

RAPD 분석에 의한 한국산 등굴레속(백합과)의 종간 유연관계

장창기* · 김윤식

(고려대학교 이과대학 생물학과)

한국산 등굴레속 15분류군을 대상으로 RAPD 분석을 수행하여 이들의 계통학적 유연관계를 분석하였다. UPGMA에 의한 분석결과 본 속 식물들은 63.2%의 유사도수준에서 크게 2개의 군으로 유집되었는데, 그 중 한 군은 잎이 윤생하는 총총갈고리등굴레(*P. sibiricum*)와 총총등굴레(*P. stenophyllum*)로 구성되었으며 나머지는 모두 잎이 호생하는 종들을 포함하고 있었다. 잎이 호생하는 등굴레절(Sect. *Polygonatum*)은 다시 2개의 군으로 유집되었다. 이 2개의 군은 외부형태학적으로 포의 존재유무가 구분기준이 된다. 포가 있는 분류군 중에서 기본염색체수가 $x=11$ 인 통등굴레(*P. inflatum*)는 기본염색체수가 $x=10$ 인 용등굴레계열(Ser. *Bracteata*)의 다른 분류군들과 68.2% 수준에서 유집되었다. RAPD 분석방법은 *P. odoratum* group에서 기본염색체수에 따라서 $x=10$ 인 등굴레(*P. odoratum* var. *pluriflorum*), 풍도등굴레(*P. odoratum* var. *odoratum*), 왕등굴레(*P. robustum*) 등과 $x=9$ 인 산등굴레(*P. thunbergii*), 선등굴레(*P. grandicaule*), 늦등굴레(*P. infundiflorum*) 등의 2개의 유집군으로 구분하는데 있어서도 유용하였다. 그리고 생육지역에 따라 외부형태적 변이를 나타내는 죽대(*P. lasianthum*), 산등굴레 및 진황정(*P. falcatum*)의 종내 이질집단간에는 높은 유전적 유사도를 보여 종내분류군 수준으로 구분되지는 않았다.

주요어 : 등굴레속(백합과), RAPDs, 유연관계, 계통분류

서 론

등굴레속(*Polygonatum* Mill.)은 약 40여종이 아시아, 북미, 유럽 등 북반구에 분포하며 그 중 약 30여종이 동아시아에 분포한다고 알려져 있다(Tang, 1978; Jeffrey, 1980). Miller(1754)가 본 속을 은방울꽃속(*Convallaria*)으로 부터 분리시킨 이래로 속내분류군의 인식에 있어 엽서(Tang, 1978), 포의 존재유무(Abramova, 1975; Tang, 1978) 등을

*교신저자 : 전화 (02) 953-1729, 전송 (02) 923-9522

주요 식별형질로 보아 왔으나 이러한 외부형태학적 형질에 기준한 분류체계에 대하여 많은 이견이 있어 왔다. 특히 엽서에 의해 절을 구분하는 것이나(Baker, 1875; Komarov, 1935; Tang, 1978) 통둥굴레가 속하는 통둥굴레계열(Ser. *Inflata*)을 독립된 계열로 설정하는 문제 등에 있어서 많은 논란이 있어 왔다(Jeffrey, 1980; 1982).

최근에 Jang(1998)은 화서, 지하경의 형태, 수술대의 형태 및 돌기의 유무, 기본염색체 수 등의 형질을 추가하여 한국산을 14종 2변종으로 정리하였고, 이들 한국산은 둥굴레절에 속하는 3개의 계열과 층층둥굴레절(Sect. *Verticillata*)에 속하는 2개의 계열에 포함되는 분류군으로 정리한 바 있다. 그러나 한국산 분류군의 한계를 규명하는데 사용되어 온 이면 맥과 엽연의 털이나 돌기유무 및 꽃의 수 등은 *P. odoratum* group (Jang, 1998) 즉, 둥굴레, 풍도둥굴레, 늦둥굴레, 산둥굴레, 선둥굴레, 왕둥굴레 등에서 불연속적인 양상으로 나타나 종의 동정에 어려움이 있어 왔다. 특히 왕둥굴레는 잎 이면의 돌기와 꽃의 수에서 만이 다른 분류군과 차이가 나기 때문에 둥굴레에 이명처리되거나 둥굴레의 변종으로 이명처리 되기도 하여 왔다.

한편 본 연구에서는 생육지역에 따라 불연속적인 외부형태적 변이를 나타내는 죽대(*P. lasianthum*), 산둥굴레 및 진황정(*P. falcatum*) 등 3종의 종내 자연집단을 포함하였다. 죽대의 자연집단은 잎이 아주 두꺼운 혁질이고 잎수가 20장 이상이며 화피의 크기도 작아서 전형적인 집단과 차이가 났고, 산둥굴레의 자연집단은 화피의 수가 3-4개이고 줄기가 아주 굵으며 전체 꽃의 수가 아주 적어 차이가 났으며, 진황정의 자연집단은 지하경이 2배 이상 굵으며 잎이 아주 두꺼운 혁질이고 줄기의 높이 역시 1m 이상으로 2배정도가 되며 화피가 7-11개까지 달리는 특징으로 차이가 났다.

Random amplified polymorphic DNA 분석방법은 William *et al.*(1990)이 소개한 유전자 분석방법으로, 비용이 적게 들고 소량의 DNA로도 분석이 가능함은 물론 유전적 다양성을 평가하는데 용이한 실험방법이다. 최근에 RAPD 분석방법은 유연관계가 가까운 하위분류군 즉 종내의 근연분류군간에 나타나는 분류학적 문제를 해결하는데 많이 이용되고 있다(Buren *et al.*, 1994; Campos *et al.*, 1994; Stammers *et al.*, 1995; Seok and Choi, 1998). 반면에 Demeke *et al.* (1992)은 *Brassica*의 속내 유연관계에 대해서, Adams & Demeke (1993)는 *Juniperus*의 44 분류군에 대한 계통학적 유연관계를 규명하는데 RAPD 분석방법을 사용하였고 Tae & Ko (1997)는 한국산 상사화속의 속내 유연관계를 설명하기 위해서 RAPD 분석방법을 사용하여 종간의 유연관계를 밝히기도 하였다.

RAPD 분석방법은 주로 종내 개체간의 변이 또는 한 속내의 근연 종들간의 계통을 추적하는데 사용되지만 본 연구에서는 본 속내의 절이나 계열을 구분하는데 얼마나 유용한 분석도구가 되는지를 알아보고 외부형태형질에 의한 유집분석결과와 얼마나 유사한가를 알아보기 위해서 RAPD 분석을 실시하였다. 또한 RAPD 분석방법을 통해 엽서와 염색체

수 및 포를 기준으로 구분되는 절이나 계열간의 유전적 차이를 밝히고 막질의 포와 긴 화경을 가지고 기본염색체수가 $x=11$ 인 통둥굴레의 속내 위치를 설정하는 근거를 제공하며, 끝으로 불연속적인 외부형태학적 형질을 많이 가지고 있어 종동정에 혼란이 상존하는 *P. odoratum* group의 유전적 차이와 종간의 유연관계를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험재료는 채집하여 충북대학교 생물학과 온실 및 실험포장에 이식한 후 잎을 사용하였으며, 실험에 사용된 재료(Table 1)의 증거표본은 고려대학교 생물학과 표본실(KUS) 및 충북대학교 생물학과 표본실(CBU)에 보관하였다.

2. 방 법

① DNA extraction

본 실험에서는 18개의 개체를 대상으로 DNA를 추출하였다. Total DNA는 CTAB 방법(Doyle and Doyle, 1987)에 의거하여 신선한 잎으로부터 분리·추출하였다. 추출된 DNA에서 불순물을 제거하기 위해 glass milk를 사용하여 cleaning하였다. 정제한 DNA는 UV transilluminator에서 λ DNA/HincIII markers와 형광의 밝기를 비교하여 상대적인 농도를 확인하였다. 일정한 농도의 DNA를 취하기 위해 Spectrophotometer로 정량한 후 1-2ng/ μ l 가 되도록 희석한 다음 -20°C에 보관하였다.

② DNA의 증폭과 분리

PCR은 0.5ml thin wall tube에 1-5ng total genomic DNA, 1x PCR reaction buffer (10mM Tris-HCl, 1.5mM MgCl₂, 50mM KCl, pH 8.3), each 200 μ M dNTP, 0.2 μ M Primer (The Univ. of British Columbia, Nucleic Acid-Protein Service Unit No. 101-200), 1.5U Taq polymerase (Boehringer Mannheim) 등과 함께 DW로 전체 반응액을 25 μ l 가 되게 하였다. Random primer는 100개를 screening하여 분류군 전체에 반응이 일어나는 16개를 선별하여 분석을 실시하였다. 반응이 일어난 16개 primer의 염기서열은 Table 2와 같다.

혼합액이 들어 있는 tube를 DNA thermal cycler에 넣고, 94°C에서 2분동안 pre-denaturation시킨 후 94°C에서 1분(denaturation), 45°C에서 2분(annealing), 72°C에서 2분(polymerization)을 하나의 주기로 하여 35회 반복하였고, 마지막으로 72°C에서 7분동안 extension하였다.

③ 전기영동

증폭된 DNA 10 μ l 를 취하여 2.5 μ l gel loading buffer (bromophenol blue)와 함께

Table 1. Materials and collection site used of Korean *Polygonatum* in this study.

Taxon (Abbreviation)	Collection site and date	Voucher
<i>P. lasianthum</i> I (LA I)	CN: Kyeryongsan, Shinwonsa (Jun. 8, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96023 (CBU)
<i>P. lasianthum</i> II (LA II)	KW: Ch'iaksan, Sangwonsa (Jun. 12, 1996)	C.G. Jang 0277 (KUS)
<i>P. humile</i> (HUM)	KW: Ch'unch'on, Ch'ugok (Jun. 13, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96025 (CBU)
<i>P. odoratum</i> var. <i>pluriflorum</i> (PLU)	CB: Minjujisan, Samdobong (Jun. 1, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96004 (CBU)
<i>P. odoratum</i> var. <i>odoratum</i> (ODO)	KG: Ansanshi, P'ungdo (May 11, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96003 (CBU)
<i>P. thunbergii</i> I (TH I)	CJ: Chejudo, Chunjeyon (May 27, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96038 (CBU)
<i>P. infundiflorum</i> (IFU)	KG: Ansanshi, P'ungdo (May 11, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96001 (CBU)
<i>P. robustum</i> (ROB)	KB: Ull ngdo, Naribungi (May 18, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96007 (CBU)
<i>P. grandicaule</i> (GRA)	CB: Minjujisan, Gakhosan (Jun. 2, 1996)	B.U. Oh <i>et al.</i> 96002 (CBU)
<i>P. thunbergii</i> II (TH II)	CB: Tanyang, Kosu-donggul (Jun. 12, 1996)	C.G. Jang 0446 (KUS)
<i>P. falcatum</i> I (FA I)	CJ: Chejudo, Bijarim(I) (May 25, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96009 (CBU)
<i>P. falcatum</i> II (FA II)	CJ: Chejudo, Bijarim(II) (May 25, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96041 (CBU)
<i>P. cryptanthum</i> (CRY)	JN: Mokp'o, Yudalsan (May 5, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96010 (CBU)
<i>P. desoulavyi</i> (DES)	CB: Minjujisan, Samdobong (Jun. 1, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96011 (CBU)
<i>P. inflatum</i> (INF)	CN: Kyeryongsan, Shinwonsa (Jun. 8, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96013 (CBU)
<i>P. involucreatum</i> (INV)	JN: Turyunsan, Taedunsa (May 4, 1996)	C.G. Jang 0458 (KUS)
<i>P. sibiricum</i> (SIB)	CB: Tanyang, Toraksan (Jun. 12, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96015 (CBU)
<i>P. stenophyllum</i> (STE)	KW: Ch'unch'on, Ch'ugok (Jun. 13, 1996)	B.U. Oh <i>et</i> C.G. Jang 96016 (CBU)

CB; Chungch ngbuk-do, CN; Chungch ngnam-do, CJ; Cheju-do, JN; J nranam-do, KB; Kyungsgngbuk-do; KG; Kyunggi-do, KW; Kangwon-do.

Table 2. Sequences of 16 primers available for the RAPDs analysis.

Primer No.	primer sequences (5'→3')	No. of amplified fragments	No. of polymorphic fragments	Primer No.	primer sequences (5'→3')	No. of amplified fragments	No. of polymorphic fragments
103	GTGACGCCGC	16	14	104	GGGCAATGAT	9	8
105	CTCGGGTGGG	22	21	106	CGTCTGCCCG	14	13
108	GTATTGCCCT	6	6	111	AGTAGACGGG	18	16
125	GCGGTTGAGG	8	6	137	GGTCTCTCCC	14	12
138	GCTTCCCCTT	10	10	147	GTGCGTCCTC	12	12
155	CTGGCGGCTG	11	11	157	CGTGGGCAGG	10	10
159	GAGCCCGTAG	11	11	173	CAGGCGGCGT	17	16
174	AACGGGCAGC	13	12	192	GCAAGTCACT	8	8

TAE buffer (40mM Tris-acetate, 1mM EDTA)를 사용한 1.5% Agarose gel에서 전기영동(40V, 4hr.)하였다. 전기영동한 후 Ethidium bromide (0.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$)에서 30분 동안 염색하였다. Molecular standard markers로서 100bp DNA Ladder (Boehringer Mannheim, Marker IV)를 사용하였다.

④ 자료분석

DNA를 전기영동하여 비교된 RAPD markers는 molecular weight에 따른 band의 존재유무에 따라 각각 1(present)과 0(absent)으로 score하였고 이를 근거로 원자료행렬을 작성하였다(Table 3). Genetic similarity coefficients (GS)는 Nei & Li (1979)에 의해 보고된 것과 같은 DICE coefficient에 의해 다음과 같은 식으로 계산되었다.

$$GS_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$$

N_x 와 N_y 는 집단 또는 종의 총 절편수이고, N_{xy} 는 공통 절편수를 나타낸다. 이 원자료행렬을 근거로 NTSYS program (F. J. Rohlf, ver 1.70, 1992)을 이용하여 유사도값을 계산하였다(Table 4). 이 자료를 기초로 SAHN clustering 조건을 사용하여 UPGMA 분석방법에 의해 전형질도(Fig. 2)를 작성하였다.

결과 및 고찰

16개의 primer에 의해 증폭된 DNA 절편의 크기는 300-2642bp에 해당하였으며(Fig. 1), 본 연구에서 제외한 84개의 primer 중 34개는 반응이 일어나지 않았고, 19개는 전체 분류군 중 1개 이상의 분류군에서 반응이 일어나지 않았으며, 나머지 31개는 polymorphic한 band들이 나타나지 않고 거의 일양한 양상으로 나타났다. 한국산 일부 분류군에

Table 3. RAPD data matrix for Korean Polygonatum, after coding the presence and absence of bands with '1' and '0', respectively.

Taxon/Primer	103	104	105	106	108	111	125	137	138	147	155	157	159	173	174	192	
LA1	0011000010000	00000001	0000000001100110011	1110000100000	011100	1100000000000000000	0001000	0001001001010110110	0100000000	000100000000	0100000000	0100011000	0010010000000	0001000000000	100010000000000	1100010010001	00110000
LA2	0011000011000	00000001	0010100011001100110011	1110000101111	011100	1100000000000000000	01011100	100101000101010	0100000000	001000000000	0100011000	0100011000	0001000000000	0001000000000	1000000000000	11000000000	00101000
HUM	0011000011000	00000001	000100011010010000	1100000000000	011100	1100000000000000000	01010001	000101010000011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011110	00100000000	0001000000000	1000100010010	11000000000	00100000
ODO	0011000011000	00000001	00110000111100010000	1110000111100	111100	1100000000000000000	01111001	000100111100011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011110	00100000000	0001000000000	1000100001001	11000000000	00100000
PLU	0011000011000	00000001	001000010100010011	1110000100010	111100	1100000000000000000	01111110	0001111100011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011111	00100000000	0001000000000	1000100001011	11000000000	00100000
TH1	0011000011000	00000001	001000010000000000	1100000100000	111000	1100000000000000000	01111001	010101010100000	0100000000	001000000000	0100000000	0100011111	00100000000	0001000000000	1000100001011	11000000000	00100000
GRA	0111100011100	00000011	000001000100000001	00000010000	010000	0000000000000000000	01111001	0001000000011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011110	00010000000	0001000000000	1000100001001	11000000000	00100000
IFU	0111100011000	00000001	001000010000000000	00000010000	010000	0000000000000000000	00010001	0001000000011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011110	00010000000	0001000000000	1000100001001	11000000000	00100000
ROB	0011000011000	00000001	1111000011100010000	1110000100000	110000	0000000000000000000	01001110	0001000000011	0100000000	001000000000	0100000000	0100011111	00100000000	0001000000000	1000100001001	11000000000	00100000
TH2	0011000010010	00000001	111100111100011100	1111000110000	111100	1100000000000000000	01000001	00100000000	0000000000	001000000000	0100000000	0100011111	00100000000	0001000000000	1000100001001	11000000000	00100000
FA1	10011000010000	10000001	00010001000001001011	1100000101110	011100	1100000001001001	11111000	10011110010	100001010	100001010	0100001100	0100011000	00010000000	0001000000000	1111110000110001	11000000000	01000000
FA2	10011000010000	10000001	000100000100000000	1100000100000	110000	0100000011000000	11111000	0001111000010	0000000000	0000000000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1111110000110001	11000000000	01000000
CRY	0001100010010	00000001	000100000000000000	1110000100000	111000	0000000000000000000	01000001	0001100100000	0000000000	0000000000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1111110000110001	11000000000	01000000
DES	0011000010010	10000001	000000000000000000	1110000100000	111000	0000000000000000000	01000001	0001000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1111110000110001	11000000000	01000000
INF	011100110000	11100001	000000000000000000	1100000100100	111100	1110000000000000000	01111110	1000010000011	1000110000	1000000000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1100100000000	11000000000	01000000
INV	0011000011000	00000001	11111000011100110011	1100000100100	110000	0000000000000000000	11111111	1001000000011	0000000000	0000000000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1100100000000	11000000000	01000000
SIB	0001000001000	00000001	0111100000011000011	1110000100000	011000	1100000000000000000	00000110	1111111000011	1100010000	0010011000	0000000000	0100011100	00010000000	0001000000000	1100100000000	11000000000	01000000
STE	01111000011000	00000001	000000000000000000	1110000100000	000000	0000000000000000000	01000111	1100100000010	0000010000	0000010000	0000010000	0111000000	00010000000	0001000000000	1100100000000	11000000000	01000000

*Abbreviation of populations corresponds to that in Table 1.

Table 4. Dis-similarity matrix between the populations of Korean *Polygonatum* obtained by Dice index from RAPD data.

	LA1	LA2	HUM	ODO	PLU	THI	GRA	IFU	ROB	THI	FA1	FA2	CRY	DES	INF	INV	SIB	STE	
LA1	0.00000																		
LA2	0.10885	0.00000																	
HUM	0.44826	0.41631	0.00000																
ODO	0.39976	0.31064	0.29033	0.00000															
PLU	0.46173	0.35830	0.33923	0.15342	0.00000														
THI	0.41725	0.40985	0.40801	0.23651	0.24841	0.00000													
GRA	0.49835	0.41085	0.44695	0.35912	0.35086	0.25385	0.00000												
IFU	0.57034	0.52946	0.44029	0.35589	0.36222	0.26521	0.19681	0.00000											
ROB	0.50072	0.38903	0.32415	0.24371	0.23060	0.40039	0.44790	0.39367	0.00000										
TH2	0.41576	0.33842	0.36231	0.18049	0.22242	0.36657	0.40424	0.38530	0.24371	0.00000									
FA1	0.47943	0.41986	0.43454	0.43373	0.41043	0.43073	0.46298	0.50883	0.59271	0.47885	0.00000								
FA2	0.47989	0.44954	0.50399	0.44293	0.46833	0.44207	0.53431	0.60394	0.61289	0.53978	0.23540	0.00000							
CRY	0.42486	0.40550	0.46522	0.35663	0.39965	0.44763	0.42884	0.48821	0.38457	0.38295	0.42822	0.37792	0.00000						
DES	0.44881	0.48932	0.60644	0.44823	0.57717	0.43136	0.53960	0.57001	0.50898	0.57956	0.45736	0.47105	0.27499	0.00000					
INF	0.61789	0.54256	0.58257	0.40967	0.49291	0.46691	0.55646	0.62498	0.57962	0.53103	0.41535	0.50660	0.47760	0.43054	0.00000				
INV	0.41576	0.35261	0.36231	0.38728	0.43373	0.39474	0.41974	0.51245	0.37548	0.45724	0.44854	0.45844	0.35663	0.40310	0.42405	0.00000			
SIB	0.49603	0.50381	0.48653	0.54604	0.55594	0.48242	0.58487	0.59623	0.57420	0.50023	0.44730	0.53655	0.42356	0.43150	0.46704	0.32290	0.00000		
STE	0.75499	0.71556	0.77909	0.71685	0.74470	0.73470	0.69308	0.75207	0.82493	0.67518	0.70024	0.70878	0.62485	0.58624	0.70517	0.63517	0.53752	0.00000	

※ Abbreviation of populations corresponds to that in Table 1.

Fig. 1. Random amplified polymorphic DNA of Korean *Polygonatum*.

1. Primer No. 103 2. Primer No. 106 3. Primer No. 138 4. Primer No. 192

Lane M; DNA Molecular Weight Marker, 1; *P. lasianthum* I, 2; *P. lasianthum* II, 3; *P. humile*, 4; *P. odoratum* var. *odoratum*, 5; *P. odoratum* var. *pluriflorum*, 6; *P. thunbergii* I, 7; *P. grandicaule*, 8; *P. infundiflorum*, 9; *P. robustum*, 10; *P. thunbergii* II, 11; *P. falcatum* I, 12; *P. falcatum* II, 13; *P. cryptanthum*, 14; *P. desoulavii*, 15; *P. inflatum*, 16; *P. involucreatum*, 17; *P. sibiricum*, 18; *P. stenophyllum*

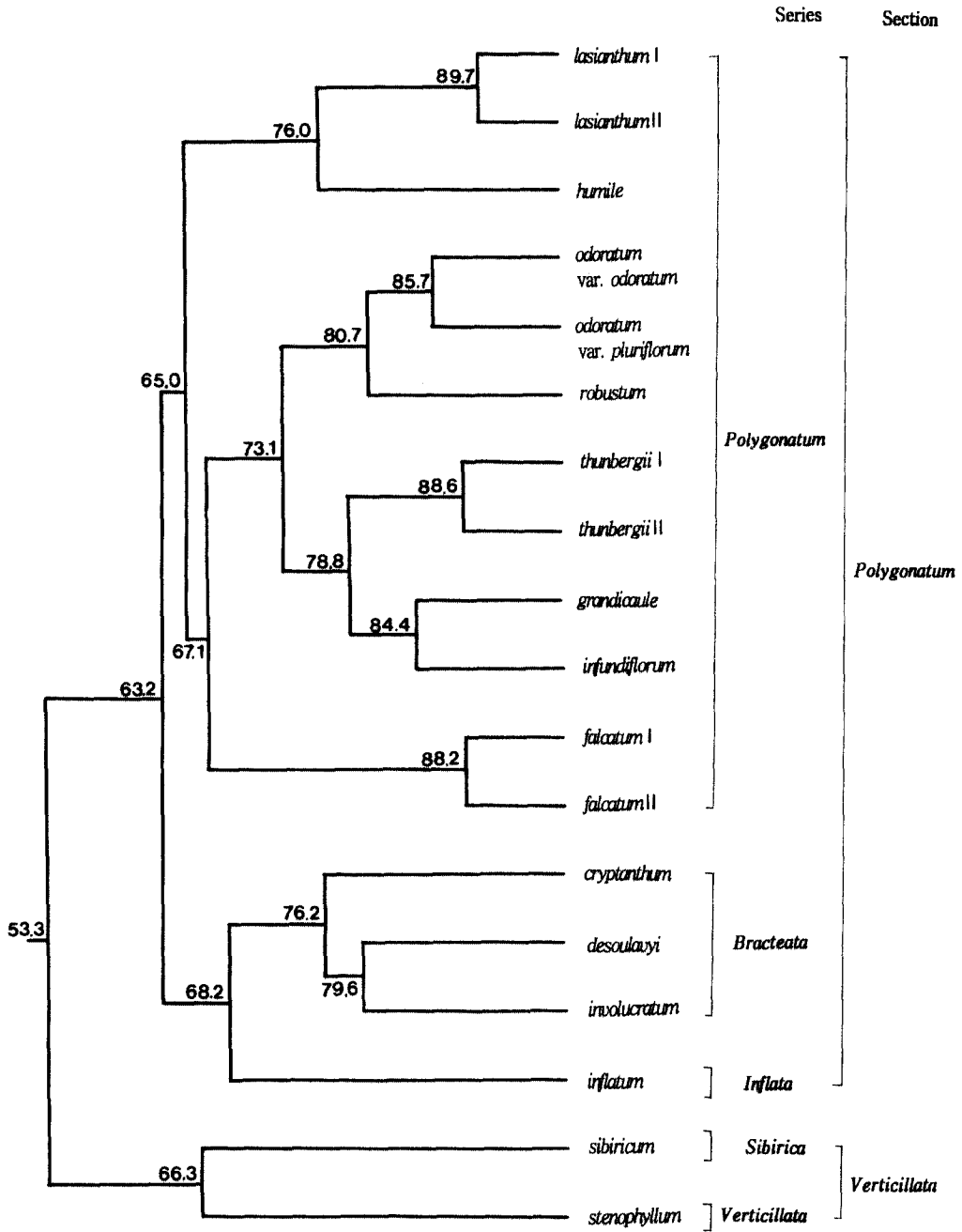


Fig. 2. UPGMA cluster phonogram of Korean *Polygonatum* based on the RAPD data.

대해서 실시한 RAPD 분석결과는 외부형태형질에 대한 유집분석의 결과와 거의 일치하였다(Jang & Kim, 1998). 불연속적인 변이가 있는 죽대, 산둥굴레 및 진황정 등의 종내 자연집단들은 전형적인 것과 88.2% 이상의 유사도로 유집되어 변종이 유집되는 수준보다 더 높게 나타났다. 죽대와 각시둥굴레는 65.0%의 낮은 유사성으로 *P. odoratum* group과 유집되었다. 또한 진황정은 *P. odoratum* group과 67.1%에서 유집되었다. 그리고 *P. odoratum* group내에서 염색체수가 서로 다르게 나타난 풍도둥굴레, 둥굴레, 왕둥굴레(이상 $x=10$) 등이 산둥굴레, 선둥굴레, 늦둥굴레(이상 $x=9$) 등과 73.1%에서 유집되었다. 왕둥굴레는 *P. odoratum*의 두 변종과 80.7%에서 유집되었고 늦둥굴레와 선둥굴레가 산둥굴레와 78.8%의 유사도 수준에서 유집되었다. 한편, 잎이 호생하는 분류군내에서 포를 가진 분류군이 63.2%에서 포가 없는 분류군과 유집되었다. 그리고 포를 가진 분류군 중에서, 기본염색체수가 다르며 막질의 포를 가지고 화경이 길게 늘어지는 산형화서를 가진 통둥굴레는 용둥굴레계열의 분류군들과 68.2%의 낮은 유사성을 가져 뚜렷이 구분되었다. 또한 윤생엽을 가지고, 기본염색체수가 $x=12$ 이상인 층층둥굴레절(Sect. *Verticillata*)은 호생엽을 가진 분류군(Sect. *Polygonatum*)과 53.3%의 아주 낮은 수준에서 유집되었다. 층층둥굴레절내에서 각각의 두 종은 66.3%의 낮은 유사도수준에서 유집되었다.

본 연구 결과 종내에서 불연속적인 변이가 있는 죽대, 산둥굴레 및 진황정의 자연집단들은 전형적인 것과 아주 높은 유사도로 유집되어 종내의 이질집단으로 판명되었고 유사도가 변종을 유집하는 수준보다 높게 나타나서 종내분류군의 수준으로 구분하기에는 무리가 있다고 보아진다. 진황정과 각시둥굴레, 죽대 등은 둥굴레계열내에서 아주 낮은 유사도 수준에서 *P. odoratum* group과 유집되어 먼 유연관계를 나타내었다. 그리고 RAPD 분석결과는 문체시 되어오던 *P. odoratum* group내의 분류군 한계를 규명하는데 적절한 자료를 제공해 주었다. *P. odoratum* group내 종수준의 분류군들이 유사도 수준 80.7-84.4%의 범위에서 유집되었는데, 왕둥굴레는 이 범위 중 가장 낮은 수준에서 유집되어 종수준으로 독립시키는데 대한 증거를 제시하였다. 그리고 왕둥굴레와 함께 기본염색체수가 $x=10$ 이고 줄기에 능각이 있는 *P. odoratum*의 2변종은 종내 이질집단의 수준보다는 낮은 유사도수준에서, 종의 수준보다는 높은 수준에서 유집되어 변종으로 처리한 Jang(1998)의 견해를 지지해 주고 있다. 외부형태형질에 의한 유집분석에서 왕둥굴레는 *P. odoratum* group내의 다른 모든 분류군들과 낮은 수준에서 유집되었지만, 본 연구에서는 *P. odoratum*의 2변종과 가깝게 유집되는 다른 결과를 나타내어 이들과 유전적으로 높은 유사성을 가진다고 볼 수 있다. 한편 능각이 없고 기본염색체수가 $x=9$ 인 분류군들이 이들보다 아주 낮은 수준에서 유집됨으로써 그들이 종으로서 인정받을 수 있고, 기본염색체수의 변화에 따른 종분화기작에 대한 가설을 잘 지지해 준다(Han *et al.*, 1998). 그리고 여러 계열들이 유집되는 수준은 68.2-76.2%의 유사도 범위에서 유집되었다. 그러나 용둥굴레계열이 유집된 유사도 수준은 둥굴레계열에서 기본염색체 수가 다른 두 개의 군이 유집

되는 유사도 수준보다 높은 수준에서 유집되어 계열이 유집되는 유사도 수준이 중복되었다. 용둥굴레계열과 통둥굴레계열이 포를 가진다는 공통점과 기본염색체수가 한 개만이 차이가 나고 화피나 수술대의 형태 등에서 유사한 점을 많이 가지고 있기 때문에 이러한 결과가 나타나는 것으로 사료되며, 서로 다른 계열로 구분한 Satake (1942), Tamura (1993), Jang (1998) 등의 속내분류체계를 지지해 주지는 못한다. 그러나 포의 존재유무는 Franchet & Savatier (1878), Tamura (1993), Jang (1998) 등이 제시한 바와 같이 분명히 계열을 구분하는 중요한 형질이 될 수 있다. 또한 엽서를 기준으로 윤생엽을 가진 분류군이 호생엽을 가진 분류군과 아주 낮은 수준에서 유집되어 절의 수준으로 구분한 Baker (1875)의 견해를 잘 지지해준다. 충충둥굴레절내에서 충충갈고리둥굴레와 충충둥굴레가 계열을 구분할 수 있는 범위에서 유집되어 엽선의 모양과 기본염색체수를 기준으로 충충둥굴레계열(Ser. *Verticillata*)과 충충갈고리둥굴레계열(Ser. *Sibirica*) 등의 계열 수준으로 구분한 견해를 지지하는 증거가 될 수 있다(Abramova, 1975; Jang, 1998).

전반적으로 본 실험에 이용된 RAPD분석은 종내 분류군의 분석 뿐만 아니라 종간 그리고 군집간의 유연관계와 분화를 추정하는데 유용한 분석방법으로 판단된다. 일치하지 않는 부분이 있지만 좀 더 많은 primer를 이용하고 더 많은 이질 자연집단을 조사대상에 포함시켰을 때 RAPDs 분석방법은 본 속의 종분화현상을 이해하고 보다 합리적인 분류체계를 수립하는데 많은 기여를 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비(과제번호 : 01-D-0449)에 의하여 연구되었음.

인 용 문 헌

- Adams, R. P. and T. Demeke. 1993. Systematic relationships in *Juniperus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Taxon* 42: 553-571.
- Abramova, L. I. 1975. On the taxonomical structure of the genus *Polygonatum* Mill. *Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad)* 60: 490-497. (In Russian with English summary).
- Baker, J. G. 1875. *Polygonatum*. Revision of the Species and Genera of Asparagaceae. *Journ. Linn. Soc. Lond.* 14: 552-561. pl. 17-20.
- Buren, R. V., K. T. Harper, W. R. Andersen, D. J. Stanton, S. Seyoum and J. L. England. 1994. Evaluating the relationship of autumn buttercup (*Ranunculus*

- acriiformis* var. *aestivalis*) to some close congeners using random amplified polymorphic DNA. Amer. J. Bot. 81: 514-519.
- Campos, L. P., J. V. Raelson and W. F. Grant. 1994. Genome relationships among Lotus species based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). Theor. Appl. Genet. 88: 417-422.
- Demeke, T., R. P. Adams and R. Chibbar. 1992. Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA (RAPD): a case study in *Brassica*. Theor. Appl. Genet. 84: 990-994.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.
- Franchet, A. and L. Savatier. 1878. Enumeratio Plantarum Jap. vol. 2: 54-55, 524, 789. F. Savy, Bibliopolam, Paris.
- Han, M. K., C. G. Jang, B. U. Oh and Y. S. Kim. 1998. A cytotaxonomic study of genus *Polygonatum* in Korea. Kor. J. Plant Tax. 28: 187-208. (In Korean)
- Jang, C. G. 1998. A systematic study of the genus *Polygonatum* (Liliaceae): with a special reference to Korean species. Ph. D. dissertation, Korea University. Seoul Pp. 458 (in Korean with English abstract).
- Jang, C. G. and Y. S. Kim. 1998. Cluster and cladistic analyses of the Korean *Polygonatum* (Liliaceae). Kor. J. Plant Tax. 28: 357-370 (In Korean).
- Jeffrey, C. 1980. The genus *Polygonatum* (Liliaceae) in eastern Asia. Kew Bull. 34: 435-471.
- Jeffrey, C. 1982. Further note on eastern Asian *Polygonatum* (Liliaceae) in Kew Bull. 37: 335-339.
- Komarov, V. L. 1935. *Polygonatum* (Tourn.) Adans. In Komarov, V.L. (ed.) Flora URSS. Vol. 4: 456-467. Leningrad:Academiae Scientiarum URSS.
- Miller, P. 1754. Gard. Dict. Abridg. ed. 4
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76: 5269-5273.
- Seok, D. I and B. H. Choi. 1998. Taxonomic relationships in East Asian *Vicia* species with unijugate leaves based on random amplified polymorphic DNA markers. J. Plant Biol. 41: 201-207.
- Satake, Y. 1942. Fragmentary news from the Herbarium of the Tokyo Science Museum (4). *Polygonatum involucratum* Maxim. and its allies. Journ. Jap. Bot. 18: 29-38. (In Japanese)
- Stammers, M., J. Harris, G. M., Evans, M. D. Hayward and J. W. Forster. 1995.

- Use of random PCR (RAPD) technology to analyse phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex. *Heredity* 74: 19-27.
- Tae, K. H. and S. C. Ko. 1997. Relationship of Korean *Lycoris* (Amaryllidaceae) using the RAPDs analysis. *Kor. J. Plant Tax.* 27: 349-358.
- Tamura, M. N. 1993. Biosystematic studies on the genus *Polygonatum* (Liliaceae) III. Morphology of staminal filaments and karyology of eleven European species. *Bot. Jahrb. Syst.* 115: 1-26.
- Tang, Y. C. 1978. *Polygonatum* Mill. In Wang, F. T. and T. Tang (eds.), *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, vol. 15, 52-81. 250. Science Press, Beijing. (In Chinese)
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafaski, S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.

Taxonomic relationships of the Korean *Polygonatum* (Liliaceae) using the RAPDs analysis

Jang Chang-gee* and Yun-Shik Kim

(Department of Biology, Korea University, Seoul 136-701, Korea)

Abstract

Random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) analysis was performed to study the taxonomic relationships among fifteen taxa of Korean *Polygonatum*. In the phenogram using UPGMA cluster analysis, the fifteen taxa separated into two groups. One included the species having verticillate leaf, *P. sibiricum* and *P. stenophyllum*, the other with alternate leaf. The latter group clustered into two subgroups sequentially. This 2 subgroups were characterized by bract. Among the bracteate taxa, *P. inflatum* which has $x=11$ of basic chromosome number was clustered from the others of $x=10$. *P. odoratum* group was classified into two subgroups by the RAPD analysis, that is, one consist of *P. odoratum* var. *odoratum*, *P. odoratum* var. *pluriflorum* and *P. robustum*, which have $x=10$ of basic chromosome number, another is $x=9$. The intraspecific natural populations having the morphological variation from habitat difference had very highly genetic similitude in *P. lasianthum*, *P. thunbergii* and *P. falcatum* without distinguishing for intraspecific taxa level.

Key words: *Polygonatum* (Liliaceae), RAPDs, phylogeny

*Corresponding author : Phone +82-2-953-1729, Fax +82-2-923-9522