

국내 도입 돌비늘백합, *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) 의 분자계통학적 연구

송재희, 김유철, 정희도, 강정하

국립수산과학원 서해수산연구소 갯벌연구센터

Molecular phylogenetic study of introduced species *Mercenaria mercenaria* in Korea

Jae-Hee Song, Yu-Cheol Kim, Hee-Do Jeung, Jung-Ha Kang

Tidal Flat Research Center, National Institute of Fisheries science, 177-1, Sandannambuk-ro, Gunsan-si, Jeollabuk-do 54014, Korea

ABSTRACT

This is the first report on the introduced foreign species *Mercenaria mercenaria* in Korea after being changed to a newly given Korean name (scientific name). Imports of this cultured species from China are increased rapidly for food in Korean market. In this study, for the purpose of the managing genetic resources we used CO1 and 16s rRNA universal primer for genetic classification of this species and conducted the phylogenetic analysis on the nineteen species similarly related species with *M. mercenaria*. The similarities with *M. stimpsoni* which belongs to the same genus as *M. mercenaria* were 90.8% (16s) and 81.7% (COI). The similarity with *Meretrix petechialis* was 56.6% (16s) and 75% (COI), which was relatively very low. Therefore, it is assumed that the probability of genetic disturbances with similar species is low. In the near future, *M. mercenaria* is expected to be used as biological resources for the mudflats on the west coast in Korea.

Keywords: *Mercenaria mercenaria*, 16s rRNA, COI, Phylogenetic

서 론

연체동물문의 이매패류는 오래 전부터 세계 양식업의 주요 대상으로 세계 해면양식 생산량의 약 60%를 차지하고 있으며, 일반적인 수산양식 대상종인 굴, 조개, 홍합, 가리비, 바지락 등이 여기에 속한다 (FAO, 2016; Yang, Sturmer, & Baker, 2016).

돌비늘백합, *M. mercenaria*는 연체동물문의 이매패강 (Bivalvia), 백합목 (Veneroida), 백합과 (Veneridae), 비늘백합속 (*Mercenaria*) 에 속하는 이매패류이다 (Sastry

1979). 원래 서식지로는 미국 북부의 Gulf of St. Lawrence 부터 동쪽 연안을 따라 Texas까지 분포하며 (Roegner and Mann, 1991), 미국 동부지역에서는 1970년 후반에 매사추세츠, 뉴저지, 노스캐롤라이나에서 양식이 시작되었고, 그 후 1980년와 1990대를 지나며 다른 동쪽 해안의 주들로 확대되었다 (Castagna, 2001; FAO, 2004).

중국은 1997년에 미국으로부터 처음 이식하여 생태적 습성과 생리, 대사, 성장, 번식, 인공 번식, 종자배양 등을 연구하여 2015년까지 대규모 종자생산, 양식, 육종, 가공의 산업화를 실현하고, 복건성 (Fujian) 과 강소성 (Jiangsu) 연안을 따라 약 20,000ha의 양식 및 가공단지들을 조성한 바 있다 (Lin *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2003; <http://www.meercas.com/news.aspx?id=1212>).

2010년에 중국으로부터 ‘활미동부백합’ 이라는 이름으로 이 종은 46.8 톤이 식용으로 처음 수입된 후 2016년에 2,780.9 톤, 2019년에 8,132.7 톤으로 수입량이 급격히 증가하면서 (National Fishery Products Quality Management Service, <https://www.nfqs.go.kr>) 어업인 소득원으로 국내 양식화에 대한 요구 및 필요성이 제기되었다.

Received: December 11, 2020; Revised: December 22, 2020;
Accepted: December 28, 2020

Corresponding author: Jung-Ha Kang

Tel: +82 (63) 472-8601, e-mail: genetics@korea.kr
1225-3480/24771

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

중국으로부터 수입되어 식용으로 시장에 유통되는 이 종은 지역에 따라 돌조개 (보령), 백상합 (인천), 생합 또는 백합 (서천, 군산, 부안) 등 다양한 이름이 혼용되고 있고, 공공기관에서도 미동부백합 (국립수산물품질관리원) 으로 오기되어 검역되고 있었다. 향후 국내 양식품종으로 자리잡을 경우 양식품종 이미지를 고려하여 본 종의 국명을 정리할 필요성이 제기되어 본 서식지 이미지가 강한 미동북부백합에서 외부형태가 주는 이미지와 분류상 비늘백합속 (*Genus Mercenaria*) 을 반영한 돌비늘백합 (2020.11.25, 한국패류학회 개칭위원회 의결) 으로 개칭되었다.

국립수산물과학원 갯벌연구센터는 국내 자연산 백합류 생산의 감소, 고수온 등에 의한 갯벌 양식 패류의 폐사 증가, 바지락 위주의 갯벌 패류 품종의 단일화 등의 문제점을 해소할 수 있는 새로운 품종으로 도입가능성을 구명하기 위해 전북 고창과 부안지역의 축제식 양식장에 2017년에 580 kg, 2018년에 1,260 kg을 각각 이식하여 시험양식을 실시하였다. 시험양식 연구결과 이 종은 30-32℃의 고수온과 2℃ 내외의 저수온에 대한 내성이 확인된 바 있어 서해안 축제식 양식장의 새로운 양식대상종으로 개발 가능성이 기대되고 있다 (국립수산물과학원 사업보고서, 2019).

본 연구는 외래 도입종 돌비늘백합이 국내 자연생태계에 유입되었을 경우 유전학적으로 국내 토종 유사종과의 유전적 교란 우려에 대한 자료를 확보하기 위해 유전자 바코드 분석에 의한 종 동정과 국내 유사종과의 분자계통학적 위치를 파악하는데 그 목적을 두고 있다.

재료 및 방법

1. 실험재료

국립수산물과학원 갯벌연구센터가 2018년 5월에 이식 (약 25 mm) 하여 전북 고창군과 부안군 지역의 축제식 양식장에서 26개월째 시험양식 중인 성패 8개체를 채집하여 분석에 사용하였다.

2. DNA 추출 및 16s RNA, Cytochrome c oxidase I (COI) 유전자 염기서열 분석

제공받은 샘플의 외투막 (Mantle) 조직으로부터 16s RNA, COI 유전자의 염기서열을 분석하기 위해 약 50 mg 조직을 떼어내어 lysis buffer에 넣고 proteinase K를 처리하여 1시간 동안 65℃에서 반응 후 Solg™ Genomic DNA Prep Kit (Solgent, Daejeon) 를 사용하여 돌비늘백합의 total genomic DNA를 추출하였다. 16s RNA와 COI 유전자의 증폭을 위해 국제생물바코드 표준에 따른 Universal Primer (16SA-L, 5' - CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT - 3';

16SB-H, 5' - CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T - 3', LCO1490, 5' - GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G - 3', and HCO2198, 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3') 를 활용하였다 (Kocher *et al.* 1989; Palumbi 1996; Vences *et al.* 2005). 목표 유전자의 16s RNA, COI DNA 바코딩 영역을 증폭하기 위한 중합효소 연쇄반응 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 을 위한 조건으로 Solg™ 2X Multiplex PCR Smart mix (Solgent, Daejeon) 의 2X Multiplex PCR Smart mix 10 μ L, Primer F (10 pmole/ μ L) 1 μ L, Primer R (10 pmole/ μ L) 1 μ L, Template DNA 1 μ L, Distilled water 7 μ L을 혼합하여 각 반응으로 Pre-heating (95℃, 7분) 후 denaturation (95℃, 50초), annealing (16s RNA, 55℃, 50초; COI, 55℃, 50초), extension (72℃, 50초) 를 35 cycle 후 final annealing (72℃, 7분) 을 더 반응시켰다. PCR 과정으로 얻어진 산물은 자동염기서열분석기를 사용하여 염기서열을 확보하였다.

3. 16s RNA, COI 유전자의 분자계통학적 분석

다른 백합목 (Veneroida) 유사종과의 16S rRNA와 COI 염기서열을 비교분석하고 참고서열을 추출하기 위하여 NCBI의 NR (non-redundant) 데이터베이스와 PANM 데이터베이스를 대상으로 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 를 이용하여 돌비늘백합 서열과 국내에 서식하는 백합목 유사종 12속 19종에 대한 유전자 염기서열을 mFASTA 파일로 작성한 후 Pairwise sequence alignment (http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle) 를 이용하여 유전적 동일성 (identity) 과 유사성 (similarity) 을 비교 분석하였다 (Needleman *et al.* 1970). 분자계통학적 분석은 MEGA7 소프트웨어를 사용하여 muscle 프로그램으로 multiple sequence align 분석을 한 후 neighbor-joining (NJ) 방법을 통해 phylogenetic analysis를 수행하였다 (Kumar *et al.* 2016).

결과 및 고찰

본 연구에서는 시험연구로 수입된 돌비늘백합의 16s rRNA와 COI 유전자의 염기서열을 확인하고 분자유전학적 특징을 분석하였다. 분석된 16s rRNA 서열은 438bp, GC 비율은 34.5% 였으며 COI 유전자 서열은 640bp, GC 비율은 38%로 확인되었다 (Fig 1).

16s rRNA와 COI 유전자를 BLAST 서버에서 blastn으로 검색한 결과, 이매패강 (Bivalvia) 백합목 (Veneroida) 백합과 (Veneridae) 비늘백합속 (*Mercenaria*) 에 속하는 돌비늘

(a) 16s rRNA

```

.....10.....20.....30.....40.....50.....60
AGTCGGACCTGCCCGTGAATGTAATAAACGGTTGCCAAGCAGAGTTGTACGAAGGTAGCG
.....70.....80.....90.....100.....110.....120
TGATAAGTTGTCCTTTAATGGAGAATGGAATGAAGGGTTTGACGTGAAATTTCTTTTTT
.....130.....140.....150.....160.....170.....180
TATAAAGGTACTAAAGTTTCTTCTAAGTGAAAAGGCTTAGGTTTTGAAAAAGACGAG
.....190.....200.....210.....220.....230.....240
AAGACCCCTGTCGAACCTTGATTAAGAATTACTGGTTATAGATATTTAAAAGTTTTATTGGG
.....250.....260.....270.....280.....290.....300
GCAATATTAACCTAAAAACAGTTAATTTATTCATAGATCCTTTTGAAAAGAAAGAGGAA
.....310.....320.....330.....340.....350.....360
AAAGTTACCGCAGGGATAACAGCGTTAATTTCTTCTAAGAGATCTTATTGAGGAAGAAGTT
.....370.....380.....390.....400.....410.....420
TGCAGCCTCGATGTTGGATTATAGAAAACCTTATGGTGCAGCAGCTATAATTGTGAGACTG
.....430
TTCGCTTTTAACTCTAT
    
```

Fig. 1a. Nucleotide sequence of *Mercenaria mercenaria* mitochondrial 16s rRNA.

(b) COI

```

.....10.....20.....30.....40.....50.....60
GCAGGTCTAATGGGTACTGCTTTTATGTTTATTATTCGTATAGAACTGGCTATACCTGGA
.....70.....80.....90.....100.....110.....120
AAGATGTTGGATGATGGGCAGTTGATAATTTAATTTGTTACTGCACATGGTTTAGTAATG
.....130.....140.....150.....160.....170.....180
ATTTTTTTTCTAGTTATGCGCAATAATGATTGGAGGTTTTGGGAATTGGTTGGTTCTTTTA
.....190.....200.....210.....220.....230.....240
ATATTAACCTATGCCTGATATGGCGTTTCTCGAATGAATAATCTGAGTTTCTGGTTGTTA
.....250.....260.....270.....280.....290.....300
CCAGTGTCAATGCTTTTGTATTAGGTTCTGCTTATGTAGATGGGGAGCTGGAACAGGG
.....310.....320.....330.....340.....350.....360
TGAACATATTATCCTCCGCTGTCTAGGGCTTCTTCATTCTGGTAGCTCAATGGATTAT
.....370.....380.....390.....400.....410.....420
GTTATTTTTTCTCTTCATGTGGGTTGGTGCATCTTCTATTTTGGCGTCAATTAATTTCTGTT
.....430.....440.....450.....460.....470.....480
AGAACTAGTTTCTTGATGCGCTCCGGGTGTTATGTTGTTGCTGCGTACTAGAAATGTTTGTG
.....490.....500.....510.....520.....530.....540
TGATGTAGCTGTAACGGGTTCCCTCTTATTGTAGCAATGCCTGTTTGGCTGGGGCT
.....550.....560.....570.....580.....590.....600
TTAACTATACTTTTAACTGATCGGAATTTTAACTCTCTTTTTTGTATCTGCTAGGGTTA
.....610.....620.....630.....640
GGTGATCCCTATCTTTTGTCCACTTGTTTTGATTTTTTG
    
```

Fig. 1b. Nucleotide sequence of *Mercenaria mercenaria* mitochondrial COI.

백합 유전자인 partial mitochondrial 16S rRNA gene (GenBank NO.: AJ548773.1)과 COI은 *M. mercenaria* isolate XG0624 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial (GenBank NO.: HM124619.1)으로 각각 100%와 99.8%의 상동성을 확인하였다. (Table 1).

COI sub unit은 유전자의 보존성이 높아 근연종간의 차별성도 구분 가능하기 때문에 다수의 연구자들이 COI 기반 바코딩을 중 동정에 이용하고 있다 (Hebert *et al.* 2003, Trontelj *et al.* 2005). 본 연구 결과에서 시험연구로 수입된 돌비늘백합의 COI 유전자와 미국에서 채집된 *M. mercenaria*와 상동성이 99.8%를 보여주고 있고, 16s rRNA에서는 100%의 상동성 결과를 나타내었다. 그러나 같은 비늘백합속 패류라 하더라도 비늘백합과 돌비늘백합의 COI와 16s RNA 상동성은 각각 81.8 %와 90.7 %에 불과하였다. 추가적으로 떡조개속 (*Dosinia*) 의 둥근떡조개 (*Dosinia troscheli*) 와 둥근백합속 (*Globivenus*) 의 호린날씨둥근백합 (*Globivenus toreuma*) 의 16s rRNA 유전자 상동성은 82.4%, 81.8%로 나타났으며, COI 유전자인 경우 79.4%, 81.4%의 수준이었다. 비늘백합속 돌비늘백합은 백합속 (*Meretrix*) 패류와 16s rRNA 유전자 상동성에서는 가장 낮아 민무늬백합 (*Meretrix lamarckii*) 과 밑백합 (*Meretrix petechialis*) 인 경우 각각 55.7%, 56.6%를 나타냈다.

백합과 (*Veneridae*) 의 다른종들간의 유전적 상동성을 보았을 때 16s rRNA 유전자 55.7%-90.8%로 다양하게 나타났으며, 반면 COI 유전자인 경우는 71.7%-81.7%로 상대적으로 (Class) 내에서의 변이폭은 16s rRNA 유전자에 비해 작았다. 16s rRNA와 COI 유전자 바코딩의 차이는 종내 변이율 (intraspecific divergence) 과 종간 변이율 (interspecific divergences) 에 의해 나타날 수 있다 (Hebert *et al.* 2004).

본 연구에서 유전자 상동성 분석에 이용된 백합목내 19종을 대상으로 MEGA7의 muscle 알고리즘을 이용하여 다중정렬 후 NJ 법으로 clustering 하였다 (Fig2, Fig3). 16s rRNA 계통수 분석 결과, NCBI에 등록되어 있는 *M. mercenaria*와 100% bootstrap 값으로 동일한 분기군을 형성하였고, 비늘백합 (*M. stimpsoni*) 과는 87% 값의 분기군으로 동일한 비늘백합속 (*Mercenaria*) 그룹에 속하는 것을 확인되었다. 추가적으로 16s와 COI 유전자 모두에서 행달조개속 (*Paphia*), 백합속 (*Meretrix*) 그리고 바지락속 (*Ruditapes*) 패류들의 속 (*Genus*) 단위로 뚜렷이 구분되어 있으나 큰북방살조개 (*Leukoma staminea*) 인 경우 16s와 COI 유전자의 분자계통학적 분석을 하였을 때 분류군이 다르게 묶이는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 16s RNA 또는 COI 유전자와 같이 한가지의 염기서열만 가지고는 완벽한 계통분석이 어려

Table 1. Percent identities and similarities of 16s RNA and COI with other speices

Scientific name	Korean name	16s RNA		COI	
		Accession number	Identity (%)	Accession number	Identity (%)
<i>Mercenaria Mercenaria</i> (Linnaeus, 1758)	돌비늘백합	AJ548773	100	AJ548773	99.8
<i>Mercenaria stimpsoni</i> (Gould, 1861)	비늘백합	AB236186	90.8	JX503038	81.7
<i>Clementia papyracea</i> (Gray, 1825)	수수조개	DQ356369	73	KX713450	71.7
<i>Dosinella angulosa</i> (Philippi, 1847)	둥근달떡조개	HM124684	78.6	HQ703150	81
<i>Dosinia troscheli</i> (Lischke, 1873)	둥근떡조개	HM124690	82.4	HQ703139	79.4
<i>Globivenus toreuma</i> (Gould, 1850)	흐린달씨둥근백합	DQ459274	81.8	DQ458482	81.4
<i>Leukoma staminea</i> (Conard, 1837)	큰북방살조개	JN133716	64.1	KF643722	77.2
<i>Meretrix lamarckii</i> (Deshayes, 1853)	민무늬백합	DQ389105	55.7	AB059420	75.1
<i>Meretrix lusoria</i> (Roding, 1798)	백합	DQ356374	55.9	AB076924	73.1
<i>Meretrix meretrix</i> (Linnaeus, 1758)	무명조개	JN969955	57.6	DQ399400	75.1
<i>Meretrix petechialis</i> (Lamarck, 1818)	말백합	HM124710	56.6	AB280785	75
<i>Paphia amabilis</i> (Philippi, 1847)	밭고랑행달조개	JN969949	59.5	HQ703260	73.4
<i>Paphia euglypta</i> (Philippi, 1847)	행달조개	DQ184725	61.3	DQ184827	74.6
<i>Paphia vernicosa</i> (Gould, 1861)	붉은행달조개	DQ184726	58.5	DQ184828	71.4
<i>Petricola lapicida</i> (Gmelin, 1791)	돌속살이조개	KC429300	57.2	DQ184848	73.8
<i>Pitar sulfureum</i> (Pilsbry, 1904)	쇠백합	HM124722	68.6	HM124587	73.7
<i>Ruditapes bruguieri</i> (Hanley, 1845)	아기바지락	JN133695	58.8	DQ184829	76
<i>Ruditapes philippinarum</i> (A. Adams & Reeve, 1848)	바지락	DQ356383	65.9	AB059402	76.3
<i>Saxidomus purpuratus</i> (Sowerby, 1852)	개조개	HM124729	60	HQ703046	73.1

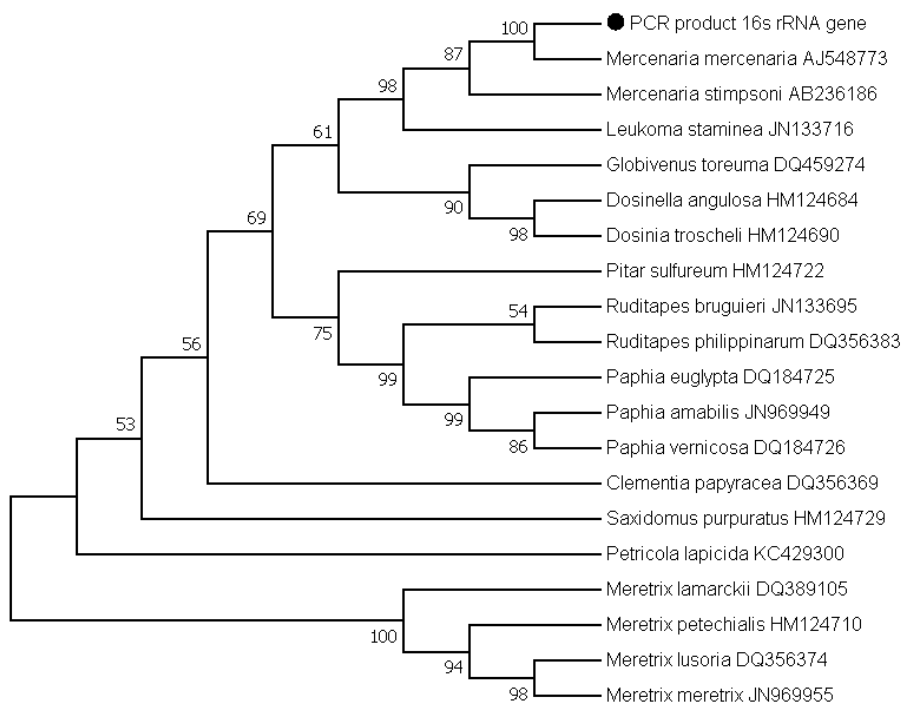


Fig. 2. Phylogenetic analysis based on ClustalW alignment of various 16s rRNA. 16s rRNA PCR product indicated by ●. The tree was constructed by MEGA software version 7 using neighbor-joining methods.

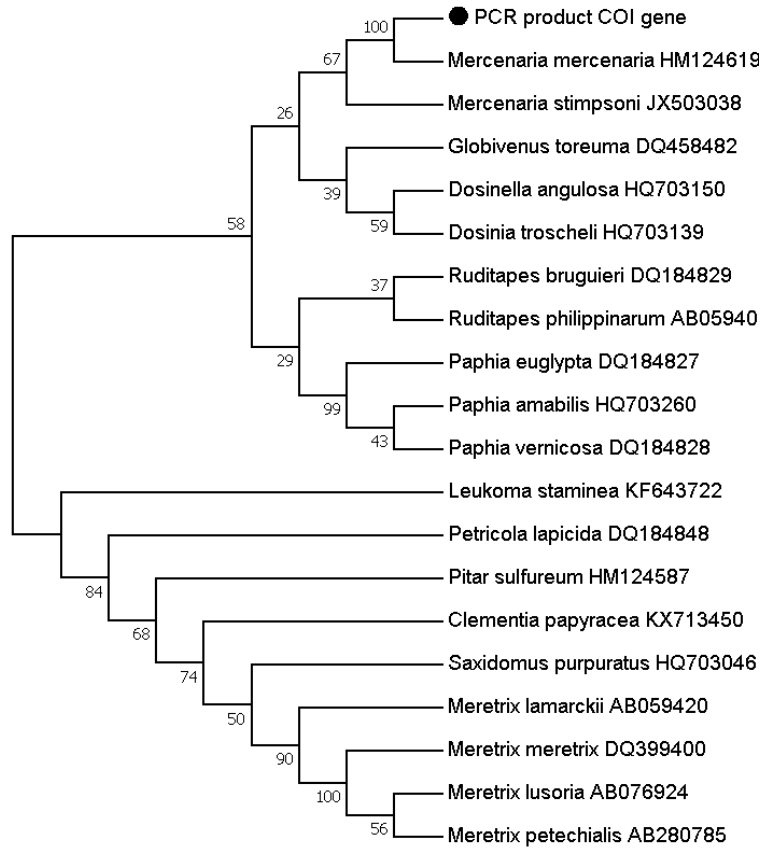


Fig. 3. Phylogenetic analysis based on ClustalW alignment of various COI. COI PCR product indicated by ●. The tree was constructed by MEGA software version 7 using neighbor-joining methods.

울 수 있음을 보여주는 사례가 될 수 있다. 그렇기 때문에 최근에는 28s rRNA, Metallothionein, Histon 등 barcode로 활용 가능한 유전자를 동시에 사용하거나 분자분류학적 지표로 사용될 수 있는 유전자가 새롭게 발견되어 사용되기도 한다 (Qiu, *et al.* 2003, Cross, *et al.* 2018, Ogunlaja, *et al.* 2020).

재첩과 (Corbiculidae) 인 경우 동일 속 (genus) 내 중간 유전적 상동성이 높아 일본재첩 (*Corbicula japonica*) 와 재첩 (*C. fluminea*) 과의 상동성은 16s rRNA인 경우 94.1%로 중간 유사성이 상당히 높아 종 동정 혼란도 야기되고 있다 (Park *et al.* 2018). 그러나 돌비늘백합인 경우 국내 서식하는 패류 가운데 가장 유사한 비늘백합과의 상동성은 16s rRNA인 경우 90.8%로 유전학적으로 명확히 구분되어 외래종인 돌비늘백합이 국내 서식 유사종과의 유전적 교란 발생 가능성은 낮을 것으로 추정된다 (Park, *et al.* 2016, Park, *et al.* 2018).

요 약

본 연구는 시험양식으로 도입된 외래종 *M. mercenaria* 국명이 미동북부백합에서 돌비늘백합으로 개칭된 첫 논문으로 외래종의 유전학적 종 동정을 위해 COI과 16s rRNA universal primer로 유전자 바코드화 하였고 국내 서식 백합목 유사종 19종과의 분자유전학적 계통분석을 실시한 결과이다. 돌비늘백합은 국내 서식하는 패류 중에는 비늘백합 속에 있는 비늘백합과 가장 유연관계가 가까웠고, 두 종간의 유전학적 상동성은 90.8% (16s) 와 81.7% (COI) 으로 나타났으며, 백합 속의 말백합과의 상동성은 56.6% (16s rRNA) 와 75% (COI) 으로 상대적으로 매우 낮게 나타났다. 따라서 국내 서식하는 유사종간의 유전적 교란 가능성은 낮으로 것을 추정되며 신규 생명자원으로써 활용이 가능할 것으로 생각된다.

사 사

이 연구는 2020년도 국립수산물과학원 수산시험연구사업 ‘갯벌 패류양식 생산성 향상 연구 (R2020007)’ 사업의 일환으로 수행하였으며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Barucca, M., Olmo, E., Schiaparelli, S., & Canapa, A. (2004) Molecular phylogeny of the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial 16S and 12S rRNA genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, **31**(1): 89-95.
- Canapa, A., Barucca, M., Marinelli, A., & Olmo, E. (2000) Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Journal of Molecular Evolution*, **50**(1): 93-97.
- Canapa, A., Schiaparelli, S., Marota, I., & Barucca, M. (2003) Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Veneridae (Mollusca: Bivalvia). *Marine Biology*, **142**(6): 1125-1130.
- Castagna, M. (2001) Chapter 15 Aquaculture of the hard clam, *Mercenaria mercenaria*. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 31, pp. 675-699). Elsevier.
- Cross, I., Portela-Bens, S., García-Angulo, A., Merlo, M. A., Rodríguez, M. E., Liehr, T., & Rebordinos, L. (2018) A preliminary integrated genetic map distinguishes every chromosome pair and locates essential genes related to abiotic adaptation of *Crassostrea angulata/gigas*. *BMC genetics*, **19**(1): 104.
- Erpenbeck, D., Hooper, J. N. A., & Wörheide, G. (2006) CO1 phylogenies in diploblasts and the 'Barcoding of Life'-are we sequencing a suboptimal partition?. *Molecular ecology notes*, **6**(2): 550-553.
- FAO (2004) Cultured Aquatic Species Information Programme. *Mercenaria mercenaria*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Kraeuter, J. N. In *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. pp. 11. Rome.
- FAO (2016) The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. In *FAO (Series Ed.)*, pp. 200.
- Feng, Y., Li, Q., Kong, L., & Zheng, X. (2011) DNA barcoding and phylogenetic analysis of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes. *Molecular Biology Reports*, **38**(1): 291-299.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & Dewaard, J. R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **270**(1512): 313-321.
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemlak, T. S., & Francis, C. M. (2004) Identification of birds through DNA barcodes. *Public Library of Science Biology*, **2**: e312.
- Ivanova, N. V., Dewaard, J. R., & Hebert, P. D. (2006). An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular ecology notes*, **6**(4): 998-1002.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X., & Wilson, A. C. (1989) Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **86**(16): 6196-6200.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, **33**(7): 1870-1874.
- Lee, J. S., & Min, D. K. (2007) Korean Names of Foreign Shells Introduced to Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **23**(1): 105-154.
- Linnaeus, C. V. (1758) *Systema Naturae*, edition X, vol. 1 (Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata). Holmiae Salvii, 824.
- Lunt, D. H., & Hyman, B. C. (1997) Animal mitochondrial DNA recombination. *Nature*, **387**(6630): 247-247.
- National Fishery Products Quality Management Service, "import and export quarantine statistics", accessed NOV 21, 2020, <https://www.nfqs.go.kr/2013/contents.asp?m=5&s=8&s2=3>
- Needleman, S. B., & Wunsch, C. D. (1970) A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of molecular biology*, **48**(3): 443-453.
- Ogunlaja, A., Sharma, V., Ghai, M., & Lin, J. (2020) Molecular characterization and DNA methylation profile of *Libyodrilus violaceus* from oil polluted soil. *Molecular biology research communications*, **9**(2): 45-53.
- Palumbi, S. R. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *Molecular systematics*, 205-247.
- Park, S. Y., Kang, S. W., Hwang, H. J., Chung, J. M., Song, D. K., Park, H. S., ... & Lee, Y. S. (2016) A mitochondrial cytochrome oxidase I gene based identification of *Corbicula* ssp. commercially available in South Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **32**(2): 127-131.
- Park, Y. J., Noh, E. S., Park, J. Y., Kim, E. M., Noh, J. K., Choi, T. J., & Kang, J. H. (2018) Development of a Simple, Rapid Multiplex PCR Method Using the 16S rRNA Gene to Determine the Country of Origin of Brackish Water Bivalve *Corbicula japonica*. *Food Analytical Methods*, **11**(11): 3034-3041.
- Pujolar, J. M., Marçeta, T., Saavedra, C., Bressan, M., & Zane, L. (2010) Inferring the demographic history of the Adriatic Flexopecten complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **57**(2): 942-947.
- Qiu, F., Guo, L., Wen, T. J., Liu, F., Ashlock, D. A., & Schnable, P. S. (2003) DNA Sequence-Based "Bar Codes" for Tracking the Origins of Expressed Sequence Tags from a Maize cDNA Library

- Constructed Using Multiple mRNA Sources. *Plant Physiology*, **133**(2): 475-481.
- Salvi, D., Bellavia, G., Cervelli, M., & Mariottini, P. (2010) The analysis of rRNA sequence-structure in phylogenetics: An application to the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56**(3): 1059-1067.
- Sastry, A. N. (1979) Pelecypoda (excluding Ostreidae), *in*; Reproduction of marine invertebrates. Vol. V. Molluscs: pelecypods and lesser classes.
- Saraste, M. (1990) Structural features of cytochrome oxidase. *Quarterly reviews of biophysics*, **23**(4): 331-366.
- Trontelj, P., Machino, Y., & Sket, B. (2005) Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **34**(1): 212-226.
- Vences, M., Thomas, M., Van der Meijden, A., Chiari, Y., & Vieites, D. R. (2005) Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in zoology*, **2**(1): 1-12.
- Yang, H., Sturmer, L. N., & Baker, S. (2016) Molluscan shellfish aquaculture and production (FA191), Gainesville: University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences. ,1-8.
- Tao, Z. H. A. N. G., Sheng, Y. H., Zhong, L. B., Quan, L. B., Lin, L. S., Xiang, W. H., ... & Sui, Z. F. (2003) EFFECTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE SURVIVAL AND GROWTH OF JUVENILE HARD CLAM *Mercenaria mercenaria* (LINNAEUS, 1758). *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, **2**: 2.
- Zhi-Hua, L., Zhen-Ming, L., Xue-Liang, C., Jun, F., & Jiong-Ming, Z. (2008) Karyotypes of diploid and triploid *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus). *Journal of Shellfish Research*, **27**(2): 297-300.

