECH, Seoul, Korea)을 사용하여 total DNA를 추출하였다. Lysis buffer 200 µl, Protinase 20 µl 와 마쇄한 시료를 1.5 ml 튜브에 넣고 헛팅블럭에 56℃로 30분간 넣어둔 후 원심분리 (13,500 rpm, 5분)후 핏펫을 사용하여 상층액 (200 µl) 만 떠올려 새 1.5 ml 뷰트에 옮겨 담았다. Binding buffer 400 µl 를 상층액이 든 튜브 안에서 핏펫을 이용하여 5번 섞은 후 Column에 옮겨 담아 원심분리(11,000 rpm, 1분)하였다. 워싱은 Column에 BW 워싱버퍼 700µl을 넣고 11,000 rpm 1분간 원심분리하였다. Column에 NW 워싱버퍼 700 µl을 넣고 원심분리(11,000 rpm, 3분) 하였고, 한 번 더 원심분리 (11,000 rpm, 1분)하여 잔존 에탄올을 제거 (건조)하였다. 바인딩은 NW 버퍼 150 µl를 넣고 10분간 기다린 후에 원심분리(13,000 rpm, 1분) 하였다. 추출된 DNA는 새 1.5 ml 튜브에 옮겨 담았다. 추출한 DNA는 Qubit® 3.0 Fluorometer와 Nanodrop™ One Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 순도와 농도를 측정한 뒤, -20℃에서 보관하였다.

3. *cox1* PCR 및 시퀀싱

cox1 분석은 비단폴 186개체, 깃꼴비단폴 220개체를 사용하였다 (Tables 3-4). *cox1* 증폭에 사용된 primer는 forward primer *cox1_43F* (5'-TCAACAAATCATAAAGATATTGG WACT-3')와 revers primer *cox1_R882* (5'-GTATACA TATGATGHGCTCAA-3')이다. PCR 과정을 위해 DNA 1 μ l와 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 최종 부피 20 μ l로 PCR 반응액을 제조하였다. 이렇게 제조된 시료는 최초 95°C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, 95°C에서 20초간 denaturation, 50°C에서 20초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension하는 과정을 30회 반복한 후 72°C에서 5분간 final-extension한 후 4°C로 반응을 종결하였다. 증폭산물을 정제하기 위하여 PCR product 10 μ l와 Applied Biosystems™ ExoSAP-IT™ Express PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Fisher Scientific, USA) 2 μ l를 0.2 μ l 튜브에 옮겨 담아 최종 부피 12 μ l 반응액을 제조하였다. 이렇게 제조된 시료는 37°C에서 4분간 예열하고 80°C에서 1분간 유지한 후 4°C로 반응을 종결한 후 -20°C 냉동고에 보관 하였다.

시퀀싱은 (주)바이오닉스 (BIONICS, Seoul, Korea)에서 제공하는 DNA 시퀀싱 서비스 (sanger sequencing)를 이용하였다. Geneious Prime 2020을 사용하여 정방향 및 역방향 electropherograms을 확인 하였으며 불확실한 서열을 제거한 뒤 consensus sequence로 만들었다. 각 개체의 *cox1* consensus sequence는 이전 가용 정보 (Yang et al. 2008, 2009)와 비교하였다.

4. 개체군 구조 분석

cox1 염기서열 alignment는 translation protein 서열을 기준으로 정렬하였다. 분석은 DNAsp v.5.10 (Librado, 2009)와 Arlequin v.3.5를 이용하였다.

cox1 maximum likelihood (ML) 계통수는 RAxML v8.2.4로 구축하였다. 계통수 구축에는 GTRGAMMA 모델을 사용하였으며 raxml 옵션은 -f a였으며, 각 node 단계통성은 1,000번의 bootstrap 분석으로 검증하였다.

모든 개체군에 대한 군집분석에 기초한 집단의 수(K)를 추정하기 위하여 Structure v.2.3.4 (Pritchard et al. 2000)를 사용하였다. 마르코프 체인 몬테 카를로(MCMC) 시뮬레이션은 혼합모형을 이용하여 1부터 개체군 수까지 수행하였고, 10번의 시뮬레이션 반복이 이루어졌다 (MCMC = 500,000, burn in = 10,000). 적정 K값은 Evanno et al. (2005)을 따라 로그확률의 변화율에 기초한 ΔK ($\text{mean}(|L''(K)|) / \text{sd}(L(K))$)값의 Structure Harvester를 사용하여 계산하였다 (Earl et al. 2012).

5. gDNA 추출 및 QC

NGS를 위한 gDNA 추출에는 Live 샘플 1 g을 사용하였다. 샘플을 멸균 여과해수로 세척하고 막자사발에 액체질소를 넣고 곱게 마쇄하여 50 ml 튜브에 옮겨 담았다. gDNA 추출은 NucleoBond Buffer Set IV (MACHEREY-NAGEL)와 NucleoBond AXG 100, Midi columns for high integrity DNA (MACHEREY-NAGEL)을 사용하였다.

DNA의 순도 (A_{260}/A_{280} and A_{260}/A_{230} ratios)와 농도는 Qubit®3.0 Fluorometer와 Nanodrop™ One Spectrophotometer를 사용했다. 흡광도 (optical density) 측정은 Dropsense96 (Trinean)를 사용했다. Quality check는 Bioanalyzer DNA Chip (Agilent Technologies)사용 했다. 형광정량은 Pibogreen (Invitrogen)을 사용 했다. 측정이 끝난 시료는 -80°C 냉동고에 보관하였다.

6. 세포소기관 유전체 시퀀싱 및 조립

전장유전체분석(Whole Genome Sequencing)을 위한 라이브러리 준비는 MGI Easy DNA Library Prep Kit을 사용하였다. 라이브러리 QC는 Bioanalyzer DNA Chip을 사용했다. 제작한 라이브러리는 MGISEQ-2000 (MGI) sequencing platform을 사용하여 150 bp paired-end로 시퀀싱하였으며 개체당 10 Gb 이상의 데이터를 생산했다.

세포소기관 (색소체 및 미토콘드리아) 유전체 조립에는 NOVOPlasty v.4.3.1을 사용하였다. 이후 CLC Genomics Workbench v.6.5.1을 사용하여 Read mapping을 반복하여 Consensus sequence를 완성하였다. Annotation에는 Geneious Prime 2020을 사용하였다. Annotation에 필요한 Reference sequence는 KX284719 *Ceramium japonicum*과 NC_031211 *Ceramium sungminbooi*를 사용하였다(NCBI). 세포소기관 (ptDNA, mtDNA) 유전체 지도는 OGDRAW를 사용하여 이미지화하였다.

III. 결과

1. 확증 표본 및 *cox1* 계통수

비단풀 (*Ceramium kondoï*)은 서해 및 남해안 17지점에서 252개체를 채집하여 186개체의 *cox1*을 분석하였다 (Table 3). 갯꼰비단풀 (*Ceramium japonicum*)은 서해, 남해 및 동해안 16개 지점에서 309개체를 채집하여 220개체의 *cox1*을 분석하였다 (Table 4).

비단풀속 (*Ceramium*) 내에 속한 7종의 계통 관계를 *cox1* (771 bp) 염기서열을 기반으로 분석한 결과, 비단풀 (*C. kondoï*), 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*), *C. boydenii* 및 *C. sungminbooi*는 단계통을 이루었다 (64% ML bootstrap support) (Fig. 4).

*Ceramium sungminbooi*를 outgroup으로 하여 비단풀 (*C. kondoï*) 186개체, 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*) 220개체에 대하여 *cox1* 계통수를 분석한 결과, 비단풀 (*C. kondoï*)은 남-서해 (S-W) 지역에서 먼저 분화가 일어났다 (Fig. 5). 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*)은 남해 (S) 지역에서 가장 먼저 분화가 일어났다 (Fig. 6).

비단풀 (*C. kondoï*) *cox1* ML 계통수에서, 여수 평사리 1개체는 (c23) 남해 개체군에 속한 다른 개체들과 구분된다 (91% ML bootstrap support) (Fig. 5). 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*) *cox1* ML 계통수에서, 전남 영광군 계마리 4개체는 (c27) 태안 의항리, 신온리 6개체 (c11)와 구분된다 (55% ML bootstrap support) (Fig. 6). 태안 신온리 개체 (c26)는 서해 개체군에 속한 다른 개체들과 구분된다 (98% ML bootstrap support) (Fig. 6). 남해

도 예제리 15개체 (c4, c5, c6, c7, c8)는 단계통을 이룬다 (50% ML bootstrap support) (Fig. 6).



Table 3. Numbers of voucher, *cox1* and NGS sample in *Ceramium kondoi*.

Population	Region	Locality	No.		
			Voucher	<i>cox 1</i>	NGS
West			149	105	16
	IO	DCD	5	5	1
		SCD	3	2	-
	IJ	SMU	29	22	-
	TA	MED	3	3	2
		HAP	18	12	2
		UHR	41	22	3
	BR	MCP	10	4	2
	BA	CSG	32	27	3
	SA	SDR	2	2	-
		BSR	6	6	3
South-West			34	29	10
	HN	NSR	31	28	9
	GH	NDH	3	1	1
South			69	52	9
	YS	JPR	4	2	1
		PSR	1	1	-
		MSR	4	4	1
	SC	DBD	15	15	2
	TY	SHD	45	30	5
Sum			252	186	35

Table 4. Numbers of voucher, *cox1* and NGS sample in *Ceramium japonicum*.

Population	Region	Locality	No.		
			Voucher	<i>cox 1</i>	NGS
West			99	77	9
	TA	MED	4	4	1
		UHR	33	24	2
		SOR	10	10	2
	BR	MCP	10	5	2
	BA	CSG	38	30	1
	SA	GMM	4	4	1
South			153	103	9
	HN	NSR	61	41	1
	CD	CDR	59	33	6
	YS	JSR	22	21	2
		DMR	6	3	-
		MSR	5	5	-
East			57	40	4
	BS	DSR	6	4	2
	US	MSD	33	18	-
	GJ	GPR	15	15	2
	PH	SBR	2	2	-
	UJ	NGR	1	1	-
Sum			309	220	22

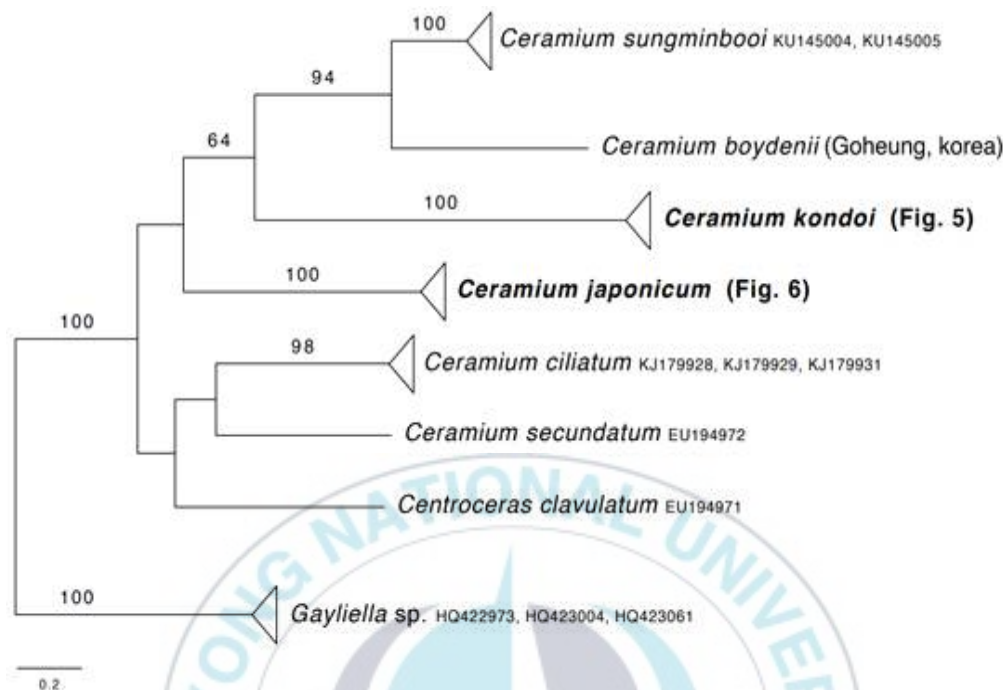


Fig. 4. Maximum-likelihood (ML) tree of seven *Ceramium* species based on *cox1* (771 bp). *Gayliella* sp. was used as the outgroup. Numbers associated with node are ML bootstrap support values (only values >50% are shown).

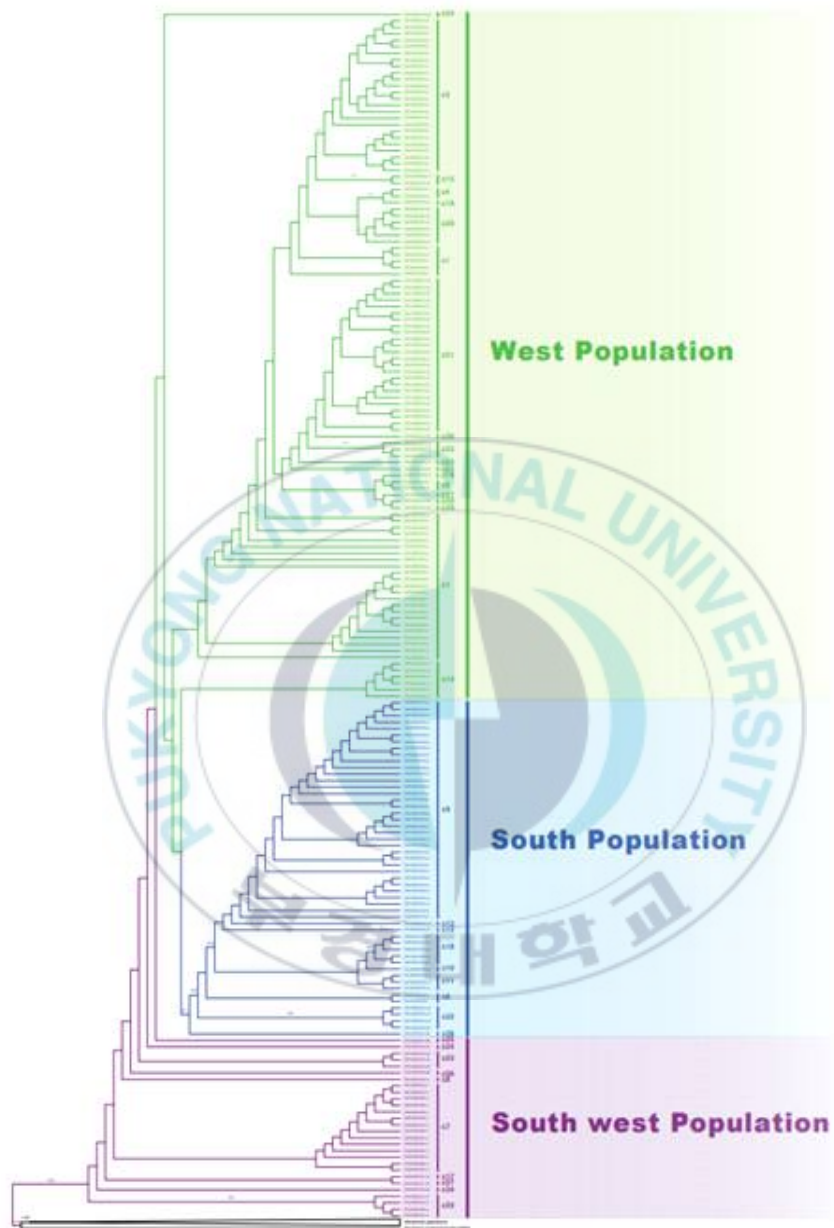


Fig. 5. Maximum likelihood (ML) tree of *Ceramium kondoi* based on *cox1* (771 bp). *Ceramium sungminbooi* was used as the outgroup. West, South-West and South populations are indicated by green, purple, and blue, respectively.

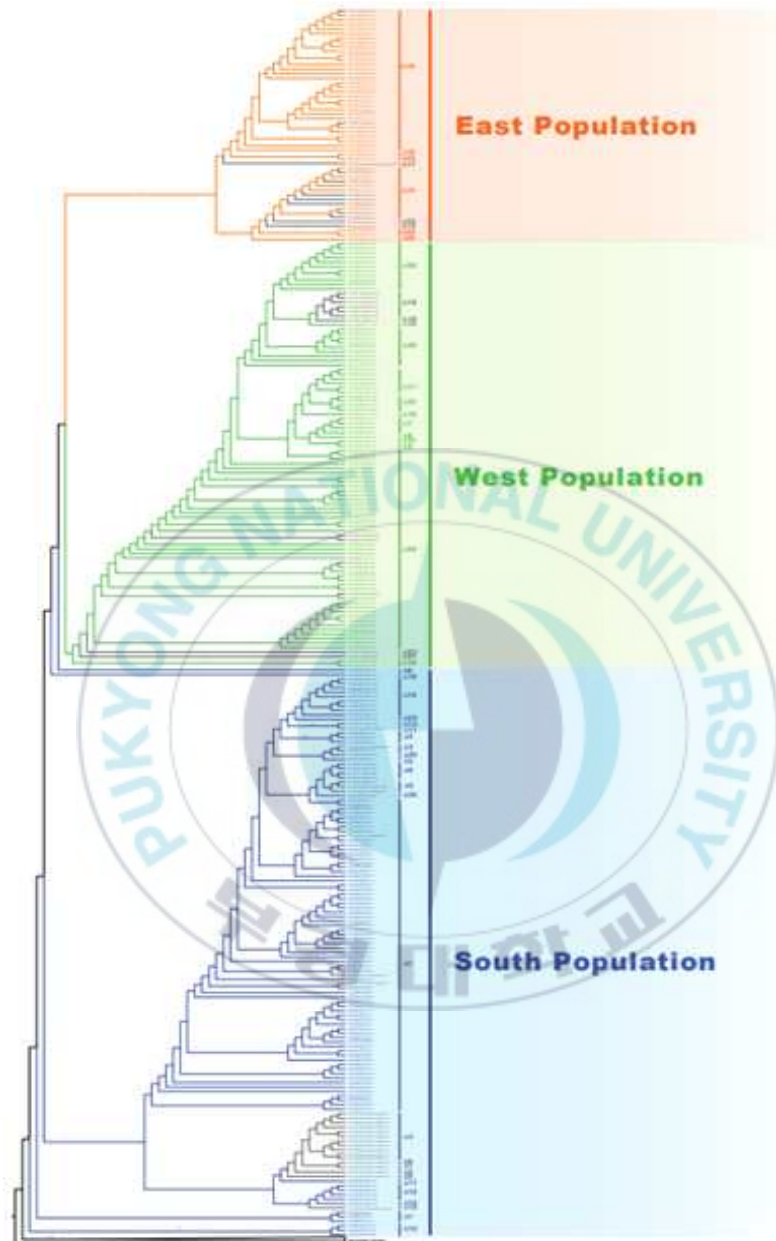


Fig. 6. Maximum likelihood (ML) tree of *Ceramium japonicum* based on *cox1* (771 bp). *Ceramium sungminbooi* was used as the outgroup. West, South and East populations are indicated by green, blue and orange, respectively.

2. *cox1* haplotypes 분포 및 다양성

cox1 (771 bp)의 염기서열 분석 결과 186개의 비단풀 (*Ceramium kondoi*)에서 37개의 haplotypes를 발견하였다 (Fig. 7, Table 5). 비단풀 (*C. kondoi*) 서해 (W) 개체군에 속하는 인천 웅진군 (IO) 대청도 (DCD)에서는 2개의 haplotypes (c21, c35)를 발견하였다. Haplotypes c36과 c37은 인천 웅진군 (IO) 소청도 (SCD)에만 분포한다. 인천 중구 (IJ) 소무의도 (SMD)의 모든 개체는 대청도와 같은 haplotype c21이다. 태안 (TA) 민어도 (MED)에서는 3개의 haplotypes (c1, c29, c30)를 발견하였다. 태안 (TA) 학암포 (HAP)에서는 4개의 haplotypes (c1, c14, c15, c16)를 발견하였다. 태안 (TA) 의항리 (UHR)에서는 2개의 haplotypes (c1, c2)를 발견하였다. 태안의 모든 정점 (Locality)에는 haplotype c1이 분포하였다. 보령 (BR) 무창포 (MCP)에서는 3개의 haplotypes (c1, c31, c32)를 발견하였다. 부안 (BA) 채석강 (CSG)에서는 3개의 haplotypes (c3, c4, c19)를 발견하였다. 신안 (SA) 삼두리 (SDR), 백산리 (BSR)에서는 2개의 haplotypes (c1, c20)를 발견하였다. 가장 많은 haplotypes를 보인 지역은 남-서 (S-W) 개체군에 속하는 전남 해남 (HN)으로 총 10개의 haplotypes (c5, c7, c8, c17, c23, c24, c25, c26, c27, c34)를 발견하였다. 전남 고흥 (GH) 녹동항 (NDH)에서는 1개의 haplotype c33을 발견하였다. 남해 (S) 개체군에 속한 여수 (YS) 장평리 (JPR), 평사리 (PSR), 만성리 (MSR)에서는 각 1개 총 3개의 haplotypes (정점 순으로, c6, c28, c22)를 발견하였다. 사천 (SC) 대방동 (DBD)에서는 5개의 haplotypes (c9, c10, c11, c12, c13)를 발견하였다. 통영 (TY) 상항도 (SHD)에서는 2개의 haplotypes (c9, c18)를 발견하였다. Haplotype c9는 사천과 통영에 함께 분포하였다.

비단풀 (*C. kondoi*)의 37개 haplotypes 정의는 53개의 가변 좌위(6.87%)

에 따른다 (Table 6). 46개의 변이 좌위는 transitions (20 A-G, 26 C-T), 7개의 변이 좌위는 transversions (3 A-C, 4 G-T) 이다. 비단풀 (*C. kondoi*)의 Haplotype diversity (h)는 서해 (W) 개체군 0.823 ± 0.019 , 남-서 (S-W) 개체군 0.754 ± 0.078 , 남해 (S) 개체군 0.587 ± 0.077 로 서해 개체군에서 가장 높았다. Nucleotide diversity (π)은 0.0138 ± 0.0008 이며, 서해 개체군 0.0017 ± 0.0001 , 남-서해 개체군 0.0019 ± 0.0005 , 남해 개체군 0.0020 ± 0.0003 으로 남해 개체군에서 가장 높았다. 개체군의 확장을 의미하는 Neutrality test (D^* of Fu and Li) 결과 남해개체군에서 -2.84549 의 유의미한 값 ($p\text{-value} < 0.05$)을 나타냈다 (Table 7).

cox1 (771 bp)의 염기서열 분석 결과 220개의 갯꿀비단풀(*Ceramium japonicum*) 개체에서 30개의 haplotypes를 발견하였다 (Fig. 8, Table 8). 갯꿀비단풀 (*C. japonicum*) 서해 (W) 개체군에 속하는 태안 (TA) 민어도 (MED)에서는 1개의 haplotype C20을 발견하였다. 의항리 (UHR)에서는 2개의 haplotypes (C20, cn11)를 발견했다. 신온리 (SOR)에서는 4개의 haplotypes (C20, cn11, cn26, cn28)를 발견했다. 보령 (BR) 무창포 (MCP)에서는 3개의 haplotypes (C20, cn9, cn21)를 발견했다. 부안 (BA) 채석강 (CSG)에서는 2개의 haplotypes (C20, cn16)를 발견했다. 신안 (SA) 계마리 (GMR)에서는 1개의 haplotype cn27을 발견했다. Haplotype C20은 신안을 제외한 서해 개체군 모든 정점 (Locality)에 분포한다. 갯꿀비단풀 남해 (S) 개체군에 속한 해남 (HN) 남성리 (NSR)에서는 5개의 haplotypes (C1, cn4, cn6, cn17, cn18)를 발견했다. 가장 많은 haplotypes를 보인 지역은 남해 초도섬 (CD)으로 총 8개의 haplotypes (C1, C3, cn12, cn14, cn15, cn20, cn24, cn25)를 발견하였다. 여수 (YS) 장수리 (JSR), 두모리 (DMR), 만성리 (MSR)에서는 총 5개의 haplotypes (C1, cn5, cn7, cn8, cn13)를 발견하였다. Haplotype C1은 남해 개체군 모든 지역 (Region)에 분포한다. 갯꿀

비단풀 동해 (E) 개체군에 속하는 부산 (BS) 영도 (YD) 동삼동 (DSD)에서는 2개의 haplotypes (C16, cn23)를 발견했다. 울산 (US) 명선도 (MSD)에서는 2개의 haplotypes (C16, cn10)를 발견했다. 경주 (GJ) 감포리 (GPR)에서는 2개의 haplotypes (C16, C14)를 발견했다. 포항 (PH) 석병리 (SBR)에서는 1개의 haplotype cn22를 발견했다. 울진 (UJ) 나곡리 (NGR)에서는 1개의 haplotype cn29를 발견했다. Haplotype C16은 동해 개체군 부산, 울산, 울진 지역에 함께 분포한다.

깃폴비단풀 (*C. japonicum*)의 30개의 haplotypes 및 이전 연구 (Yang et al. 2009)의 17개 총 47개의 haplotype 정의는 가변 좌위(7.39%)에 따른다 (Table. 9). 57개의 변이 좌위는 transitions (20 A-G, 28 C-T), 9개의 변이 좌위는 transversions (5 A-C, 1 A-T, 3 G-T)이다. 깃폴비단풀 (*C. japonicum*)의 Haplotype diversity (h)은 서해 (W) 개체군 0.483, 남해 (S) 개체군 0.668, 동해 (E) 개체군 0.607로 남해 개체군에서 가장 높았다. Nucleotide diversity (π)은 서해 개체군 0.00148, 남해 개체군 0.00293, 동해 개체군 0.00354으로 동해 개체군에서 가장 높았다. 개체군의 확장을 의미하는 Neutrality test (Tajima's D, D* of Fu and Li) 결과 서해 개체군 ($-2.3163^{**}(p\text{-value} < 0.02)$, $-4.4593^{**}(p\text{-value} < 0.01)$), 남해 개체군 ($-2.1606^{**}(p\text{-value} < 0.02)$, $-2.8189^{*}(p\text{-value} < 0.05)$)의 유의미한 값을 나타냈다 (Table 10). 남해 개체군 내에서는 남해도 지역에서 Neutrality tests (Tajima's D, D* of Fu and Li) 결과 $-2.0032^{*}(p\text{-value} < 0.05)$, $-2.6843^{**}(p\text{-value} < 0.01)$ 유의미한 값을 나타냈다. 동해 개체군 내에서는 부산 지역에서 Neutrality test (D* of Fu and Li) 결과 $-1.4975^{*}(p\text{-value} < 0.05)$ 로 유의미한 값을 보였다.

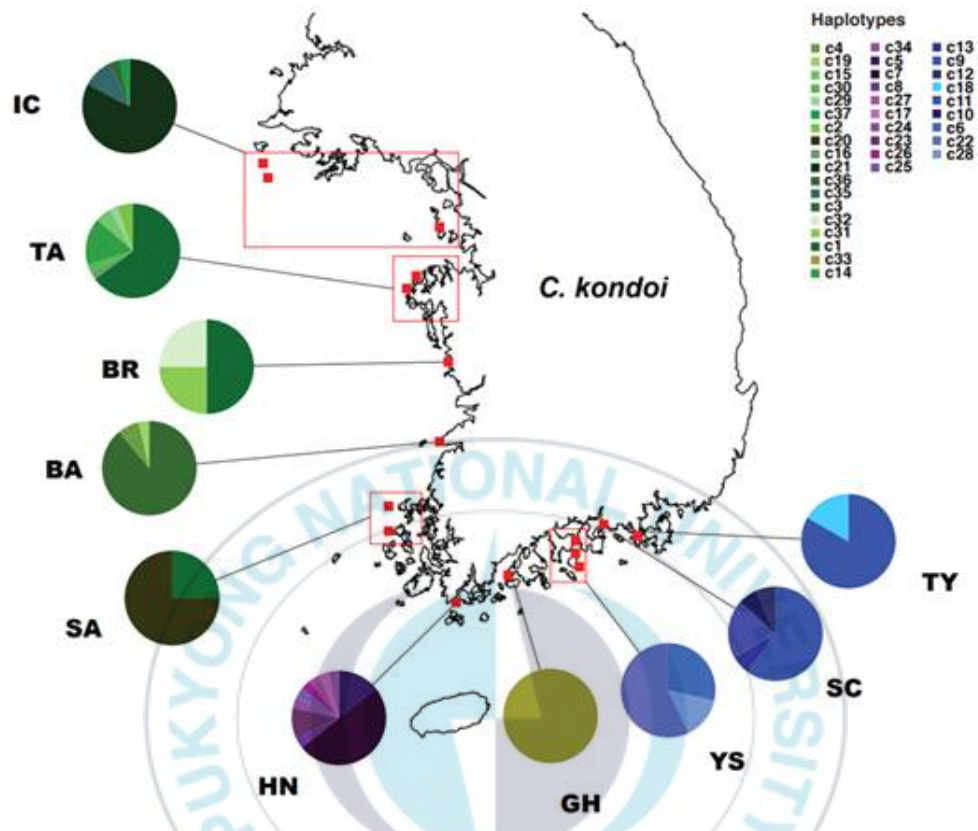


Fig. 7. Haplotype distribution and frequency map for *Ceramium kondoi*. The locality IDs are correspondence to that of Table 1. Different colors refer to different haplotypes.

Table 5. Distribution and frequency of *cox1* haplotypes of *Ceramium kondoii*.

Population	Region	Locality	Sum	Haplotypes																																							
				c21	c35	c36	c37	c1	c29	c30	c14	c15	c16	c2	c31	c32	c3	c4	c19	c20	c5	c7	c8	c23	c24	c25	c26	c27	c17	c34	c33	c6	c28	c22	c9	c10	c11	c12	c13	c18			
West	I.O	DCD	5	2	3																																						
		SCD	2			1	1																																				
		IJ	SMU	22	22																																						
		TA	MED	3					1	1	1																																
		HAP	12				3				6	2	1																														
		UHR	22				20							2																													
		BR	MCP	4					2							1	1																										
		BA	CSG	27														24	2	1																							
		SDR	2					2																																			
		BSR	6																	6																							
South-West	HN	NSR	28																																								
		GH	NDH	1																																							
South	YS	JPR	53																																								
		PSR	2																																								
		MSR	1																																								
			4																																								
		SC	DBD	15																																							
		TY	SHD	30																																							
Sum				186	24	3	1	1	28	1	1	6	2	1	2	1	1	24	2	1	6	4	14	1	3	1	1	1	1	1	1	2	1	4	34	1	3	1	1	5			

Population	con1 haplotype (771bp)	Position																			
		m	s	c	t	g	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c
		33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Yellow Sea	e14	T	T	T	G	G	A	T	A	A	C	C	T	G	C	T	C	G	C	T	C
	e21																				
	e36																				
	e35																				
	e3																				
	e32																				
	e31																				
	e20																				
	e16																				
	e2																				
	e30																				
	e29																				
	e37																				
	e1																				
	e15																				
	e4																				
	e19																				
	e33																				
South west Sea	e34																				
	e5																				
	e7																				
	e27																				
	e8																				
	e17																				
	e24																				
	e23																				
	e26																				
	e25																				
South Sea	e13																				
	e9																				
	e12																				
	e18																				
	e11																				
	e10																				
	e6																				
	e22																				

Table 7. Summary statistics of mitochondrial *cox1* haplotypes of *Ceramium kondoii*. N = number of samples, V = number of variable sites, Nh = number of haplotypes, h = haplotype diversity, SD = standard deviation, π = nucleotide diversity, and NA = data not available. Asterisk (*) indicates statistically significant difference, P -value < 0.05 .

Population	Region	N	V	Nh	h	$\pm$	SD	π	$\pm$	SD	Tajima's D test	D* test of Fu and Li
All		186	53	38	0.906		0.010	0.01383		0.0008	0.5019	- 1.7394
	West	105	15	17	0.823		0.019	0.00172		0.0001	- 1.4787	- 1.1502
	I.O	7	4	4	0.810		0.130	0.00185		0.0005	- 0.5976	- 0.7893
	IJ	22	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	TA	37	6	7	0.560		0.088	0.00091		0.0002	- 1.3878	- 0.4240
	BR	4	2	3	0.833		0.222	0.00130		0.0004	- 0.7099	- 0.7099
	BA	27	3	3	0.211		0.100	0.00063		0.0003	- 0.9165	- 0.2285
	SA	8	1	2	0.429		0.169	0.00056		0.0002	0.3335	0.8878
	South-West	29	12	11	0.754		0.078	0.00190		0.0005	- 1.7078	- 1.7800
	HN	28	9	10	0.735		0.082	0.00152		0.0003	- 1.5610	- 2.0561
	GH	1	NA	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	South	52	14	10	0.587		0.077	0.00197		0.0003	- 1.5382	- 2.8549 *
	YS	7	3	3	0.667		0.160	0.00148		0.0006	- 0.3019	- 0.5190
	SC	15	7	5	0.629		0.125	0.00158		0.0006	- 1.5620	- 2.1203
	TY	30	3	2	0.287		0.092	0.00112		0.0004	0.3257	0.9498

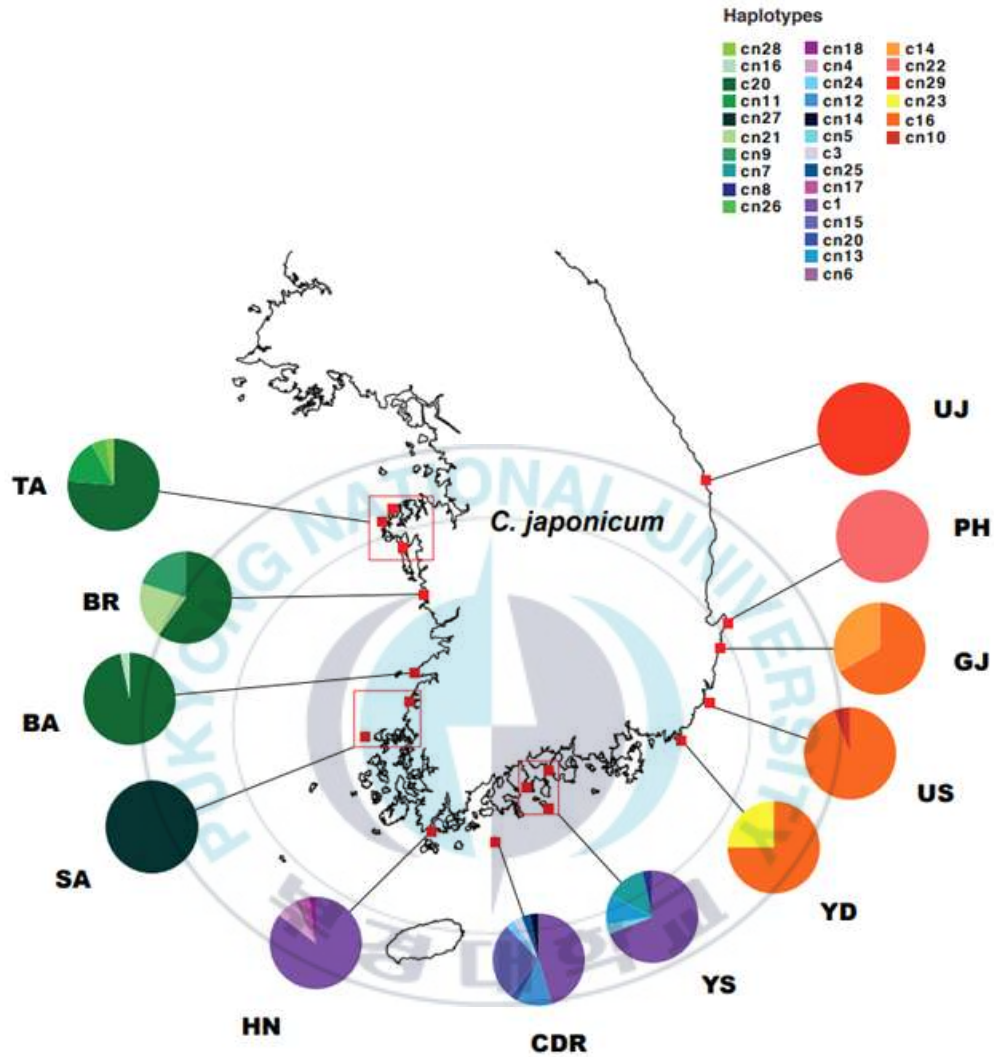


Fig. 8. Haplotype distribution and frequency map for *Ceramium japonicum*. The locality IDs are correspondence to that of Table 2. Different colors refer to different haplotypes.

Table 9. Condensed alignment of *cox1* (771 bp) of *Ceramium japonicum*.
Dots indicate identical nucleotides to that of the first haplotype.

[illegible]

Table 10. Summary statistics of mitochondrial *cox1* haplotypes of *Ceramium japonicum*: N = number of samples, V = number of variable sites, Nh = number of haplotypes, h = haplotype diversity, SD = standard deviation, π = nucleotide diversity, and NA = data not available. Tajima's D Asterisk (*, **) indicates statistically significant difference, P -value < 0.05 , P -value < 0.02 . Fu and Li Asterisk (*, **) indicates statistically significant difference, P -value < 0.05 , P -value < 0.01 .

Population	Region	N	V	Nh	h	$\pm$	SD	π	$\pm$	SD	Tajima's D test	D* test of Fu and Li
All		274	57	47	0.855		0.013	0.01149		0.0003	- 0.1122	- 2.8608 *
	West	91	25	13	0.483		0.064	0.00148		0.0004	- 2.3163 **	- 4.4593 **
	TA	51	8	8	0.562		0.076	0.00094		0.0002	- 1.6081	- 2.2827
	BR	5	2	3	0.700		0.218	0.00130		0.0005	0.2431	0.2386
	GS	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	BA	30	1	2	0.067		0.061	0.00009		0.0001	- 1.1470	- 1.7655
	SA	4	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	South	129	42	24	0.668		0.046	0.00293		0.0006	- 2.1606 **	- 2.8189 *
	HN	41	4	5	0.271		0.089	0.00037		0.0001	- 1.6490	- 2.3557
	WD	3	2	2	0.667		0.314	0.00173		0.0008	NA	NA
	CD	33	8	8	0.722		0.059	0.00191		0.0003	- 0.7562	- 1.3062
	YS	30	17	5	0.497		0.102	0.00563		0.0017	0.0410	0.8690
	NH	16	6	6	0.542		0.147	0.00097		0.0003	- 2.0032 *	- 2.6843 **
	SC	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	TY	4	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	GF	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	East	54	22	11	0.607		0.065	0.00354		0.0008	- 1.3859	- 1.0846
	BS	6	13	3	0.600		0.215	0.00562		0.0028	- 1.4606	- 1.4975 *
	US	18	1	2	0.111		0.096	0.00014		0.0001	- 1.1647	- 1.6117
	GF	25	4	4	0.597		0.054	0.00211		0.0001	1.4472	0.1012
	PH	2	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	UJ	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	UL	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA
	JP	1	0	1	NA		NA	NA		NA	NA	NA

3. 개체군 구조 분석

비단풀 (*Ceramium kondoï*) 37 haplotypes 간 관계는 Minimum Spanning Network (MSN)으로 정리하였다. 서해 (초록색 계열) 및 남-서해 (보라색 계열) 개체군과 남해 개체군 (파란색 계열) 간의 haplotype 거리 (missing haplotypes)는 19이다 (Fig. 9). 서해 개체군에는 haplotypes c1, c2, c3, c4, c14, c15, c16, c19, c20, c21, c29, c30, c31, c32, c35, c36, c37이 있다. 이중 haplotype c1은 가장 많은 수 (n=28) 이며, 서해 개체군 MSN에서 중심부에 위치한다 (14개 links). Haplotypes c21 (n=24)과 c3 (n=24)도 빈번하다. 남-서해 개체군에는 haplotypes c5, c7, c8, c17, c23, c24, c25, c26, c27, c33, c34가 있다. 이 중 haplotype c7 (n=14)은 가장 많은 links (6개)를 가지며 중심부에 위치한다. 고흥-녹동항 (NDH) haplotype c33은 지리적으로는 남-서해 개체군에 속하나 유전적으로는 서해 개체군에 속한다. 남해 개체군에는 haplotypes c6, c9, c10, c11, c12, c13, c18, c22, c28이 있다. 이 중 haplotype c6 (n=2)와 c11 (n=3)은 4개의 links를 보이나 haplotype c9 (n=34)은 가장 많은 수를 보인다. 갯꿀비단풀 (*Ceramium japonicum*) 47 haplotypes 간 관계는 Minimum Spanning Network (MSN)으로 정리하였다. 서해 (초록색 계열)과 남해 (파란색 계열) 개체군 간의 haplotype 거리 (missing haplotypes)는 11이다. 남해 (파란색 계열) 개체군과 동해 개체군 (주황색 계열) 간의 haplotype 거리 (missing haplotypes)는 8이다 (Fig. 10). 서해 개체군에는 haplotypes C18, C19, C20, C21, C22, cn9, cn11, cn16, cn21, cn26, cn27, cn28이 있다. 이중 haplotype C20은 가장 많은 수 (n=66) 이며, 서해 개체군 MSN에서 중심부에 위치한다 (9개 links). 남해 개체군에는 haplotypes C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, cn4, cn5, cn6, cn7, cn8, cn12, cn13,

cn14, cn15, cn17, cn18, cn20, cn24, cn25가 있다. 이중 haplotype C1은 가장 많은 수 (n=73) 이며, 남해 개체군 MSN에서 중심부에 위치한다 (14개 links). 해남 남성리 (NSR)와 초도섬 (CDR)은 haplotype C1과 각각 4개 links를 가진다. 남해도 예계리 (YGR)는 haplotype C4 (n=11)과 4개 links를 가진다. 이는 Neutrality tests (Tajima's D, D* of Fu and Li) 결과와도 일치한다 (Table 10). 여수 만성리 (MSR) haplotypes cn7 (n=4), cn8 (n=1)은 지리적으로는 남해 개체군에 속하나 유전적으로는 서해 개체군에 속한다. 동해 개체군에는 haplotypes C13, C14, C15, C17, C16, cn10, cn22, cn23, cn29가 있다. 이 중 haplotypes C13 (n=1)은 5개의 links를 보이며 haplotype C16은 가장 많은 수 (n=30)를 보인다.

집단 간의 유전적 관계를 Scatter Diagram으로 보여주는 주성분 분석 (Principal Component Analysis, PCA)을 수행하여 비단풀 (*C. kondoi*)은 서해 (W), 남-서해 (SW), 남해 (S) 3개의 개체군으로 표현하였다 (Fig. 11). 갯꿀비단풀 (*C. japonicum*)은 서해 (W), 남해 (S), 동해 (E) 3개의 개체군으로 표현하였다 (Fig. 12). 비단풀 (*C. kondoi*)과 갯꿀비단풀 (*C. japonicum*)의 이동 (migrant) 및 혼합 (admixed)은 STRUCTURE로 나타냈다. K값 (number of population)의 추정치는 $\Delta K(\Delta K)(\text{mean}(|L''(K)|) / \text{sd}(L(K)))$ 의 피크로 나타냈다 (Figs 13, 14). 비단풀 (*C. kondoi*)은 K = 2에서 최대 피크 그리고 K = 5에서 또 하나의 낮은 피크를 보였다 (Fig. 13). K = 4, 5에서는 서해 개체군내 위도별 분화가 뚜렷하게 나타났다. 갯꿀비단풀 (*C. japonicum*)은 K = 2에서 최대 피크가 관찰되었고, K = 4에서 또 하나의 낮은 피크를 보였다 (Fig. 14). K = 4에서는 남해 개체군내 특히 초도섬에서 분화가 나타났다.

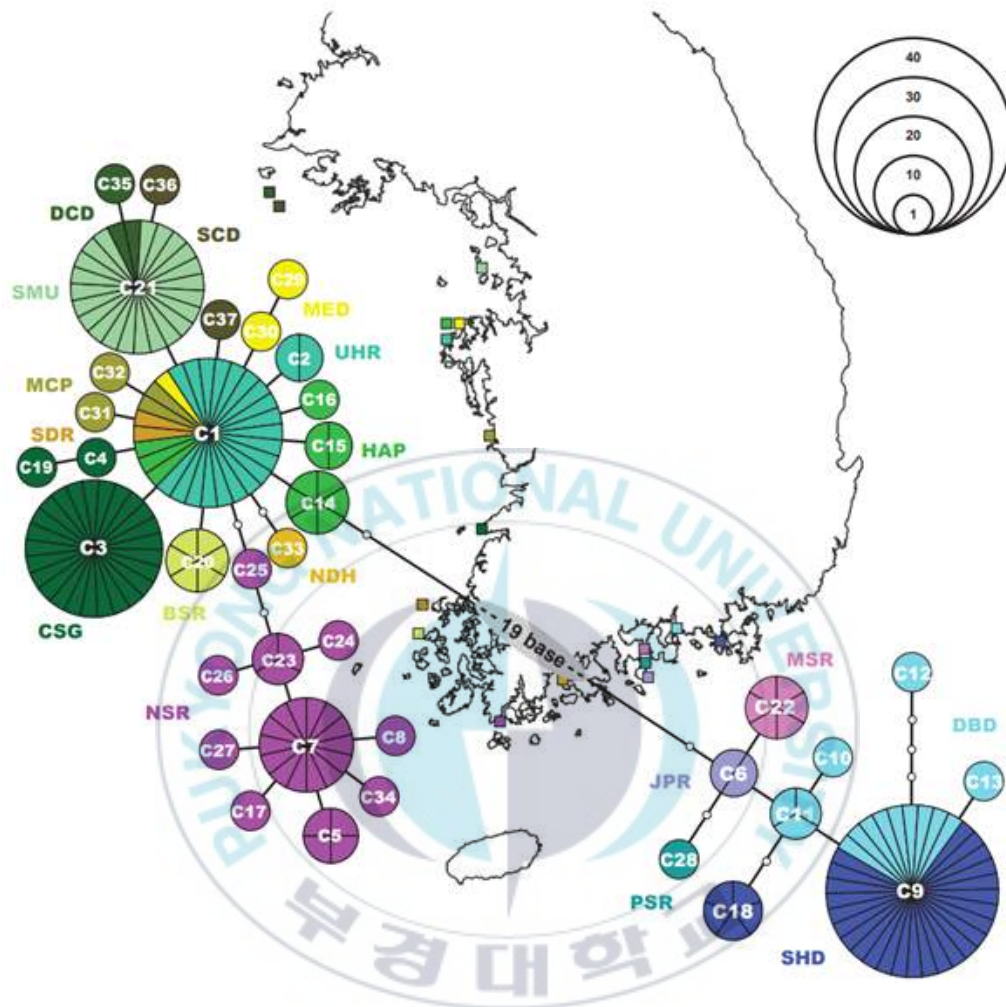


Fig. 9. Minimum spanning network (MSN) of *Ceramium kondoi* based on *cox1*. Open circle represents missing haplotype. Each line represents a single substitution. Circle size represents number of individuals as shown in Table 5.

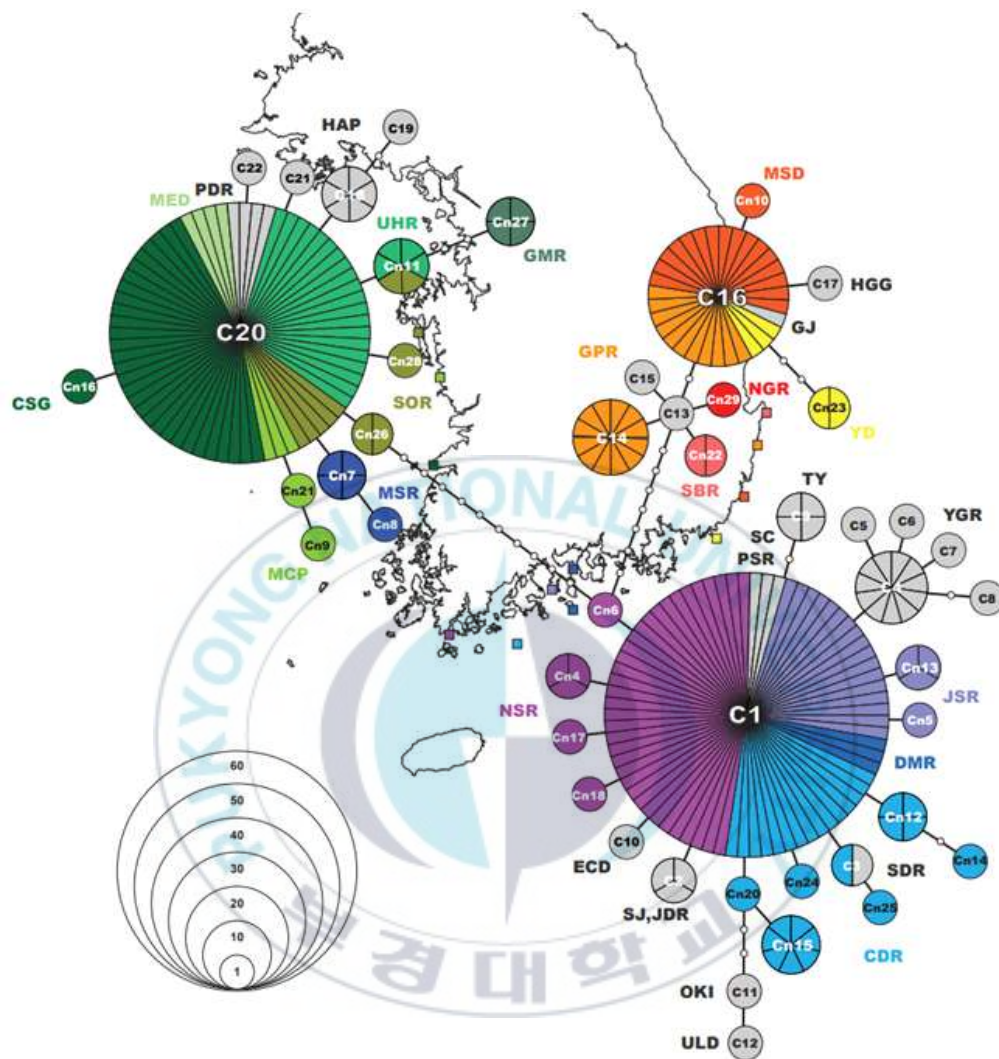


Fig. 10. Minimum spanning network (MSN) of *Ceramium japonicum* based on *cox1*. Open circle represents missing haplotype. Each line represents a single substitution. Circle size represents number of individuals as shown in Table 8.

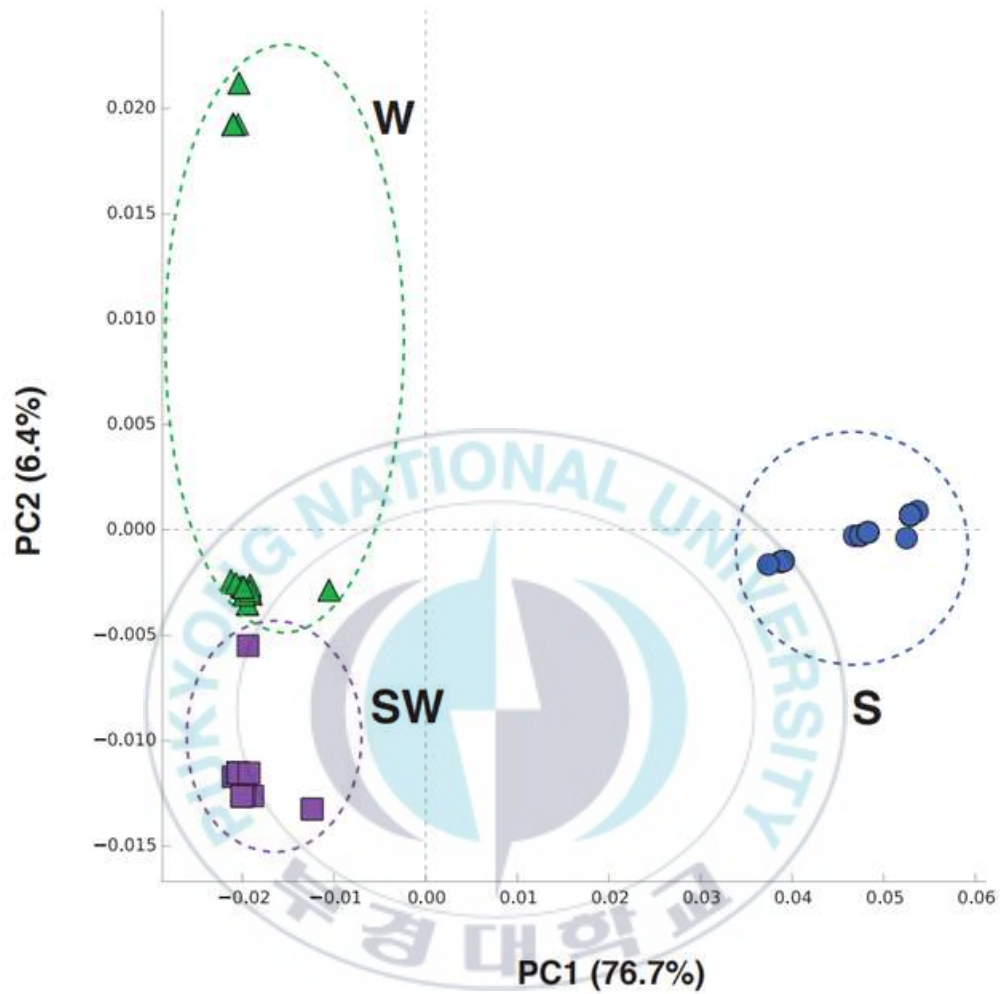


Fig. 11. Principal component analysis (PCA) of the genetic structure in *Ceramium kondoi* populations. West, South-West, South populations are indicated by green, purple, and blue, respectively.

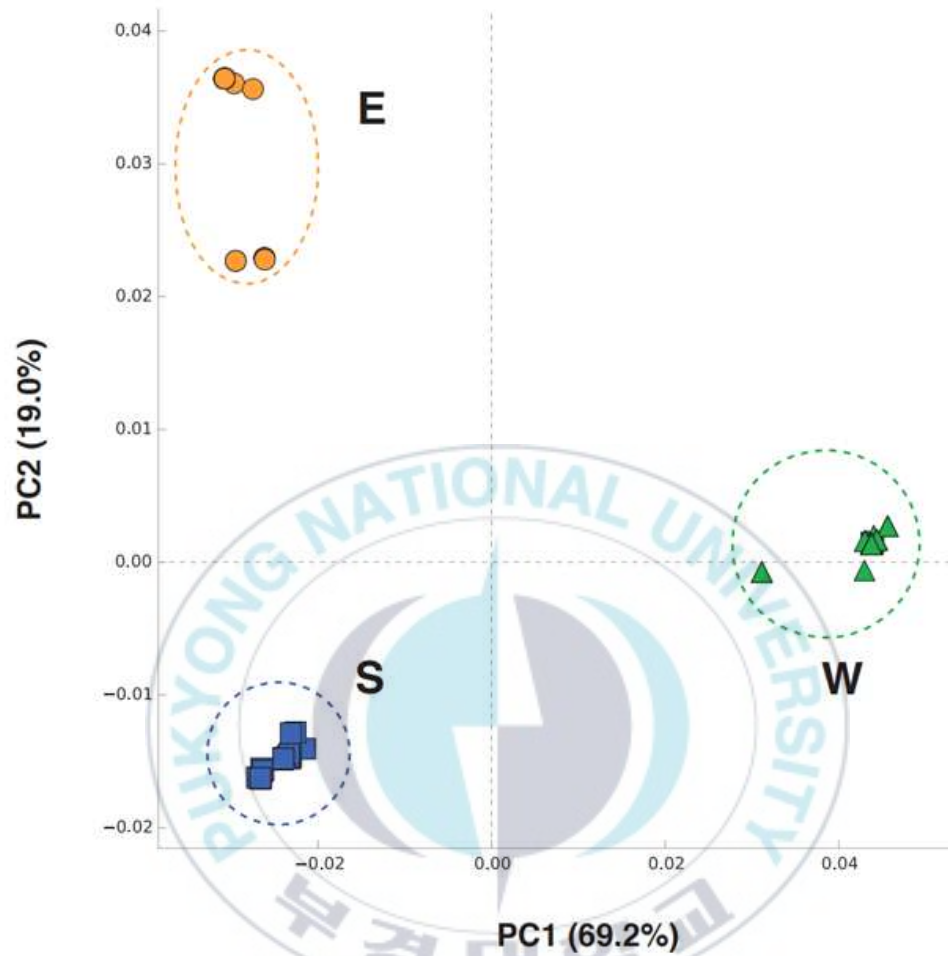


Fig. 12. Principal component analysis (PCA) of the genetic structure in *Ceramium japonicum* populations. West, South and East populations are indicated by green, blue, and orange, respectively.

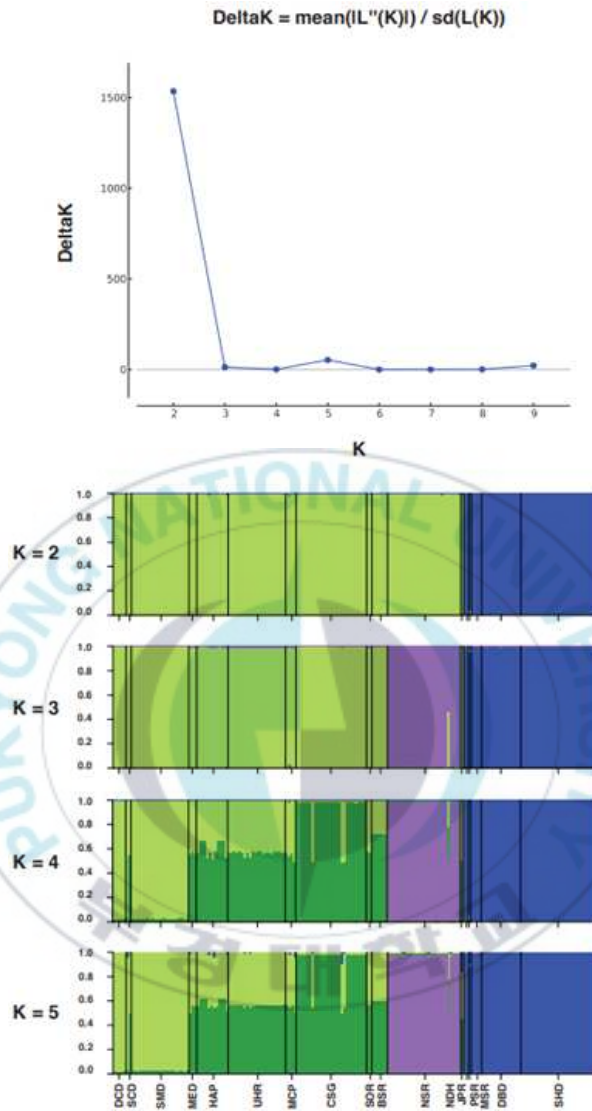


Fig. 13. Structure of *Ceramium kondoi* populations in Korea revealed by STRUCTURE analyses. Each individual is represented by a vertical bar broken into different colored genetic clusters, with length proportional to probability of assignment to each cluster. The graph results from 17 localities, 186 individuals, with possible numbers of clusters (K) ranging from 2 - 5.

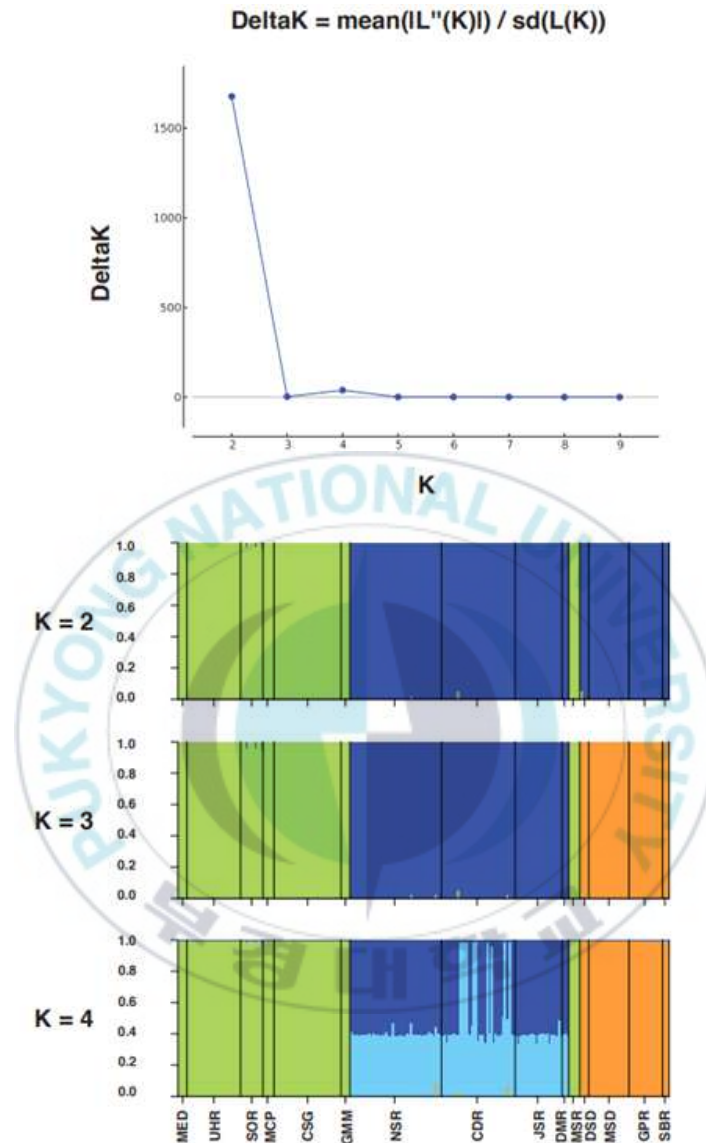


Fig. 14. Structure of *Ceramium japonicum* populations in Korea revealed by STRUCTURE analyses. Each individual is represented by a vertical bar broken into different colored genetic clusters, with length proportional to probability of assignment to each cluster. The graph results from 15 localities, 220 individuals, with possible numbers of clusters (K) ranging from 2 - 4.

4. 세포소기관 유전체 완성

세포소기관 (색소체 및 미토콘드리아) 유전체 분석은 *cox1* 분석을 기반으로 하여 선정된 비단풀 (*C. kondoi*) 35개체, 깃꿀비단풀 (*C. japonicum*) 22개체를 대상으로 하였다 (Tables 11-12). 그 결과, 개체당 평균 14Gb의 데이터를 생산하였다. Over Q30 (base call 정확성 99.9%) Bases 는 평균 86.3 %였다. 평균 Mean Quality Score는 34.2 이었다.

세포소기관 (색소체 및 미토콘드리아) 유전체 조립에는 NOVOPlasty v.4.3.1.을 사용하였다. 비단풀 (*C. kondoi*) 35개체, 깃꿀비단풀 (*C. japonicum*) 22개체에 대하여 Organelle Genomes (ptDNA, mtDNA)을 완성하였다 (Tables 13-14, Figs 15-18). 비단풀 (*C. kondoi*) 색소체 유전체 (ptDNA)의 길이는 약 171,870 ~ 171,958 bp로 Coding Sequence (CDS)는 200개, rRNA 3개, tRNA 28개를 포함한다 (Table 15). 깃꿀비단풀 (*C. japonicum*) 색소체 유전체 (ptDNA)의 길이는 약 171,634 ~ 171,687 bp로 Coding Sequence (CDS)는 199개, rRNA 3개, tRNA 28개를 포함한다 (Table 16). 비단풀의 미토콘드리아 유전체 (mtDNA)의 길이는 약 31,423 ~ 31,429 bp로 CDS 28개, rRNA 2개, tRNA 26개를 포함한다 (Table 17). 깃꿀비단풀의 미토콘드리아 유전체의 길이는 약 26,746 ~ 28,285 bp로 CDS 27개, rRNA 2개, tRNA 27개를 포함한다 (Table 18).

세포소기관 (색소체 및 미토콘드리아) 유전체 비교를 통해 진화과정에서 일어난 변화를 관찰하고자 Geneious Prime 2020.1.1.의 MAUVE alignment를 수행했다 (Figs 19-22). 비단풀 (*C. kondoi*)과 깃꿀비단풀 (*C. japonicum*)의 색소체 유전체는 전체가 하나의 블록으로 묶였다 (Figs 19-20). 반면 미토콘드리아 유전체를 다중 정렬한 결과, 유전자 중복 (duplication) 및 재배열 (rearrangement)을 보여준다 (Figs 21-22). 비단풀

에서 중복을 보이는 유전자는 7개 CDS (cob, cox1, cox2, cox3, rpl16, rps3, ymf39) 3개 tRNA (trnL, trnQ, trnG)이다. '깃꼴비단풀에서 중복을 보이는 유전자는 4개 CDS (cob, cox2, cox3, ymf39) 3개 tRNA (trnL, trnQ, trnG)이다.

완성한 ptDNA 및 mtDNA를 정렬하고자 MUSCLE Alignment를 수행하였다. 정렬 결과에 대하여 Single Nucleotide Polymorphism (SNP)의 수를 나타내는 distance matrix를 만들었다(Figs 23-26). 비단풀 (*C. kondoi*)의 ptDNA에서 개체군간 차이를 보인 곳은 남해-서해, 남해-남서해 개체군이었으며, 서해 개체군의 경우 개체군내 변이 또한 높았다 (Fig. 23). 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*)의 색소체 유전체에서는 모든 지역에 대하여 SNP 수가 395 ~ 453으로 개체군간 차이가 크게 나타났으며, 남해 개체군의 경우 개체군내 변이 또한 높았다 (Fig. 24). 비단풀 (*C. kondoi*)의 미토콘드리아 유전체 역시 색소체 유전체와 동일한 양상을 보였다. 개체군간 차이를 보인 곳은 남해-서해, 남해-남서해 개체군이었으며, 서해 개체군의 경우 개체군내 변이 또한 높았다 (Fig. 25). 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*)의 미토콘드리아 유전체 내에서는 모든 지역에 대하여 개체군간 차이가 크게 나타났다. 특히 동해-서해, 동해-남해 개체군의 경우 SNP 수가 2,017 ~ 2,156으로 개체군간 차이가 남해-서해(633 ~ 681)보다 크게 나타났다. 남해 개체군의 경우 개체군내 변이 또한 높았다 (Fig. 26).

비단풀 색소체 유전체에서는 ycf65와 groEL 사이의 orf156에서 길이 12 bp (AAACAAAACAAT, AAACAAATCAAT)의 short tandem repeat (STR)이 나타났다. 이러한 repeat은 위도별 차이를 보였다. 서해 고위도로 갈수록 repeat 횟수가 2 ~ 9까지 늘어나는 경향을 보였다. 반면 남해 개체군에서는 1번의 반복만 보였다 (Fig. 27).

Table 11. Summary of Next Generation Sequencing (NGS) results of *Ceramium kondoi*.

No.	Population	Region	Sample ID	Haplotypes	Read-pairs	Yield (bases)	Over_Q30- Bases (%)	Mean-Quality- Score
West								
1	West	I.O	CK2106DCD.004	c21	50,942,939	15,282,881,700	87.55	34.50
2		TA	CK2105MED.002	c30	49,988,059	14,996,417,700	87.95	34.55
3			CK2105MED.003	c1	41,627,450	12,488,235,000	84.80	33.90
4			CK2104HAP.007	c14	49,138,993	14,741,697,900	85.75	34.05
5			CK2104HAP.008	c15	39,190,902	11,757,270,600	84.50	33.80
6			CK2001UHR.001	c1	39,849,537	12,034,560,174	90.11	35.33
7			CK2005UHR.001	c1	44,451,801	13,335,540,300	84.85	33.90
8			CK2005UHR.002	c1	43,999,918	13,199,975,400	85.30	33.95
9		BR	CK2105MCP.002	c31	43,526,540	13,057,962,000	84.30	33.75
10			CK2105MCP.004	c32	50,368,282	15,110,484,600	84.25	33.70
11		BA	CK2104CSG.001	c4	51,043,773	15,313,131,900	84.25	33.75
12			CK2104CSG.002	c3	57,812,658	17,343,797,400	83.90	33.65
13			CK2104CSG.011	c3	50,160,417	15,048,125,100	84.35	33.75
14		SA	CK2003BSR.004	c20	49,259,484	14,777,845,200	84.05	33.70
15			CK2006BSR.001	c20	45,448,150	13,634,445,000	85.20	33.95
16			CK2006BSR.002	c20	47,751,906	14,325,571,800	85.75	34.05
South-West								
17	South-West	HN	CK2003NSR.008	c7	40,062,871	12,018,861,300	84.95	33.90
18			CK2003NSR.010	c7	46,379,729	13,913,918,700	84.30	33.75
19			CK2102NSR.001	c5	46,745,306	14,023,591,800	85.85	34.10
20			CK2102NSR.002	c23	40,282,667	12,084,800,100	87.75	34.45
21			CK2102NSR.004	c24	52,373,593	15,712,077,900	85.60	34.00
22			CK2102NSR.006	c7	41,012,774	12,303,832,200	86.05	34.15
23			CK2102NSR.007	c25	48,556,485	14,566,945,500	85.85	34.10
24			CK2102NSR.008	c26	38,517,133	11,555,139,900	87.05	34.30
25			CK2102NSR.011	c27	49,801,871	14,940,561,300	85.55	34.05
26		GH	CK2105NDH.001	c33	46,046,146	13,813,843,800	84.90	33.85
South								
27	South	YS	CK2104MSR.002	c22	63,312,111	18,993,633,300	85.15	33.95
28			CK2104JPR.004	c6	45,764,632	13,729,389,600	86.75	34.30
29		SC	CK2104DBD.003	c9	49,538,518	14,861,555,400	84.90	33.90
30			CK2104DBD.004	c13	78,360,555	23,508,166,500	84.70	33.85
31		TY	CK2012SHD.001	c9	43,736,821	13,121,046,300	84.70	33.80
32			CK2102SHD.002	c18	47,160,891	14,148,267,300	84.75	33.85
33			CK2102SHD.003	c9	46,686,839	14,006,051,700	84.70	33.85
34			CK2102SHD.004	c9	62,977,439	18,893,231,700	84.65	33.80
35			CK2102SHD.005	c9	51,275,376	15,382,612,800	84.20	33.70
Average:						14,515,013,396	85.41	34.00

Table 12. Summary of Next Generation Sequencing (NGS) results of *Ceramium japonicum*.

No.	Population	Region	Sample ID	Haplotypes	Read pairs	Yield (bases)	Over Q30 Bases(%)	Mean Quality Score
West								
1	West	TA	CJ2105MED.002	c20	46,154,039	13,846,211,700	86.70	34.30
2			CJ2003UHR.015	c20	34,445,003	10,402,390,906	88.95	35.10
3			CJ2104UHR.004	cn11	47,249,446	14,174,833,800	87.05	34.35
4		CJ2106SOR.003	cn26	48,031,994	14,409,598,200	86.75	34.30	
5		CJ2106SOR.010	cn28	49,820,627	14,946,188,100	87.35	34.45	
6		BR	CJ2105MCP.002	cn21	48,694,634	14,608,390,200	88.35	34.65
7			CJ2105MCP.003	cn9	44,305,179	13,291,553,700	87.70	34.45
8		BA	CJ2104CSG.001	c20	48,663,232	14,598,969,600	87.80	34.50
9		SA	CJ2106GMR.001	cn27	48,114,821	14,434,446,300	88.50	34.65
South								
10	South	HN	CJ2003NSR.035	c1	43,600,942	13,080,282,600	87.80	34.50
11		CD	CJ2004CDR.003	cn12	44,439,605	13,331,881,500	87.30	34.40
12			CJ2105CDR.002	cn24	48,028,316	14,408,494,800	87.35	34.40
13			CJ2105CDR.007	cn15	41,528,366	12,458,509,800	86.25	34.20
14			CJ2105CDR.008	cn25	52,264,600	15,679,380,000	87.55	34.45
15			CJ2105CDR.009	cn15	49,477,700	14,843,310,000	87.00	34.35
16			CJ2105CDR.010	cn20	51,750,166	15,525,049,800	87.60	34.50
17		YS	CJ2004JSR.002	cn13	47,351,201	14,205,360,300	88.10	34.55
18			CJ2104JSR.009	cn5	48,923,438	14,677,031,400	88.10	34.60
East								
19	East	BS	CJ2103YD.001	cn23	50,928,867	15,278,660,100	87.55	34.45
20			CJ2104YD.001	c16	50,185,363	15,055,608,900	87.60	34.50
21		GJ	CJ2101GPR.001	c16	48,853,600	14,656,080,000	89.15	34.80
22			CJ2101GPR.006	c14	46,595,991	13,978,797,300	87.90	34.55
Average:						14,176,864,955	87.65	34.50

Table 13. Assembled organelle genomes (ptDNA, mtDNA) statistics in *Ceramium kondoi*.

No.	Population	Region	Sample ID	Haplotypes	Total Length (bp)		Average Coverage (X)	
					Plastid	Mitochondria	Plastid	Mitochondria
West								
1	West	IO	CK2106DCD.004	c21	171,876	31,425	3,363.02	7,081.10
2		TA	CK2105MED.002	c30	171,892	31,425	7,259.67	6,065.44
3			CK2105MED.003	c1	171,886	31,425	3,931.07	2,547.65
4			CK2104HAP.007	c14	171,886	31,425	2,545.05	3,086.49
5			CK2104HAP.008	c15	171,910	31,425	4,854.86	2,233.61
6			CK2001UHR.001	c1	171,910	31,425	9,997.43	5,410.72
7			CK2005UHR.001	c1	171,919	31,425	5,605.98	4,490.37
8			CK2005UHR.002	c1	171,919	31,425	10,756.81	6,720.27
9		BR	CK2105MCP.002	c31	171,898	31,429	1,917.78	1,483.25
10			CK2105MCP.004	c32	171,922	31,428	2,112.01	1,754.58
11		BA	CK2104CSG.001	c4	171,958	31,425	4,061.27	2,817.27
12			CK2104CSG.002	c3	171,910	31,425	3,234.01	5,529.47
13			CK2104CSG.011	c3	171,898	31,423	2,701.80	3,215.21
14		SA	CK2003BSR.004	c20	171,880	31,425	8,873.01	4,092.56
15			CK2006BSR.001	c20	171,880	31,425	5,982.98	3,660.39
16			CK2006BSR.002	c20	171,880	31,425	7,625.30	3,550.51
South-West								
17	South-West	HN	CK2003NSR.008	c7	171,880	31,423	3,275.33	3,411.95
18			CK2003NSR.010	c7	171,880	31,424	4,294.96	4,877.18
19			CK2102NSR.001	c5	171,880	31,424	5,078.42	2,716.90
20			CK2102NSR.002	c23	171,880	31,424	9,511.36	3,662.48
21			CK2102NSR.004	c24	171,904	31,424	5,737.96	4,980.47
22			CK2102NSR.006	c7	171,880	31,424	6,759.53	3,302.72
23			CK2102NSR.007	c25	171,881	31,425	5,551.83	2,530.85
24			CK2102NSR.008	c26	171,881	31,424	5,529.42	2,526.49
25			CK2102NSR.011	c27	171,880	31,424	8,554.13	3,088.69
26		GH	CK2105NDH.001	c33	171,880	31,425	2,090.31	1,651.99
South								
27	South	YS	CK2104MSR.002	c22	171,870	31,426	5,158.34	5,042.72
28			CK2104JPR.004	c6	171,870	31,426	10,038.06	6,088.37
29		SC	CK2104DBD.003	c9	171,877	31,426	2,734.50	2,416.01
30			CK2104DBD.004	c13	171,896	31,428	4,202.49	3,666.86
31		TY	CK2012SHD.001	c9	171,859	31,428	3,111.47	4,519.23
32			CK2102SHD.002	c18	171,877	31,428	5,898.91	5,198.57
33			CK2102SHD.003	c9	171,870	31,428	3,818.43	3,676.25
34			CK2102SHD.004	c9	171,877	31,428	6,065.22	6,047.34
35			CK2102SHD.005	c9	171,877	31,428	5,712.58	4,952.62
Average:					171,889	31,425	5,369.87	3,945.62

Table 14. Assembled organelle genomes (ptDNA, mtDNA) statistics in *Ceramium japonicum*.

No.	Population	Region	Sample ID	Haplotypes	Total Length (bp)		Average Coverage (bp)		
					Plastid	Mitochondria	Plastid	Mitochondria	
West									
1	West	TA	CJ2105MED.002	c20	171,669	28,280	3,844.77	1,628.28	
2			CJ2003UHR.015	c20	171,669	28,278	5,625.24	1,883.37	
3			CJ2104UHR.004	cn11	171,669	28,280	6,048.98	1,413.46	
4		BR	CJ2106SOR.003	cn26	171,669	28,277	3,232.41	2,736.83	
5			CJ2106SOR.010	cn28	171,669	28,279	4,137.86	5,482.46	
6			CJ2105MCP.002	cn21	171,669	28,278	2,851.87	1,714.31	
7			CJ2105MCP.003	cn9	171,669	28,278	4,215.15	1,953.92	
8			BA	CJ2104CSG.001	c20	171,669	28,279	317.81	410.92
9			SA	CJ2106GMR.001	cn27	171,669	28,280	4,762.19	5,790.23
South									
10	South	HN	CJ2003NSR.035	c1	171,680	27,749	5,027.50	6,351.24	
11		CD	CJ2004CDR.003	cn12	171,680	28,285	9,701.61	5,621.08	
12			CJ2105CDR.002	cn20	171,687	28,284	2,889.97	2,307.57	
13			CJ2105CDR.007	cn24	171,680	28,284	10,817.88	8,190.94	
14			CJ2105CDR.008	cn15	171,687	28,284	3,781.07	6,244.88	
15			CJ2105CDR.009	cn25	171,680	28,284	4,356.64	3,030.92	
16			CJ2105CDR.010	cn15	171,687	28,284	3,411.44	2,677.89	
17		YS	CJ2004JSR.002	cn13	171,680	28,283	9,904.94	6,113.94	
18			CJ2104JSR.009	cn5	171,680	28,283	4,506.31	1,373.53	
East Sea									
19		East Sea	BS	CJ2103YD.001	c16	171,648	26,752	6,588.98	1,630.37
20				CJ2104YD.001	c16	171,648	26,752	4,305.77	804.49
21			GJ	CJ2101GPR.001	c14	171,648	26,753	8,638.03	8,256.65
22				CJ2101GPR.006	cn29	171,634	26,746	6,995.04	2,766.50
Average:					171,670	27,979	5,270.98	3,562.90	

Table 15. Gene contents of ptDNA in *Ceramium kondoi*.

[illegible]

Table 17. Gene contents of mtDNA *Ceramium kondoi*.

[illegible]

Table 18. Gene contents of mtDNA *Ceramium japonicum*.

No.	Type	Product	Gene	Sample ID	Population																					
					W		BR				BA		S		CD		VB		E							
					Region		Region				Region		Region		Region		Region		Region							
					Haplotype		Haplotype				Haplotype		Haplotype		Haplotype		Haplotype		Haplotype							
				Length	c20	cn11	cn26	cn28	cn11	cn9	c20	cn27	c1	cn12	cn20	cn24	cn15	cn25	cn15	cn13	cn5	cn23	c16	c16	c16	
1	cyb	ATP synthase F0 subunit 6	atp6	755	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2		ATP synthase F0 subunit 8	atp8	358	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3		ATP synthase F0 subunit 9	atp9	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4		Acetoacetylase b	aatb-1	1,127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5			aatb-2	1,135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6		Cytochrome c oxidase subunit 1	cox1	1,596	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7		Cytochrome c oxidase subunit 2	cox2	823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8			cox2-1	823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9			cox2-2	823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10		Cytochrome c oxidase subunit 3	cox3	823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11		NADH dehydrogenase subunit 1	nad1	966	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12		NADH dehydrogenase subunit 2	nad2	1,455	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13		NADH dehydrogenase subunit 3	nad3	1,366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14		NADH dehydrogenase subunit 4	nad4	1,455	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15		NADH dehydrogenase subunit 4L	nad4L	309	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16		NADH dehydrogenase subunit 5	nad5	1,926	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17		NADH dehydrogenase subunit 6	nad6	613	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18		Ribosomal protein L16	rpl16	485	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19		Ribosomal protein L3	rpl3	604	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20		Ribosomal protein L11	rpl11	548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21		Ribosomal protein L12	rpl12	460	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22		Succinate cytochrome c oxidoreductase subunit 2	sdh2	1,366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23		ATP synthase F1 chain component	atp6-1	1,135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24			atp6-2	1,135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25		Hexameric protein CTS	hcf135	408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26			hcf135	408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27			hcf135	408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	rDNA	Large subunit ribosomal RNA	rnl	2,379	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	rDNA	Small subunit ribosomal RNA	rns	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30		rRNA A1a	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31		rRNA A1b	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32		rRNA A1c	rnaA (TTC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33		rRNA A1d	rnaA (TTC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34		rRNA A1e	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35		rRNA A1f	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36		rRNA A1g	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37		rRNA A1h	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38		rRNA A1i	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39		rRNA A1j	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40		rRNA A1k	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41		rRNA A1l	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42		rRNA A1m	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43		rRNA A1n	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44		rRNA A1o	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45		rRNA A1p	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46		rRNA A1q	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47		rRNA A1r	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48		rRNA A1s	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49		rRNA A1t	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50		rRNA A1u	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51		rRNA A1v	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52		rRNA A1w	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53		rRNA A1x	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54		rRNA A1y	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55		rRNA A1z	rnaA (TGC)	1,735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

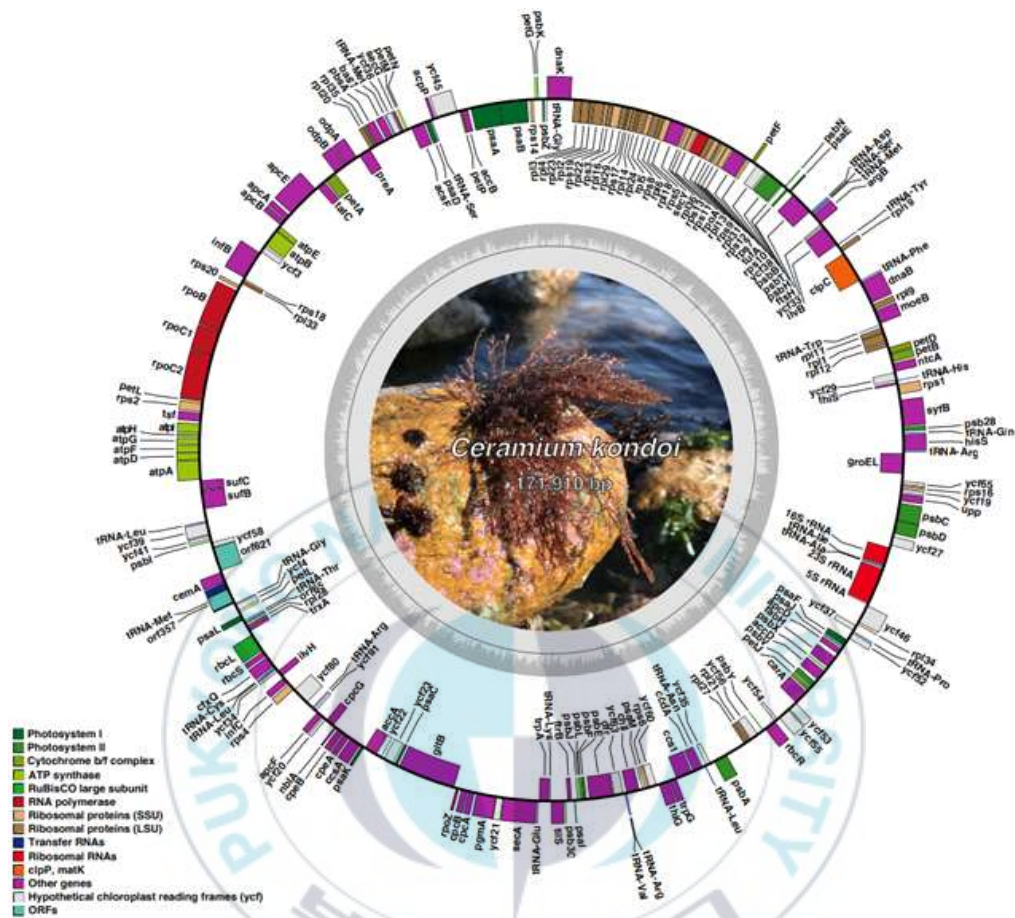


Fig. 15. Complete plastid genome (ptDNA) map of *Ceramium kondoi*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

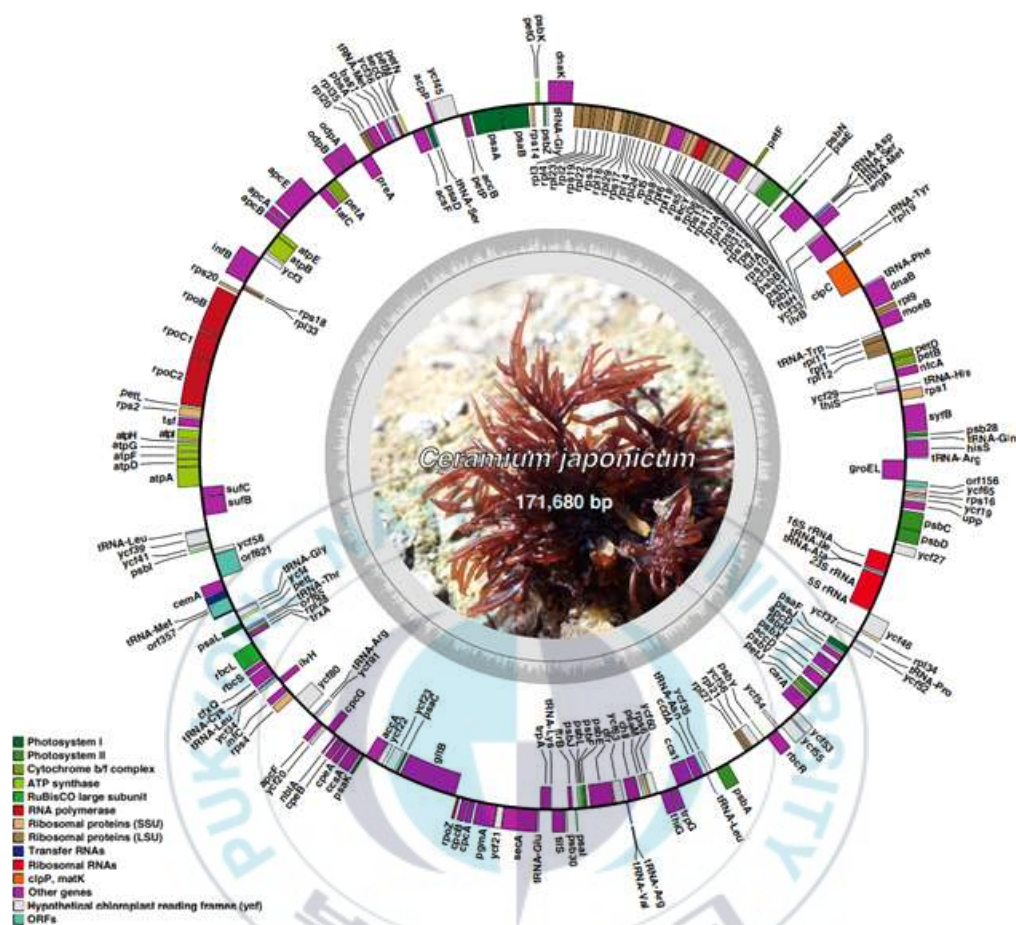


Fig. 16. Complete plastid genome (ptDNA) map of *Ceramium japonicum*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

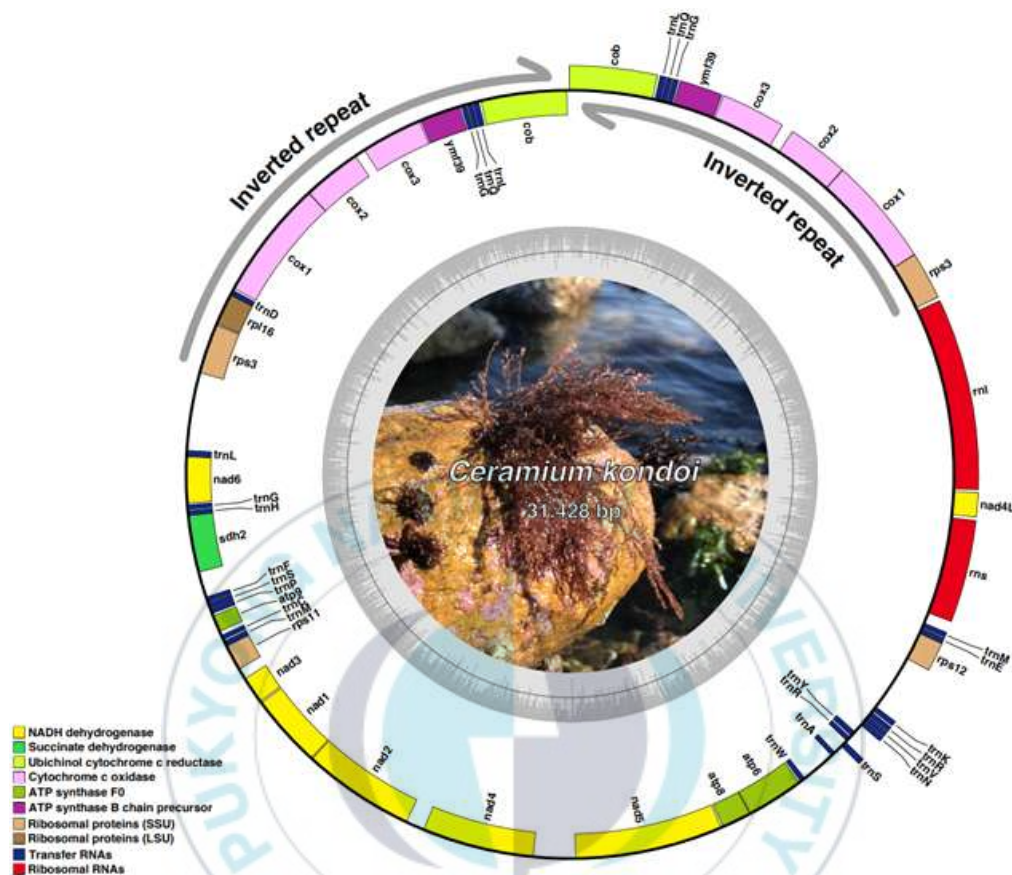


Fig. 17. Complete mitochondria genome (mtDNA) map of *Ceramium kondoi*. The genes inside and outside are transcribed in a clockwise and counterclockwise directions, respectively. The genes are color coded according to the functional categories listed in the index below the map.

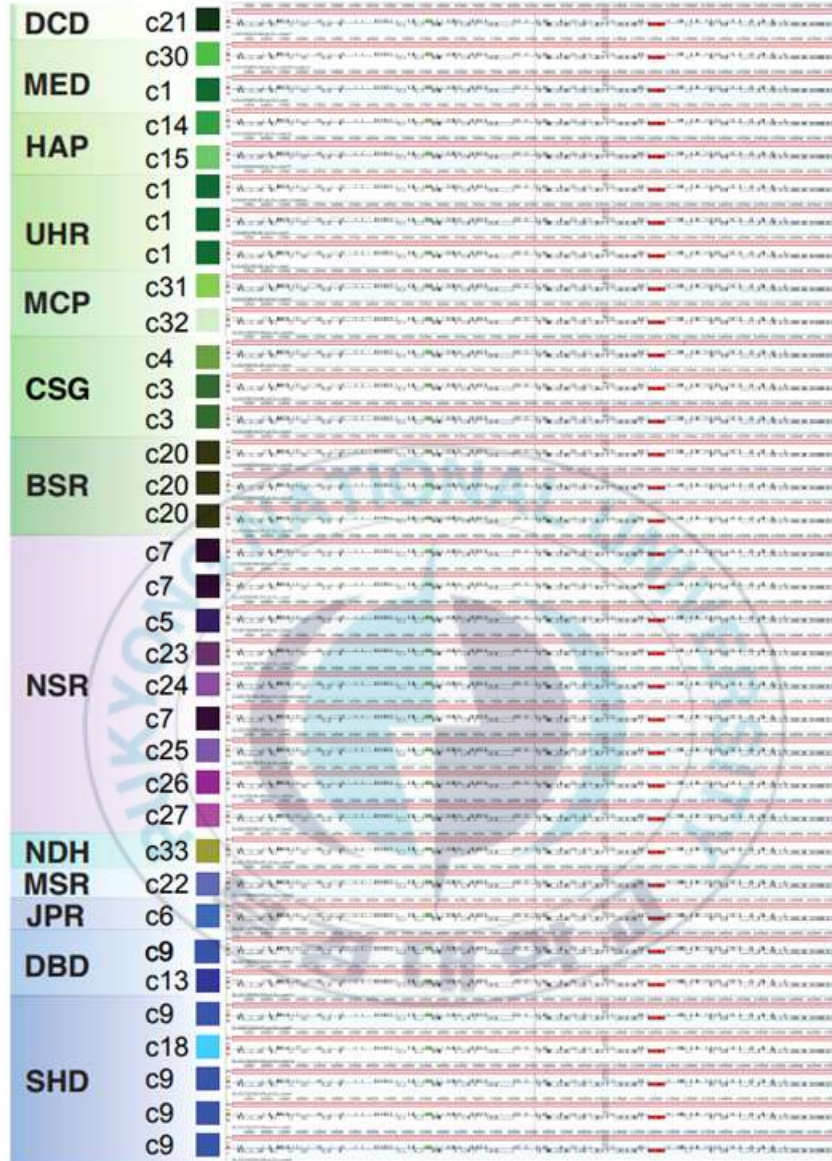


Fig. 19. Plastid genome alignment in *Ceramium kondoi* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

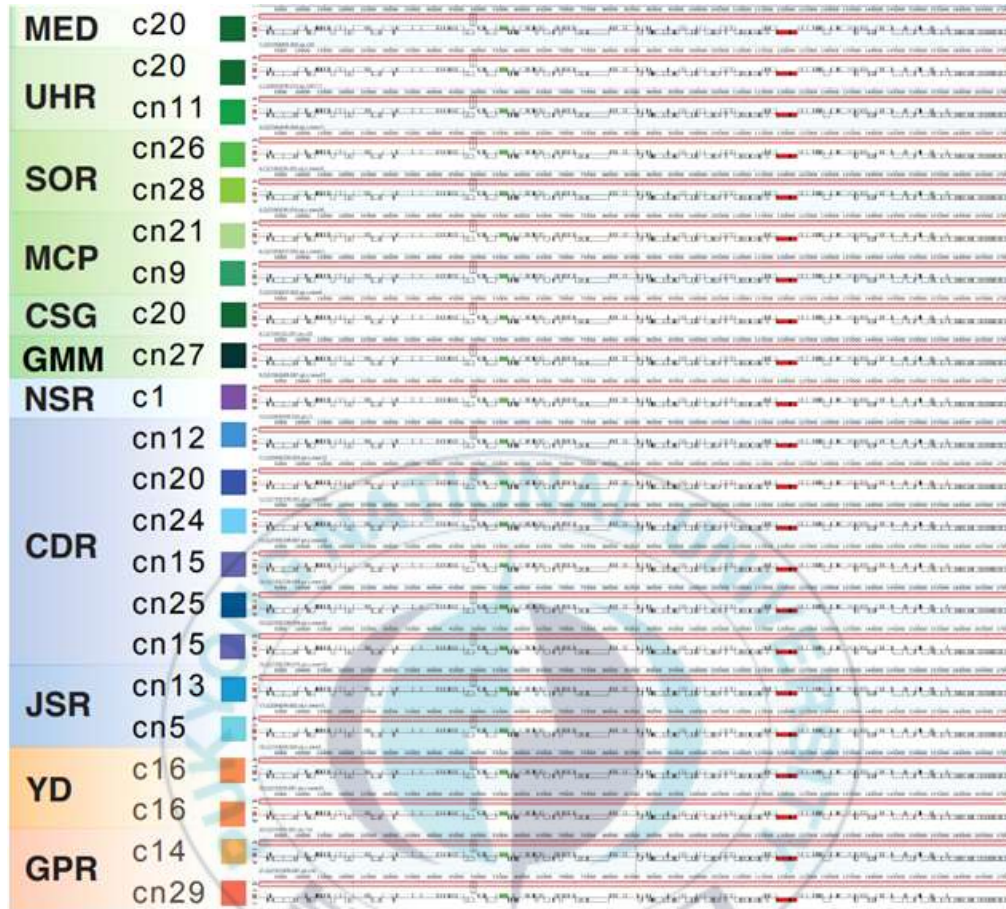


Fig. 20. Plastid genome alignment in *Ceramium japonicum* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

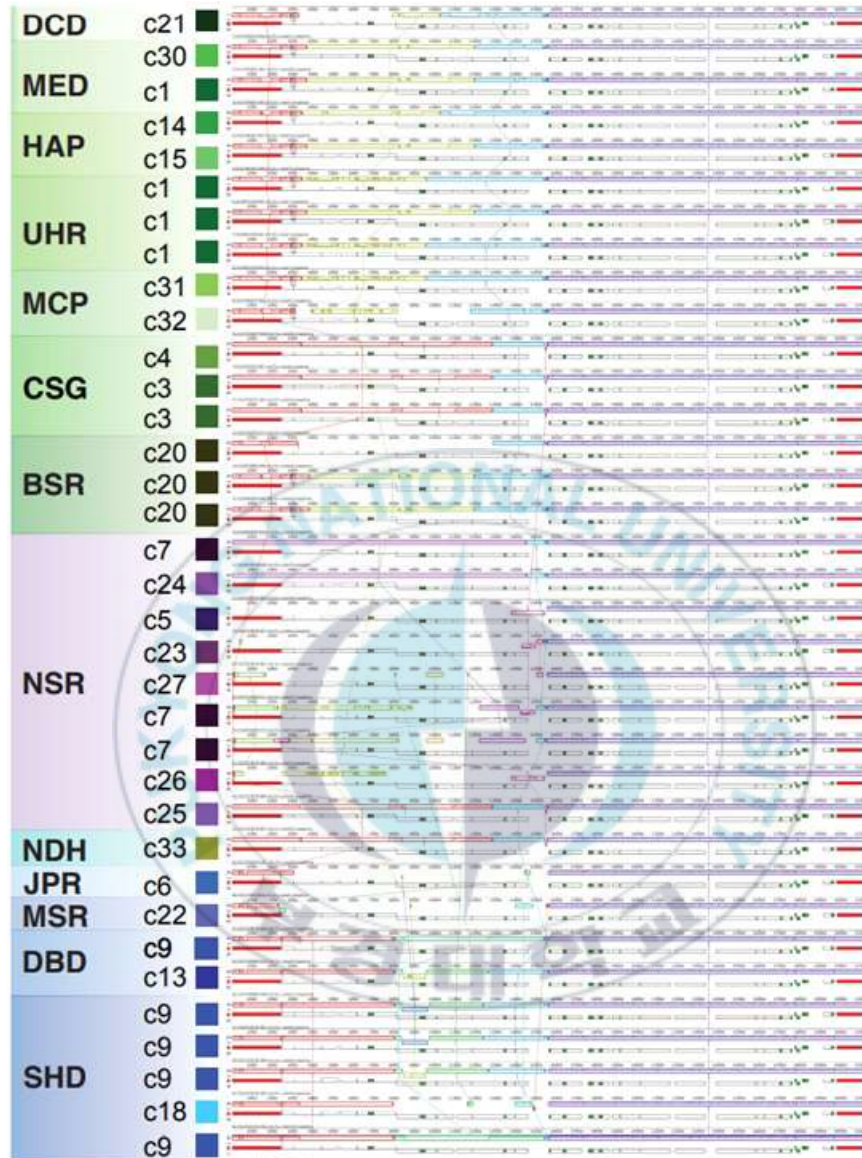


Fig. 21. Mitochondria genome alignment in *Ceramium kondoi* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

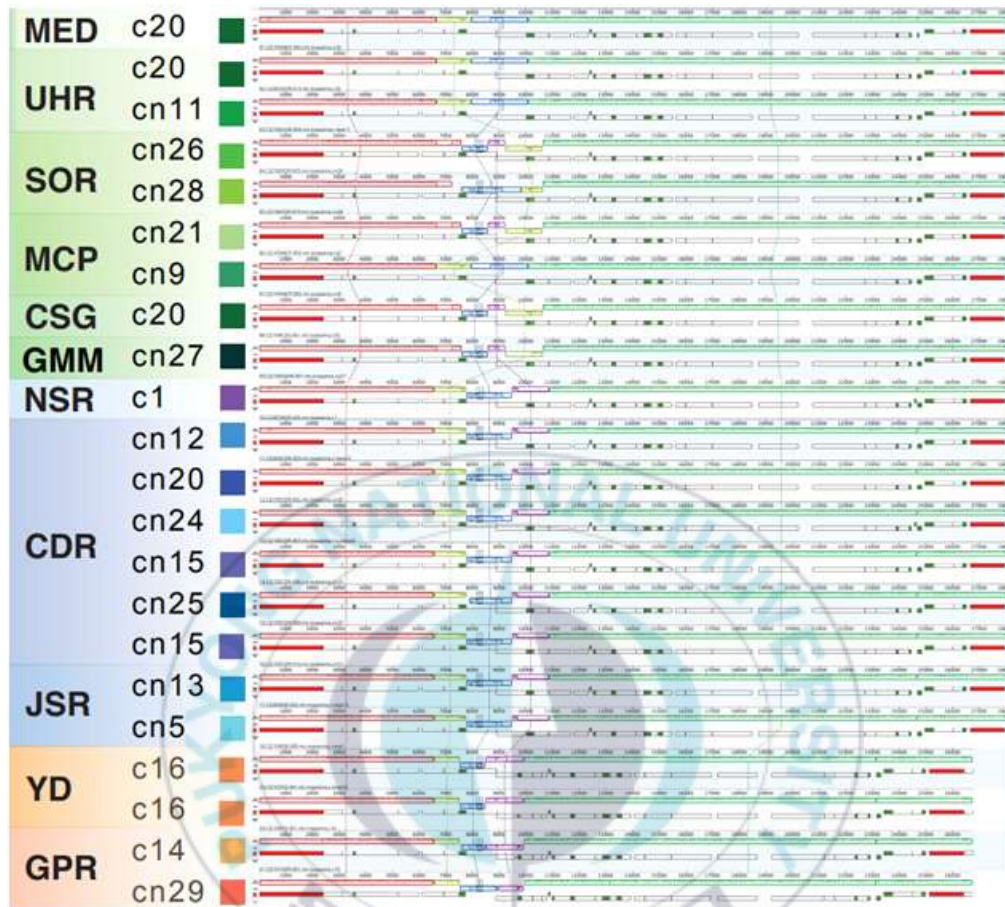


Fig. 22. Mitochondria genome alignment in *Ceramium japonicum* populations. Progressive MAUVE identifies stretches of nucleotide matches and selects locally collinear blocks (LCB) that meet a minimum weight criterion. Homologous LCBs between genomes are connected with a line and identified by the same color.

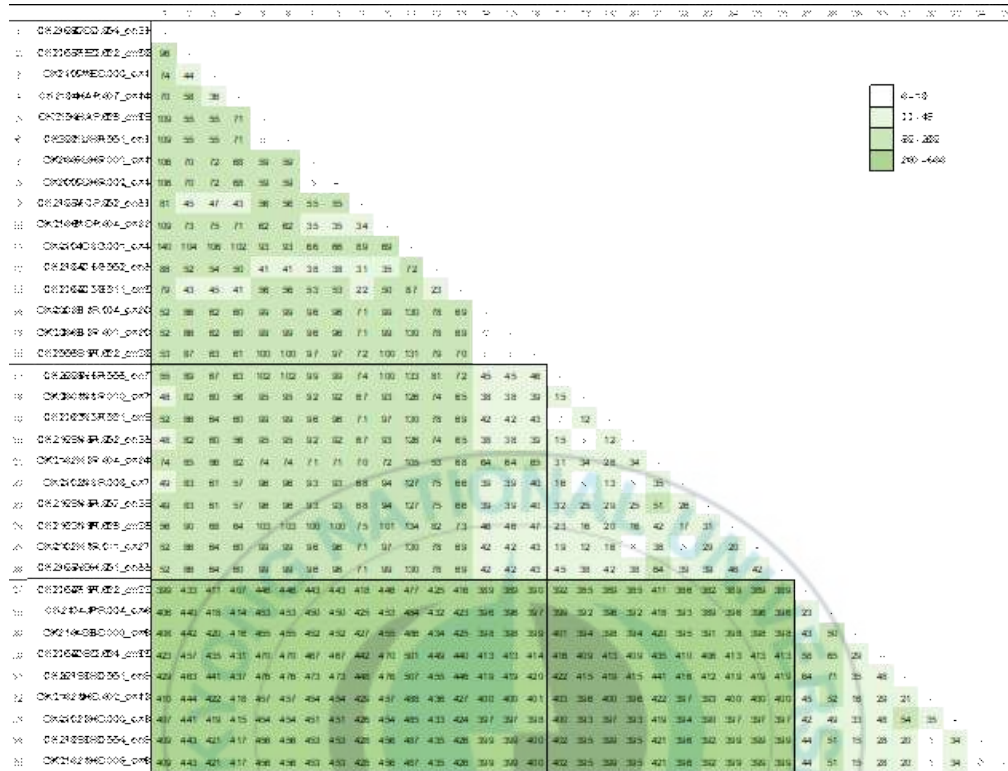


Fig. 23. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among plastid genomes of *Ceramium kondoi*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

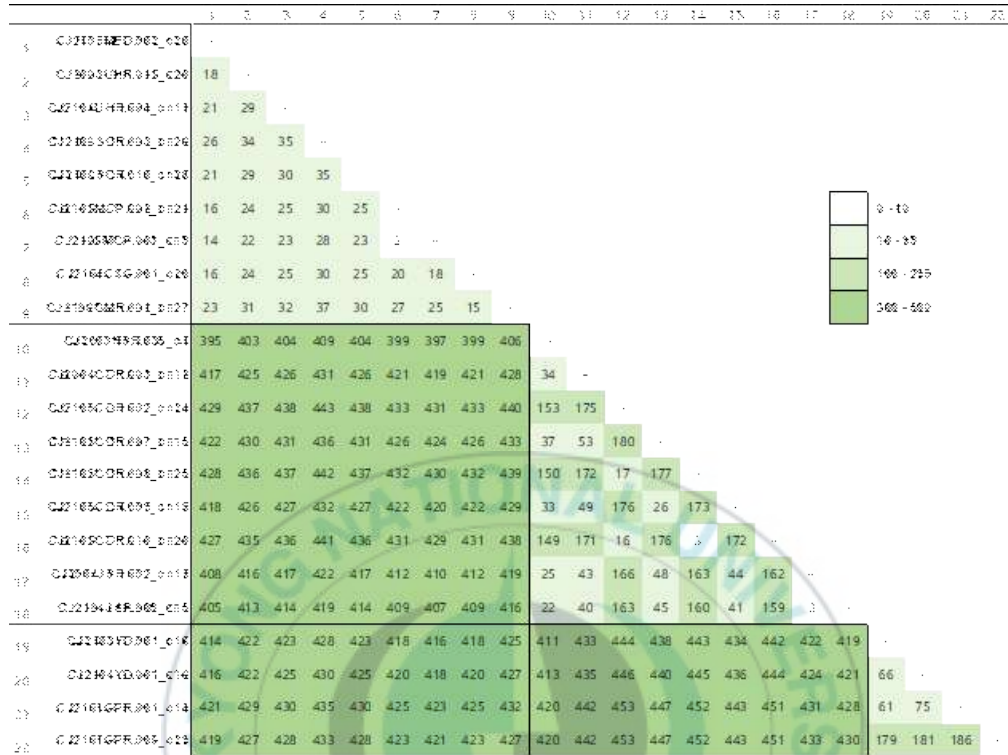


Fig. 24. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among plastid genomes of *Ceramium japonicum*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

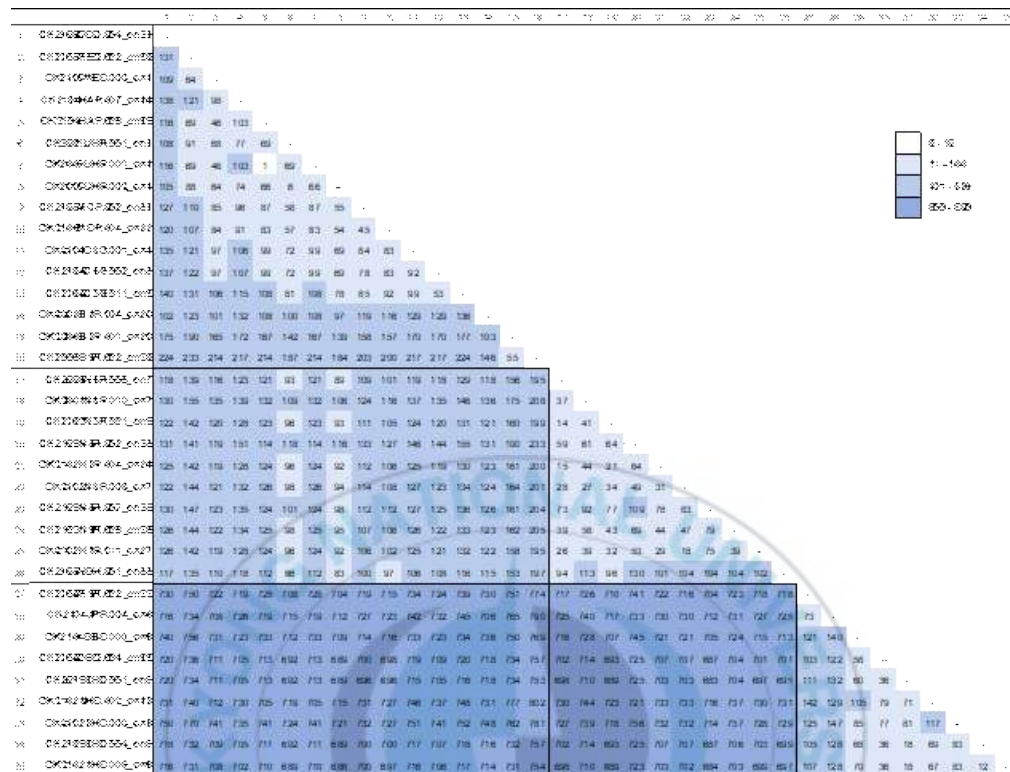


Fig. 25. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among mitochondria genomes of *Ceramium kondoi*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

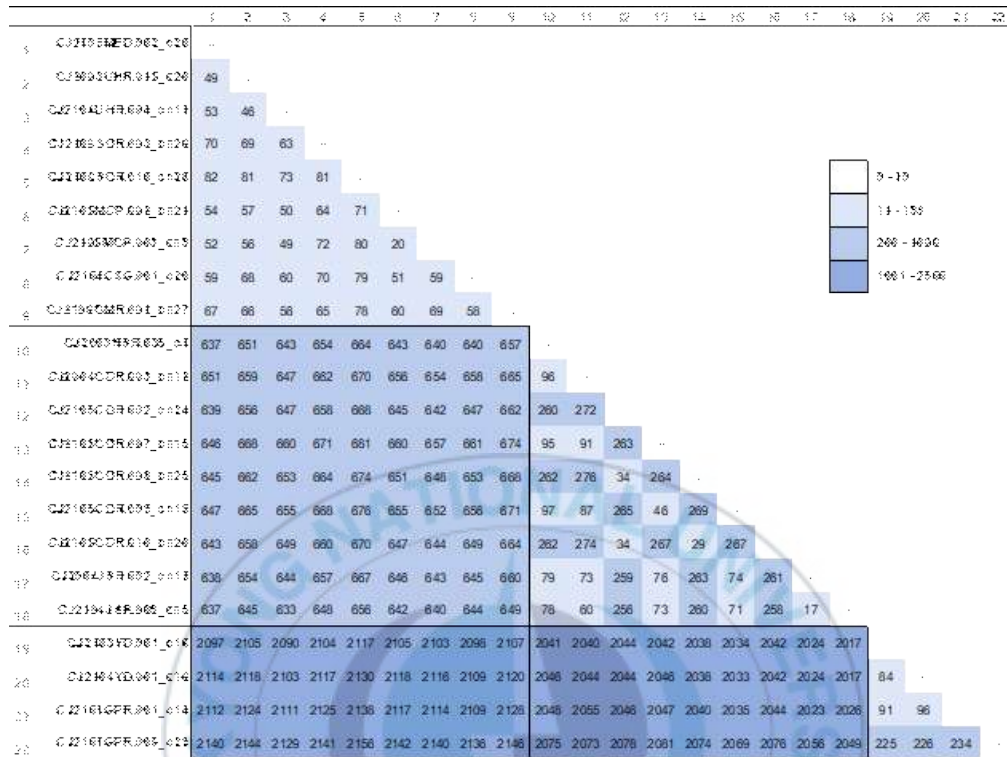


Fig. 26. Pairwise single nucleotide polymorphism (SNP) distance among mitochondria genomes of *Ceramium japonicum*. The color gradation represents the number of SNPs between taxa.

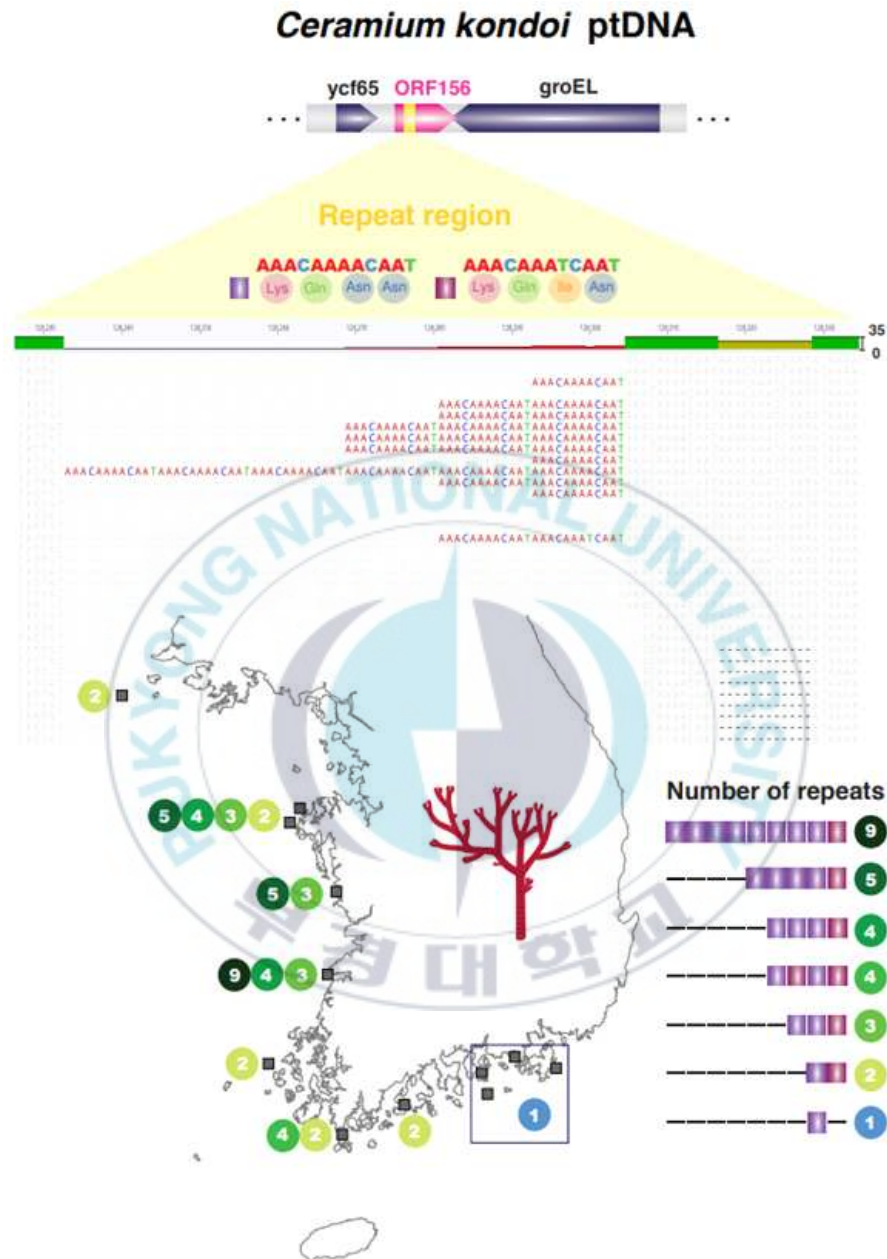


Fig. 27. Repeat region map of the ptDNA orf156 of *Ceramium kondoi*. The different number of repeat unit (12 bp length sequence; four amino acids) were found in the West and South-West populations.

IV. 고찰

1. 개체군 분포 및 다양성

비단풀속 (*Ceramium*) 내 종에 대하여 계통 관계를 *cox1* 기반으로 분석한 결과, 비단풀(*Ceramium kondoi*)과 깃꼴비단풀 (*Ceramium japonicum*)은 계통적으로 가깝게 위치하나, 단계통을 지지하지는 않았다. 그러나 *rbcL*에 근거한 비단풀속 (*Ceramium*)내 계통수에서 비단풀 (*C. kondoi*)과 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*)은 단계통을 지지한다 (Hughey & Boo, 2016). 일반적으로 홍조류 분자계통에 사용 되는 DNA바코드는 색소체 *rbcL*이나, 미토콘드리아 *cox1*의 계통수 추정결과 역시 *rbcL*의 계통수 추정결과와 동일한 위상으로 나타나므로 (Kim & Lee 2011), 비단풀속 (*Ceramium*)의 식별에 사용 할 수 있다. 또한 본 연구에서 분석한 *cox1* 기반 계통수의 경우 7종으로, Hughey & Boo (2016)의 *rbcL* 기반 계통수 분석에 사용 된 종수에 비해 적다. 따라서 종 수가 추가 될 경우 *cox1* 계통수의 비단풀과 깃꼴비단풀의 단계통성이 지지될 가능성이 있다. 본 연구의 비단풀 (*C. kondoi*) *cox1* 계통수 결과는 이전 연구 (Yang et al. 2008)에서 보고한 Southern lineage를 세분화한다. 이전 연구에서는 색소체 RuBisCO에 근거하여 남방형 (Southern lineage)로 분류하였고 본 연구에서는 미토콘드리아 *cox1*에 기반하여 분류하였다. Southern lineage에 속하는 서해 haplotypes A, B, 남해 haplotypes C, E는 서해, 남서해 및 남해 3 개체군으로 나눌 수 있다. 뿐만 아니라 비단풀은 남서해 개체군에서 가장먼저 분기하였음을 밝혔다. 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*) *cox1* 계통수 결과는 이전

연구 (Yang et al. 2009)에서 알려진 3 개체군 (서해, 남해, 동해)과 동일하다. 갯꼰비단풀은 비단풀과는 다른 지리적 장벽을 가지지만 남해 및 남서해 지역에서 가장 먼저 분화 하였다는 점이 동일하다. 이러한 결과는 과거 마지막 최대 빙하기 (LGM) 당시 우리나라 남해안 지역이 생물들의 피난처 refugium이었을 것임을 시사한다.

cox1 haplotype 분석 결과 비단풀(*C. kondoi*)은 서해, 남-서해, 남해 개체군 haplotypes는 모두 독립적이었다. 남해 지역에 위치하는 고흥 (GH) 녹동항 (NDH) haplotype c33은 지리적으로는 남서해 개체군에 속하나 유전적으로는 서해 개체군에 포함된다. 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*) 역시 남해, 동해, 서해 개체군 haplotypes는 모두 독립적이었다. 비단풀 (*C. kondoi*)은 남-서해안에 위치한 해남에서 10개, 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*)은 남해안에 위치한 초도섬에서 8개로 가장 많은 haplotypes가 나타났다. 서해안 지역은 약 1만 5천년 전 마지막 최대 빙하기 (last glacial maximum : LGM) 때, 수심 100 m 미만의 해역으로 육지화 되면서 해안선이 남-서해 및 남해안 일대로 밀려 났다 (Rohling et al. 1998; Wang. 1999; Lambeck et al. 2002) 이후, 해수의 유입으로 다시 서해안에 집단이 형성되어, 서해안에 위치한 현재의 서해 개체군은 유전적 부동 (genetic drift)의 한 예인 창시자 효과 (founder effect)에 의해 감소된 유전적 다양성을 가지는 것으로 보이며, 창시자 효과로 인한 유전자풀의 변화로 남-서해 및 남해 개체군으로 나뉜 것으로 보인다. 이는 남해개체군과 서해개체군 사이의 거대 지리적 장벽이 있음을 시사한다.

STRUCTER 분석은 비단풀 (*C. kondoi*)에 대해 2 또는 5개의 개체군을 나타냈고, 갯꼰비단풀 (*C. japonicum*)에 대해 2개 또는 4개의 개체군을 나타냈다. 비단풀 (*C. kondoi*)의 STRUCTURE 분석 결과에 따르면 $K = 2$ 일 때는 남-서해와 서해 개체군이 하나의 개체군으로 묶였으나, $K = 3$ -

5에서는 남-서해, 남해, 서해 개체군으로 나뉘었다. $K = 4$, 5에서는 서해 개체군 내에 위도에 따라 분화하는 모습을 보였고, PCA 분석 결과에서도 Y축 0.020 좌표 근처로 우리나라 최북단에 위치한 대청도, 소청도 개체가 분포 하였다. 깃꼴비단풀 (*C. japonicum*)의 STRUCTURE 분석 결과에 따르면 $K = 2$ 일 때는 남해와 동해 개체군이 하나의 개체군으로 묶였으나, $K = 3, 4$ 에서는 남해, 동해, 서해 개체군으로 나뉘었다. $K = 4$ 에서는 남해 개체군 내에서 유전적 분화가 나타났으며, 특히 이 지역은 남해안에 위치한 초도섬이었다. 초도섬이 남해 개체군 중 가장 저위도 지역인 것을 고려하면 비단풀과 깃꼴비단풀 모두 위도에 따른 유전적 분화로 볼 수 있다.

색소체 *rbcL* 유전자를 기반으로 한 우리나라 남해안 및 동해안에 분포하는 홍조류 *Pachymeniopsis lancolata*와 *P. elliptica*의 haplotype 분포에 따르면 제주도와 남해안의 haplotype 중심으로 동해로 확장한 것을 밝혀냈다 (Yang & Kim 2021). 반면 *Grateloupia asiaica*와 *G. jejuensis* (Rhodophyta)의 한국 개체군 내 유전적 다양성의 핫스팟을 확인한 결과, 유전적 다양성이 낮고 유사한 지리적 분포를 보였다 (Yang & Kim 2021). Park & Takayama (2019)에 따르면 기수역에 분포하는 *Suaeda malacosperma* (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) 는 마지막 최대 빙하기 (LGM) 이후 지리적장벽으로 남해안과 서해안의 haplotype이 뚜렷한 차이를 보인다고 보고하였다.

2. 세포소기관 유전체 비교

홍조류 (Rhodophyta) 세포소기관 유전체 (ptDNA, mtDNA)에 관한 최근 연구는 같은 속 (Genus) 또는 과 (Family)를 대상으로 하여 연구되어 왔다. 돌김속 (Pyropia, Bangiales) 3종에 대한 ptDNA 보존성, mtDNA의 content 및 길이 차이 (Hughey et al. 2014). 빨간검둥이과 (Rhodomelaceae) 55개체에 대한 분류학적 재검토 (Díaz-Tapia et al. 2017). Gracilariaceae 10종에 대한 세포소기관 유전체 내의 플라스미드 유래 서열 (plasmid derived sequences, PDS) 삽입 (Iha et al. 2018). 본 연구에서는 홍조류 (Rhodophyta) 중 내 유전적 변이를 세포소기관 유전체를 사용하여 처음으로 분석하였다.

ptDNA는 진정홍조강 (Florideophyceae) 내에서 보존성이 매우 높은 것으로 알려져 있다 (Lee et al. 2016). 비단풀 개체군 내에서 content 차이는 없었으나 길이는 171,859 ~ 171,958로 99 bp 차이를 보였다. 그러나 본 연구에서는 지역 개체군 염기서열 (SNPs)의 차이를 보였다. 개체군 간 변이는 38 (서해와 남-서해 개체군) ~ 507 (서해와 남해 개체군) 이었다. 서해 개체군의 개체군 내 변이는 0 ~ 140 이었으며 가장 높은 변이를 보인 곳은 부안 채석장 (CSG)과 인천 대청도 (DCD) 개체였다. 또한 ycf65와 groEL 사이에 위치하는 orf156에서 보인 STR (12b)은 비단풀에서만 볼 수 있는 매우 특이한 결과이며 *C. japonicum*와 *C. sungminbooi*에서는 발견할 수 없었다. 갯풀비단풀 개체군 내에서 content 차이는 없었으나 길이는 171,634 ~ 171,687로 53 bp 차이를 보였다. 개체군 간 변이는 395 (남해와 서해 개체군) ~ 453 (남해와 동해 개체군) 이었다. 남해 개체군의 개체군 내 변이는 3 ~ 180 이었으며 가장 높은 변이를 보인 개체는 haplotype cn15와 cn24 였다. ptDNA 길이의 차이는 갯풀비단풀보다 비단풀이 더 크게 나타

났다.

진정홍조강 (Florideophyceae)의 mtDNA는 다세포 홍조류 중 보존도가 높은 것으로 알려져 있다 (Yang et al. 2015). 그러나 본 연구에서는 비단풀과 깃꼴비단풀 mtDNA에서 유전자 중복 (gene duplication)을 확인하였다 (Fig. 28). 비단풀 개체군 내에서 content 차이는 없었으나 길이는 31,423 ~ 31,429로 6 bp 차이를 보였다. 개체군간 염기서열 (SNPs)변이는 83 (서해와 남서해 개체군) ~ 802 (서해와 남해 개체군) 이었다. 서해 개체군의 개체군 내 변이는 1 ~ 233 이었으며 가장 높은 변이를 보인 곳은 태안 민어도 (MED)와 신안 백산리 (BSR) 개체였다. 깃꼴비단풀 개체군 내에서 content 차이는 없었으나 길이는 26,746 ~ 28,285로 1,539 bp 차이를 보였다. 개체군간 염기서열 (SNPs) 변이는 633 (서해와 남서해 개체군) ~ 2,156 (서해와 동해 개체군) 이었다. 남해 개체군의 개체군 내 변이는 17 ~ 276 이었으며 가장 높은 변이를 보인 개체는 ptDNA 결과와 동일한 haplotype cn15와 cn24 였다.

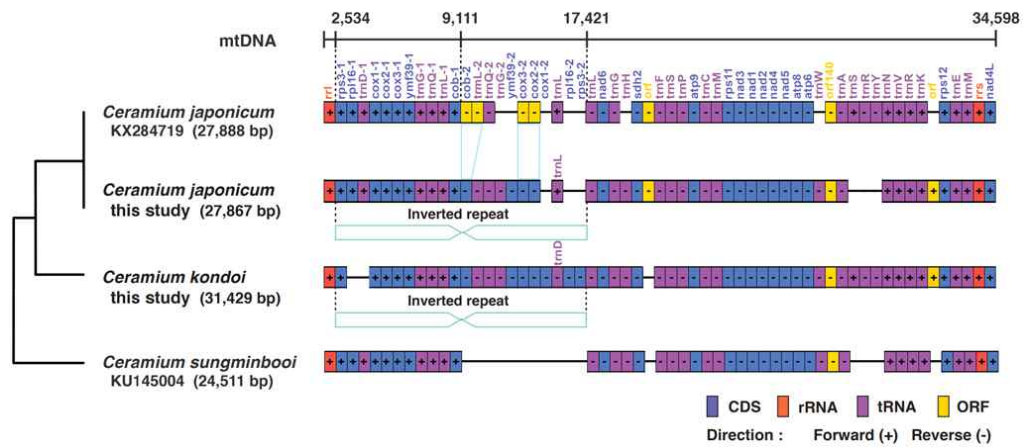


Fig. 28. Mitochondria genome comparison of three species in the *Ceramium* species. *Ceramium kondoi* and *C. japonicum* have inverted gene duplication.

V. 요약

비단풀속 (*Ceramium* Roth 1797)은 약 1.2억 년 전 출현하였으며 전세계 210종이 알려져 있다. 현재 우리나라의 비단풀속은 15종이 알려져 있다. 비단풀 (*Ceramium kondoi*)과 깃꼴비단풀 (*C. kondoi*)은 우리나라 전 연안 조간대에 분포하며 최근연종이다. 다수의 비단풀속 종은 북서태평양, 북태평양 및 북동대서양에 동시에 분포하고 있어 해양생물지리 연구대상으로 잘 알려져 있다. 본 연구에서는 첫째, 미토콘드리아 *cox1* 분석을 통해 haplotype 분포 및 다양성을 파악하였다. 둘째, 비단풀속 종들 중 처음으로 미토콘드리아 유전체를 완성하였다. 마지막으로 세포소기관 유전체 (ptDNA, mtDNA) 분석을 통해 지역 집단간 개체군을 비교하였다.

2019년 9월부터 2021년 6월까지 우리나라 서해 (인천, 태안, 보령, 부안, 신안) 및 남해 (해남, 고흥, 여수, 사천, 통영) 17개 지점에 분포하는 비단풀 총 252개체를 채집하였다. 186개체에 대하여 *cox1* 분석을 수행하여 서해 18개, 남-서해 10개, 남해 9개 총 37개의 haplotypes를 정의하였다. 186개체에 대한 *cox1* 계통수 결과 남-서해 개체군에서 가장 먼저 분화가 일어났다. 동일한 시기 서해 (태안, 보령, 부안, 신안), 남해 (해남, 여수) 및 동해 (부산, 울산, 경주, 포항, 울진) 16개 지점에 분포하는 깃꼴비단풀 총 309개체를 채집하였다. 220개체에 대하여 *cox1* 분석을 수행하여 서해 10개, 남해 14개, 동해 6개 총 30개의 haplotypes를 정의하였다.

비단풀 35개체에 대하여 개체당 평균 14.5 Gb 데이터를 생산하여 세포소기관 유전체를 완성하였다. ptDNA는 약 171.8 Kb로 Coding Sequence (CDS)는 200개, rRNA 3개, tRNA 28개를 포함했다. mtDNA는 약 31.4 Kb로 CDS 28개, rRNA 2개, tRNA 26개를 포함했다. 깃꼴비단풀 22개체에

대하여 개체당 평균 14.1 Gb 데이터를 생산하여 세포소기관 유전체를 완성하였다. ptDNA는 약 171.6 Kb로 Coding Sequence (CDS)는 199개, rRNA 3개, tRNA 28개를 포함했다. mtDNA는 약 27.9 Kb로 CDS 27개, rRNA 2개, tRNA 27개를 포함했다.

비단풀 mtDNA에서 개체군 간 변이를 보인 곳은 서해와 남해, 남해와 남-서해 개체군 이었다. 서해 개체군의 경우 개체군 내 변이 또한 높았다. 깃꼴비단풀 세포소기관 유전체에서는 모든 개체군에서 개체군 간 변이가 높았으며 남해개체군의 경우 개체군 내 변이 또한 높았다. 서해 및 남-서해 개체군에서 반복 횟수의 차이를 보였으며 고위도로 갈수록 늘어나는 경향을 보였다.

본 연구에서는 우리나라 남해 및 서해에 분포하는 비단풀과 깃꼴비단풀 개체군 분포 및 다양성을 알기 위한 유전자 및 유전체 정보를 마련하였으며 지역 개체군으로 나누어 논의하였다. 비단풀과 깃꼴비단풀 두 종의 분포를 종합해 보았을 때, 추정 개체군 수 (K) 최대 피크가 2로 나타나는 것은 마지막 최대 빙하기로 인한 지리적 장벽이라 볼 수 있다.

VI. 참고문헌

- 김형섭 (2012). 대한민국 생물지 한국의 조류(Algae) 제 4권 6호 해산 홍조류 (홍조식물문: 진정홍조강: 비단풀목: 비단풀과 II(피층성), 다홍풀과). 정행사, 인천, pp. 1-195.
- 국가생물다양성센터. 2020. 국가생물다양성 통계자료집(2019). 국립생물자원관. 인천. 디자인집. 330pp.
- Boo, S. M. & Lee, I. K. (1994). *Ceramium* and *Campylaeophora* (Ceramiales, Rhodophyta). In: *Biology of Economic Algae*. eds. Akatsuk, I., The Hague: SPB Academic Publishing, The Netherlands, pp. 1-33.
- Brawley, S. H., Blouin, N. A., Ficko-Blean, E., Wheeler, G. L., Lohr, M., Goodson, H. V., Jenkins, J. W., Blaby-Haas, C. E., Helliwell, K. E., Chan, C. X., Marriage, T. N., Bhattacharya, D., Klein, A. S., Badis, Y., Brodie, J., Cao, Y., Collén, J., Dittami, S. M., Gachon, C. M. M., Green, B. R., Karpowicz, S. J., Kim, J. W., Kudahl, Ul. J., Lin, S., Michel, G., Mittag, M., Olson, B. J.S.C., Pangilinan, J. L., Peng, Y., Qiu, H., Shu, S., Singer, J. T., Smith, A. G., Sprecher, B. N., Wagner, V., Wang, W., Wang, Z. Y., Yan, J., Yarish, C., Zäuner-Riek, S., Zhuang, Y., Zou, Y., Lindquist, E. A., Grimwood, J., Barry, K. W., Rokhsar, D. S., Schmutz, J., Stiller, J. W.,

- Grossman, A. R., Prochnik, S. E. (2017). Insights into the red algae and eukaryotic evolution from the genome of *Porphyra umbilicalis* (Bangiophyceae, Rhodophyta). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(31), E6361 - E6370. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1703088114>
- Chaitanya L, Van Oven M, Weiler N, Harteveld J., Wirken L., Sijen T., Knijff P., Kayser M. (2014) Developmental validation of mitochondrial DNA genotyping assays for adept matrilineal inference of biogeographic ancestry at a continental level. *Forensic Sci Int Genet.* 11(1) 39–51. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.02.010>
- Cho, T. O., Boo, S. M., & Hansen, G. I. (2001). Structure and reproduction of the genus *Ceramium* (Ceramiales, Rhodophyta) from Oregon, USA. *Phycologia*, 40(6), 547–571. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-40-6-547.1>
- Díaz-Tapia, P., Maggs, C. A., West, J. A., & Verbruggen, H. (2017). Analysis of chloroplast genomes and a supermatrix inform reclassification of the Rhodomelaceae (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 53(5), 920 - 937. <https://doi.org/10.1111/JPY.12553>
- Glasauer, S. M. K., & Neuhauss, S. C. F. (2014). Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences. In *Molecular Genetics and Genomics* (Vol. 289, Issue 6, pp. 1045 -

1060). Mol Genet Genomics.
<https://doi.org/10.1007/s00438-014-0889-2>

Hughey, J. R., & Boo, G. H. (2016). Genomic and phylogenetic analysis of *Ceramium cimbricum* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Atlantic and Pacific Oceans supports the naming of a new invasive Pacific entity *Ceramium sungminbooi* sp. nov. *Botanica Marina*, 59(4), 211 - 222. <https://doi.org/10.1515/bot-2016-0036>

Hughey, J. R., Gabrielson, P. W., Rohmer, L., Tortolani, J., Silva, M., Miller, K. A., Young, J. D., Martell, C., & Ruediger, E. (2014). Minimally destructive sampling of type specimens of *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta) recovers complete plastid and mitochondrial genomes. *Scientific Reports* 2014 4:1, 4(1), 1 - 10. <https://doi.org/10.1038/srep05113>

Iha, C., Grassa, C. J., Lyra, G. de M., Davis, C. C., Verbruggen, H., & Oliveira, M. C. (2018). Organellar genomics: a useful tool to study evolutionary relationships and molecular evolution in Gracilariaceae (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 54(6), 775 - 787. <https://doi.org/10.1111/JPY.12765>

Just RS, Scheible, M. K., Fast, S. A., Andreaggi, K. S., Röck, A. W., Bush, J. M., Higginbothamab J. L., Peck, M. A., Ring, J. D., Huber, G. E., Xavier C., Strobl, C., Lyons, E. A., Diegoli, T. M., Bodner,

- M., Fendt, L., Kralj, P., Nagl, S., Niederwieser, D., Zimmermann, B., Parson, W., Irwin, J. A. (2015) Full mtGenome reference data: Development and characterization of 588 forensic-quality haplotypes representing three U.S. populations. *Forensic Sci Int Genet.* 14:141-155. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.09.021>
- Kim, M. S. & Lee, J. H. (2011). Comparison of Phylogenetic Tree using COI and rbcL Sequences. *Journal of The Korean Data Analysis Society*, vol.13, no.4, pp. 1763-177. UCI : G704-000930.2011.13.4.010
- Lee, J. M., Cho, C. H., Park, S. I., Choi, J. W., Song, H. S., West, J. A., Bhattacharya, D., & Yoon, H. S. (2016). Parallel evolution of highly conserved plastid genome architecture in red seaweeds and seed plants. *BMC Biology*, 14(1), 1 - 16. <https://doi.org/10.1186/S12915-016-0299-5/>
- Lee, J. M., Yang, E. C., Graf, L., Yang, J. H., Qiu, H., Zelzion, U., Chan, C. X., Stephens, T. G., Weber, A. P. M., Boo, G. H., Boo, S. M., Kim, K. M., Shin, Y., Jung, M., Lee, S. J., Yim, H. S., Lee, J. H., Bhattacharya, D., & Yoon, H. S. (2018). Analysis of the Draft Genome of the Red Seaweed *Gracilariopsis chorda* Provides Insights into Genome Size Evolution in Rhodophyta. *Molecular Biology and Evolution*, 35(8), 1869 - 1886. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSY081>.
- Lobban, C. S., & Wynne, M. J. (Eds.). (1981). *The biology of seaweeds*

(Vol. 17). Univ of California Press.

Maggs, C. A. & Hommersand M. H. (1993). Seaweeds of the British Isles. volume 1. Rhodophyta. Part 3A. Ceramiales. HMSO, London. 444 pp.

Park, J. S., Takayama, K., Suyama, Y., & Choi, B. H. (2019). Distinct phylogeographic structure of the halophyte *Suaeda malacosperma* (Chenopodiaceae/Amaranthaceae), endemic to Korea - Japan region, influenced by historical range shift dynamics. *Plant Systematics and Evolution*, 305(3), 193 - 203. <https://doi.org/10.1007/S00606-018-1562-8>

Park S, Cho S, Seo HJ, Lee JH, Kim M, Lee SD. (2017). Entire Mitochondrial DNA Sequencing on Massively Parallel Sequencing for the Korean Population. *J Korean Med Sci*. 587-592. DOI: <https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.4.587>

Pruett, C. L., & Winker, K. (2008). The effects of sample size on population genetic diversity estimates in song sparrows *Melospiza melodia*. *Journal of Avian Biology*, 39(2), 252 - 256. <https://doi.org/10.1111/J.0908-8857.2008.04094.X>

Qiu, H., Price, D. C., Yang, E. C., Yoon, H. S., & Bhattacharya, D. (2015). Evidence of ancient genome reduction in red algae

- (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 51(4), 624 - 636.
<https://doi.org/10.1111/JPY.12294>
- Rensing SA. 2014. Gene duplication as a driver of plant morphogenetic evolution. *Curr Opin Plant Biol.* 17:43 - 48.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.11.002>
- Robin ED, Wong R. (1998) Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells. *J Cell Physiol.* 136:507-513. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041360316>
- Shao, R., & Barker, S. C. (2007). Mitochondrial genomes of parasitic arthropods: Implications for studies of population genetics and evolution. *Parasitology*, 134(2), 153 - 167.
<https://doi.org/10.1017/S0031182006001429>
- Yi, S., & Kim, S. J. (2010). Vegetation changes in western central region of Korean Peninsula during the last glacial (ca. 21.1 - 26.1 cal kyr BP). *Geosciences Journal* 14:1, 1 - 10.
<https://doi.org/10.1007/S12303-010-0001-9>
- Weber, E., & Schmid, B. (1998). Latitudinal population differentiation in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. *American Journal of Botany*, 85(8), 1110 - 1121.
<https://doi.org/10.2307/2446344>

- Yang, E. C., Cho, G. Y., Kogame, K., Carlile, A. L., & Boo, S. M. (2008). RuBisCO cistron sequence variation and phylogeography of *Ceramium kondoi* (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina*, 51, 370 - 377. <https://doi.org/10.1515/BOT.2008.051>
- Yang, E. C., Kim, K. M., Kim, S. Y., Lee, J. M., Boo, G. H., Lee, J. H., Nelson, W. A., Yi, G., Schmidt, W. E., Fredericq, S., Boo, S. M., Bhattacharya, D., & Yoon, H. S. (2015). Highly Conserved Mitochondrial Genomes among Multicellular Red Algae of the Florideophyceae. *Genome Biology and Evolution*, 7(8), 2394 - 2406. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVV147>
- Yang, E. C., Lee, S. Y., Lee, W. J., & Boo, S. M. (2009). Molecular evidence for recolonization of *Ceramium japonicum* (Ceramiaceae, Rhodophyta) on the west coast of Korea after the last glacial maximum. *Botanica Marina*, 52(4), 307 - 315. <https://doi.org/10.1515/BOT.2009.005>
- Yang, M. Y., Kim, S. Y., & Kim, M. S. (2021). Population genetic structure and phylogeography of co-distributed pachymeniopsis species (Rhodophyta) along the coast of Korea and Japan. *Diversity*, 13(8), 336. <https://doi.org/10.3390/D13080336/S1>
- Yang, M. Y., Kim, S. Y., & Kim, M. S. (2021). Verification of hotspots

of genetic diversity in Korean population of *Grateloupia asiatica* and *G. jejuensis* (Rhodophyta) show low genetic diversity and similar geographic distribution. *Genes and Genomics*, 43(12), 1463 - 1469. <https://doi.org/10.1007/S13258-021-01168-Y/TABLES/2>

Yendo, K. (1920). *Novae algae japoniae*. Decas I-III. *Shokubutsugaku Zasshi*, 34(397), 1b-12.
https://doi.org/10.15281/jplantres1887.34.397_1b

