

RAPD에 의한 붓꽃속 금붓꽃계열 (*Iris series Chinensis*)의 계통분류학적 연구

심정기 · 김주환*

(목원대 생물학과 · 대전대 생명과학부¹⁾)

붓꽃속의 금붓꽃계열은 한국, 중국, 일본 등 극동아시아에 8분류군이 국한되어 분포하고, 붓꽃속의 다른 계열과는 식물체의 크기, 화주, 화피열편 및 종자 등의 형태적 특징에 의해 뚜렷이 구분된다. 금붓꽃, 노랑붓꽃, 노랑무늬붓꽃, 각시붓꽃, 흰각시붓꽃 및 넓은잎 각시붓꽃의 6분류군이 우리나라 전국에 자생하는 것으로 알려져 있다. 한국특산식물로 알려진 노랑붓꽃과 노랑무늬붓꽃의 분류학적 정체성과 계급의 타당성에 대하여 학자들간에 논란이 있어왔으며, 현재까지 각시붓꽃과 종내분류군들의 분류학적 위치에 대한 재검토가 이루어진 바 없다. 본 연구에서는, 한국산 금붓꽃계열식물군의 분류학적 한계와 집단간의 유전적 다양성을 파악하고자, 군외군을 포함한 8분류군 16집단을 대상으로 RAPD 분석이 수행되었다. 13개의 oligoprimer를 이용한 효소중합반응에서 84개의 유효한 polymorphic band가 확인되었다. Nei-Li의 거리지수를 이용한 분석결과, 금붓꽃계열내에서는 종 집단간에 0.055-0.218의 유전적 변이를 나타내었다. RAPD 자료를 기초로한 UPGMA 유집분석에 의하면 금붓꽃계열은 각시붓꽃group과 금붓꽃group의 2개의 유집군으로 구분되어 졌다. 또한, 솔붓꽃과 난장이붓꽃을 군외군으로 설정한 NJ tree 분석결과, 금붓꽃계열은 비교군으로부터 뚜렷히 구분되어지며, 노랑붓꽃과 노랑무늬붓꽃이 금붓꽃과의 원시조상형에서 분화된 독립된 종집단인 것으로 생각되고, 각시붓꽃group은 금붓꽃group의 자매군인 것으로 나타났다. 본 연구결과, RAPD 분석자료는 금붓꽃계열의 분류군들의 분류학적 제반 문제점들을 해결하고 정확한 종분류와 분류군간의 유연관계를 검토하는데 매우 유용한 것으로 생각된다.

주요어 : 금붓꽃계열, RAPD, UPGMA, NJ, 유연관계

붓꽃과 (Iridaceae)는 학자에 따라 백합목 (Liliales: Lawrence, 1951; Melchior, 1964; Cronquist, 1981) 또는 붓꽃목 (Iridales: Hutchinson, 1959; Takhtajan, 1969)으로 분류

*교신저자 : 전화 : (042) 280-2434, 전송 : (042) 285-2434, 전자우편 : kimjh@dju.ac.kr

되는 식물군이다. 붓꽃과 식물은 80여속의 1500여종이 극지를 제외한 전세계에 분포하는 것으로 알려져 있으며, 그 분포중심지는 45속 900여종이 자생하는 Africa의 적도남부지역으로 생각되고 있다. 붓꽃과 식물은 대부분 다년생초본이지만 드물게 1년생 초본, 상록성 초본 혹은 관목도 포함된다(Goldblatt, 1981; Cronquist, 1981). 붓꽃속(*Iris*)은 붓꽃과(*Iridaceae*), 붓꽃족(*Irideae*)에 속하는 식물군으로 전세계에 약 150여종이 분포한다(Goldblatt, 1981). 붓꽃속은 화피편이 통상의 자방위에 통부를 형성하고, 화사가 이생하며, 자방은 3실로 중축태좌를 이루고, 지하경은 인경 또는 근경인 뚜렷한 특징으로 인하여 과내의 다른속들로 부터 명확히 구분된다(Baker, 1892; Diels, 1930; Hutchinson, 1959).

붓꽃속의 분류체계에 대하여 Dykes(1913)는 지하경의 종류, 외화피편 상면의 부속물 형태와 존재여부, 종자의 가종피 유무, 인경과 구경 표면의 부속물 형태, 그리고 화서의 종류 및 특징 등을 기준으로 12개의 절로 구분하면서 22 group의 161종으로 정리한 바 있다. 또한, Lawrence(1953)는 지하경의 종류에 따라 붓꽃속을 5아속(*Iris*, *Nepalense*, *Xiphium*, *Scorpiris*, *Gynadris*)으로 구분하였고, 아속 아래에는 4절, 8아절, 17계열로 분류하였다. 그러나, 상기한 Dykes(1913)와 Lawrence(1953)의 연구에서, 석엽표본만을 근거로 하여 충분한 형질의 검색이 이루어지지 않았고, 종이하 분류군에 대한 검토가 없었으며, 연구재료에 대부분의 아시아산이 포함되지 않는 등, 속의 전체적인 분류체계의 적용에는 다소 문제가 있다. Rodinenko(1961)는 Lawrence(1953)와 뚜렷한 이견을 보이며, 근경을 가진 것만을 붓꽃속에 포함시켰고, 인경을 가진 것은 *Xiphium*, *Iridodictyum*, *Juno* 등 3속으로, 구경을 가진 것은 *Gynandiris*으로 독립시켰다. 또한, 붓꽃속은 외화피편의 부속물형태 및 존재유무, 가종피의 존재유무, 화경의 분지정도 등을 기준으로 6개아속(*Limniris*, *Xyridion*, *Pardanthopsis*, *Crossiris*, *Iris*, *Nepalensis*)으로 구분하였고, 각 아속 아래에는 10절, 7아절, 19계열로 분류하였다. 한편, Mathew(1981)는 기존의 붓꽃속 식물중에서 지하경이 괴경인 것을 *Hermodadylus*속, 구경인 것을 *Gynandiris*속, 화피통이 없는 것은 *Pardandopsis*속으로 독립시킨 바 있다. 상기한 바와 같이 붓꽃속에 대한 분류기준, 속내분류체계 및 분류계급의 설정 등이 학자들간에 많은 이견이 있다.

한국산 붓꽃속에 대한 연구로는 Palibin(1901)이 1종 4변종을 처음 보고한 이래, Nakai(1911, 1914), Mori and Kajiwara(1927) 등이 국내에서의 붓꽃속 식물의 분포를 밝힌 바 있다. 또한, Nakai(1952)는 한국산 붓꽃속을 10종 3변종으로 정리하였고, Chung(1956, 1965), Lee(1976, 1979), Lee, Y. N.(1976, 1996) 등도 각자의 도감과 보고서에서 국내산 붓꽃속을 기재하였으나, 학명의 오용과 오기, 정확한 분포지의 미확인 등과 같은 기본적인 분류학적 문제점들이 산재하고 있다. 한편, Sim(1988)은 Rodinenko(1961)의 분류체계에 따라 한국산 붓꽃과를 종합 검토하면서, 한국산 붓꽃속을 4아속, 4절, 3아절, 7계열, 9종, 5변종, 1품종 총 15분류군으로 정리하였다.

금붓꽃계열(series *Chinensis*)은 *Limniris*아속, *Limniris*절, *Apogon*아절에 속하며

Table 1. Synoptical comparison of *Iris* series *Chinensis* in Korea.

Palibin (1901)	Nakai (1952)	Sim (2000)
<i>I. rossii</i> Baker	<i>I. rossii</i> Baker	<i>I. rossii</i> Baker <i>I. rossii</i> var. <i>latifolia</i> Sim et Kim (1992) <i>I. rossii</i> for. <i>alba</i> Y. Lee (1974)
	<i>I. savatieri</i> Nakai (1952)	<i>I. minutoaurea</i> Makino (1928)
	<i>I. koreana</i> Nakai (1914)	<i>I. koreana</i> Nakai <i>I. odaesanensis</i> Y. Lee (1974) (= <i>I. koreana</i> for. <i>albiflora</i> Lee et Lee, 1964 = <i>I. koreana</i> for. <i>albiflora</i> T. Lee, 1984)

I. minutoaurea(금붓꽃), *I. koreana*(노랑붓꽃), *I. odaesanensis*(노랑무늬붓꽃), *I. rossii*(각시붓꽃), *I. rossii* for. *alba*(흰각시붓꽃), *I. rossii* var. *latifolia*(넓은잎각시붓꽃), *I. henryi*, *I. grijsii*의 8분류군이 한국, 중국, 일본 등 극동아시아에 국한되어 분포하며, 붓꽃속의 다른 계열과는 전체적으로 식물체가 소형이고, 선형의 화주분지, 거치가 있는 긴 삼각형의 열편, 반원형의 주두, 불규칙한 돌기 모양의 약의 무늬 및 2열로 호생배열하는 삭과내 종자 등의 특징에 의해 뚜렷히 구분된다(Mathew, 1981). 한국에 분포하는 금붓꽃계열의 식물로는 금붓꽃, 노랑붓꽃, 노랑무늬붓꽃, 각시붓꽃, 흰각시붓꽃 및 넓은잎각시붓꽃의 6분류군이 전국에 자생하는 것으로 알려져 있으나(Sim, 2000; Table 1), 이 중 노랑붓꽃과 노랑무늬붓꽃의 분류학적 정체성과 계급의 타당성에 대하여 학자들간에 논란이 있어왔으며(Lee and Lee, 1964; Lee, 1974; Lee, 1984), 현재까지 각시붓꽃과 종내 분류군들의 분류학적 위치에 대한 재검토가 이루어진 바 없다. 한편, 상기한 금붓꽃계열 내의 종집단에 대한 분류학적 문제점 외에, 학자들간에는 금붓꽃집단과 각시붓꽃집단을 하나의 series(계열)로 통합해야 한다는 견해와(Rodinenko, 1961) 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 나누어야 한다는 견해가 있다(Sim, 2000).

최근 계통분류학에 있어서 근연분류군간의 유전적 유연관계분석에 대한 요구가 증대됨에 따라, DNA fingerprinting 방법을 이용하여 핵산의 다형현상(polymorphism)을 직접 분석함으로써 유전형(genotype)의 기본적 차이를 결정하는 여러가지 방법들이 개발되어 사용되고 있는데(Weising *et al.*, 1995), 그중 최근 식물계통분류학에서 가장 많이 사용되는 대표적인 것이 Random amplified polymorphic DNA(RAPD; Williams *et al.*, 1990)이다. RAPD 분석은 간단한 10-mer primer를 가지고 미량의 DNA로부터 polymerase chain reaction(PCR)을 이용하여 많은 양의 분자유전학적 표지인자(molecular genetic marker)를 손쉽게 검색할 수 있는 장점을 가지고 있다.

따라서 본 연구에서는, 한국산 금붓꽃계열식물의 RAPD를 통한 분자유전학적 자료를

Table 2. Materials and collection data of *Iris* which were used in RAPD analysis.

Scientific Name(Korean Name)	Localities	Collection date	Symbols
Series <i>Chinensis</i> (금붓꽃계열)			
<i>Iris rossii</i> Bak. (각시붓꽃)	Anyeong-ri, Daejeon	May 08, 2001	ROS1
	Mt. Jogye, Jeollabuk-do	Apr. 28, 2001	ROS2
<i>Iris rossii</i> var. <i>latifolia</i>	Anyeong-ri, Daejeon	June 16, 2001	LAT1
Sim et Kim (넓은잎각시붓꽃)	Mt. Gyeryong, Chungcheongnam-do	June 16, 2001	LAT2
	Kapsa, Mt. Gyeryong	June 16, 2001	LAT3
<i>Iris rossii</i> for. <i>alba</i> Y. Lee (흰각시붓꽃)	Mt. Jogye, Jeollabuk-do	Apr. 28, 2001	ALB1
	Mt. Jogye, Jeollabuk-do	June 08, 2001	ALB2
<i>Iris minutoaurea</i> Makino (금붓꽃)	Boeun-gun, Chungcheongbuk-do	May 04, 2001	MIN1
	Mt. Cheonma, Gyeonggi-do	June 07, 2001	MIN2
<i>Iris koreana</i> Nakai (노랑붓꽃)	Byeonsanbando, Jeollabuk-do	Apr. 15, 2001	KOR1
	Byeonsanbando, Jeollabuk-do	June 17, 2001	KOR2
<i>Iris odaesanensis</i> Y. Lee (노랑무늬붓꽃)	Mt. Odae, Gangwon-do	Aug. 20, 2001	ODA1
	Mt. Seorak, Gangwon-do	June 08, 2001	ODA2
Series <i>Ruthenicae</i> (솔붓꽃계열)			
<i>Iris ruthenica</i> var. <i>nana</i> Maxim. (솔붓꽃)	Oknyeobong, Daejeon	May 08, 2001	RUT1
	Jakjeon-dong, Incheon	June 07, 2001	RUT2
<i>Iris uniflora</i> var. <i>caricuna</i> Kitagawa (난쟁이붓꽃)	Mt. Seorak, Gangwon-do	June 08, 2001	UNI1

기초로 하여, 금붓꽃계열의 분류학적 한계와 정체성 및 집단간의 유전적 다양성을 파악하여 종내분류군의 계급설정과 타당성을 논하며, 금붓꽃계열의 분류군들의 분류학적 제반 문제점들을 해결하고 정확한 종분류와 분류군간의 유연관계를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 연구에 사용된 재료는 2001년 4월부터 8월까지 직접채집한 것을 사용하였고, 금붓꽃계열에 속한 6분류군 13집단을 주 연구대상으로 사용하였다. 종 및 집단내 분자유전학적 변이의 양상과 폭을 규명하고자 근연종으로 알려진 솔붓꽃과 난쟁이붓꽃을 비교군(outgroup)으로 이용하였다(Table 2). 본 연구에 사용된 재료의 증거표본은 대전대학교 생명과학부 식물표본실(TUT)와 목원대학교 생물학과 표본실에 보관하였다.

2. 방 법

(1) DNA 추출

DNA 추출을 위하여 채집된 식물의 잎은 얼음과 함께 ice box를 이용하여 실험실로 운반하거나, silica gel로 건조하여 밀폐된 비닐주머니에 넣어 실험실로 운반하였다. 채집된 잎은 액체질소를 넣어 막자사발로써 분말로 파쇄하여 -70°C 의 deep freezer에 보관하였다.

DNA추출은 CTAB method(Doyle and Doyle, 1987)를 다소 변형한 아래의 방법으로 실시하였다. 우선 냉동보관된 약 1.0g의 분말조직을 0.5% 2- β -mercaptoethanol이 첨가된 15ml의 extraction buffer(2% CTAB; 100mM Tris, pH 8.0; 50mM EDTA, pH 8.0; 500mM NaCl)에 넣은 후 65°C 에서 20분간 incubation하며, 조직내 phenol 화합물, 탄닌 등의 불순물을 제거하기 위하여, extraction buffer에 2% PVP-40을 첨가하였다. Incubation후 SEVAC용액(chloroform : Isoamyl alcohol=24:1) 7.5ml를 첨가하여, 8000g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이 부피의 2/3이 되는 양의 isopropanol을 첨가한 후, -20°C 에서 12시간 이상 보관하였다가 8000g로 30분간 원심분리하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA pellet은 70% ethanol로 세척한 후 TE buffer(1M Tris, 0.5M EDTA, pH 8.0)에 용해하였고, GeneClean kit(Bio 101 Inc., CA, USA)를 이용하여 DNA를 순수정제하였다. 정제된 DNA는 0.7% Agarose gel로 전기영동한 후 1% EtBr로 염색하여 UV illuminator상에서 그 농도를 확인하여 PCR반응에 사용하였다.

(2) RAPD

추출된 DNA로부터 RAPD절편의 증폭반응은 Perkin and Elmer 9600 thermal cycler에서 수행되었다. PCR반응은 전체 $25\mu\text{l}$ 부피로 행하며, 10-50ng DNA, 1.5unit Taq DNA Polymerase, 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl_2 , 0.001% gelatin, $0.5\mu\text{M}$ primer 및 200M의 각 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 등이 포함되어 있다. RAPD PCR에 사용되는 primer는 NAPS(University of British Columbia)에서 제작된 No. 1-200의 10-mer oligoprimer를 이용하였으며, 다음의 PCR반응에 사용되었다. ① 94°C 에서 2분간 pre-denaturation, ② 94°C 에서 1분간, 45°C 에서 2분간, 72°C 에서 2분으로 구성된 amplifying cycle을 35회 반복, ③ 마지막으로 72°C 에서 7분동안의 final extension으로 구성된 3단계의 PCR과정을 거쳐 DNA product를 만들어 내었다. 이때 각각의 primer에 대한 상기의 PCR 과정을 통한 screening을 실시하여, 선택된 primer별로 3회 이상의 반복실험을 수행하여 재현성이 뚜렷한 것만을 유용한 primer로 결정하였다 (Table 3). PCR을 통하여 합성된 DNA product는 $10^{-4}\%$ EtBr이 포함된 1.5% Agarose gel로 전기영동하여 UV-illuminator상에서 band를 확인한 후, Universal

Table 3. The list of 13 primer used of the RAPDs analysis in this study.

*Primer No.	Sequence(5'→3')	*Primer No.	Sequence(5'→3')
1	CCT GGG CTT C	74	GAG CAC CTG A
30	CCG GCC TTA G	76	GAG CAC CAG T
50	TTC CCC GCG C	81	GAG CAC GGG G
52	TTC CCG GAG C	87	GGG GGG AAG C
62	TTC CCC GTC G	88	CGG GGG ATG G
70	GGG CAC GCG A	97	ATC TGC GAG C
72	GAG CAC GGG A		

*All primers were purchased from NAPS, University of British Columbia, Canada.

Software (AAB, 2000)의 1D-PCR program을 이용하여 정확한 band의 위치를 결정하였다.

(3) 자료 및 유연관계분석

RAPD결과는 각 band를 하나의 형질로 취급하여 유, 무에 따라 각기 1과 0으로 표시하고, 전체 OTU에 대한 자료행렬을 작성하였으며, PAUP*(Swofford, 2001, ver. 4.08b) program을 이용하여 Nei(1972)의 유전적 거리지수를 다소 변형한 Nei-Li의 거리지수를 이용하여 상사도행렬을 도출하였다. 도출된 자료행렬에 따라 UPGMA방법에 의한 phenogram을 작성하였고, 유전적 유사도를 기초로 한 neighbor-joining tree(NJ)분석(Saitou and Nei, 1987)를 작성하여 각 OTU간의 유연관계를 검토하였다.

결과 및 고찰

본 연구에 사용된 random primer는 총 200개이었으며, 그 중 primer screening을 통해 반응이 일어난 primer는 35개였다. 본 실험에서 반응이 일어난 35개의 primer는 대부분 G+C content가 매우 높았으며(60-80%), 그 중 3번 반복실험을 통해 분류군 전체에서 반응이 일어난 것은 13개 였다(Table 3). 이러한 결과는 일반적으로 primer의 염기구성이 DNA의 증폭길이에 커다란 영향을 미치며(William *et al.*, 1990) random primer에 있어서 G+C content가 높을수록 DNA 증폭은 매우 잘 일어난다는 견해와 일치하였다(Fritsch *et al.*, 1993). PCR과정을 통하여 증폭된 RAPD 절편들은 200bp에서 2,500bp 사이의 구간에서 관찰되었고, RAPD marker의 수는 각 primer마다 3-12개로 다양하게 나타났으며, 종간에 서로 차이를 나타내거나, 종내의 지역개체군간에 동일하거나 서로 다른 밴드양상이 관찰되었다(Figs. 1, 2, 3). 13개의 primer로부터 자료분석에 유용한

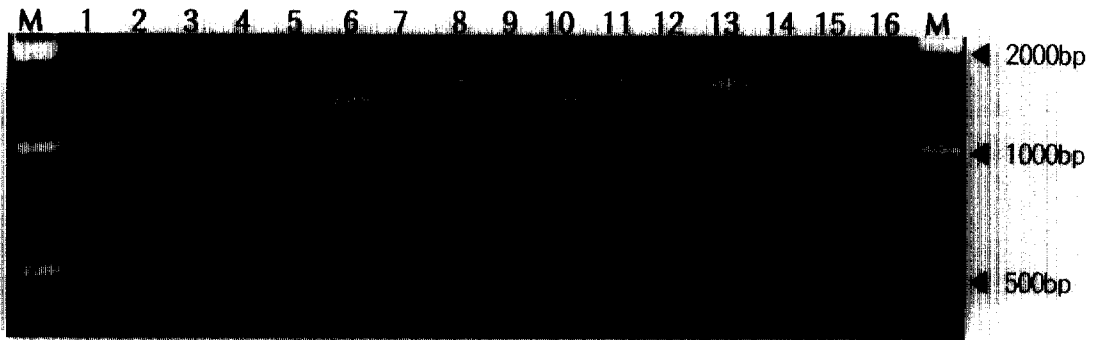


Fig. 1. Electrophoretic photograph of RAPD with the primer No. 1.

M: Molecular Maker

Lane 1-3: *Iris rossii* var. *latifolia* Sim et Kim

Lane 4-5: *Iris rossii* Bak.

Lane 6-7: *Iris rossii* for. *alba* Y. Lee

Lane 8-9: *Iris odaesanensis* Y. Lee

Lane 10-11: *Iris koreana* Nakai

Lane 12-13: *Iris minutoaurea* Makino

Lane 14-15: *Iris ruthenica* var. *nana* Maxim.

Lane 16: *Iris uniflora* var. *caricina* Kitagawa

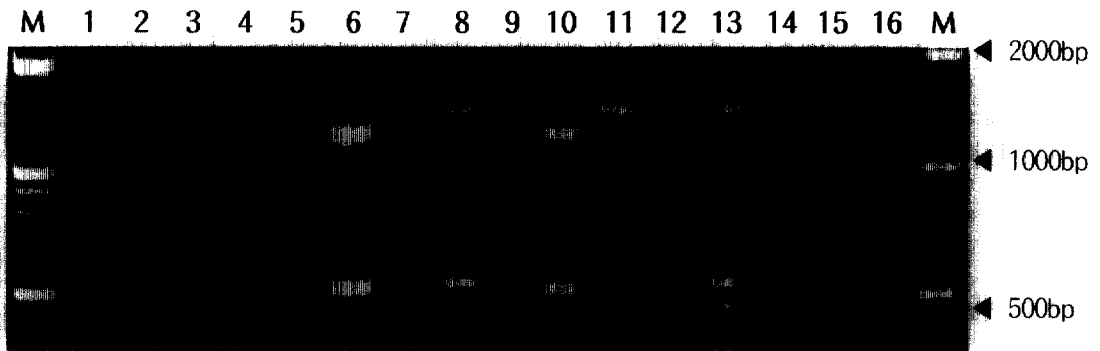


Fig. 2. Electrophoretic photograph of RAPD with the primer No. 76.

M: Molecular Maker

sLane 1-3: *Iris rossii* var. *latifolia* Sim et Kim

Lane 4-5: *Iris rossii* Bak.

Lane 6-7: *Iris rossii* for. *alba* Y. Lee

Lane 8-9: *Iris odaesanensis* Y. Lee

Lane 10-11: *Iris koreana* Nakai

Lane 12-13: *Iris minutoaurea* Makino

Lane 14-15: *Iris ruthenica* var. *nana* Maxim.

Lane 16: *Iris uniflora* var. *caricina* Kitagawa

84개의 scorable RAPD markers가 최종분석에 이용되었고, 이를 근거로 Nei-Li의 유전적 거리지수를 사용하여 비유사도(상사도) 지수행렬을 도출하였다 (Table 4). 도출된



Fig. 3. Electrophoretic photograph of RAPD with the primer No. 87.

M : Molecular Maker

Lane 1-3 : *Iris rossii* var. *latifolia* Sim et Kim

Lane 4-5 : *Iris rossii* Bak.

Lane 6-7 : *Iris rossii* for. *alba* Y. Lee

Lane 8-9 : *Iris odaesanensis* Y. Lee

Lane 10-11 : *Iris koreana* Nakai

Lane 12-13 : *Iris minutoaurea* Makino

Lane 14-15 : *Iris ruthenica* var. *nana* Maxim.

Lane 16 : *Iris uniflora* var. *caricina* Kitagawa

Table 4. Genetic dissimilarity matrix of *Iris* series *Chinensis* based on RAPD analysis by Nei and Li's genetic distance (1979).

	LAT1	LAT2	LAT3	ROS1	ROS2	ALB1	ALB2	ODA1	ODA2	KOR1	KOR2	MIN1	MIN2	RUT1	RUT2	UNI
LAT1	0.000															
LAT2	0.017	0.000														
LAT3	0.030	0.020	0.000													
ROS1	0.055	0.037	0.028	0.000												
ROS2	0.057	0.054	0.042	0.020	0.000											
ALB1	0.056	0.046	0.029	0.032	0.039	0.000										
ALB2	0.067	0.056	0.037	0.039	0.041	0.010	0.000									
ODA1	0.166	0.180	0.122	0.126	0.101	0.132	0.116	0.000								
ODA2	0.212	0.209	0.138	0.154	0.149	0.163	0.143	0.052	0.000							
KOR1	0.206	0.203	0.145	0.136	0.108	0.157	0.138	0.026	0.062	0.000						
KOR2	0.195	0.192	0.128	0.121	0.106	0.139	0.122	0.022	0.054	0.008	0.000					
MIN1	0.199	0.196	0.189	0.157	0.125	0.183	0.160	0.049	0.104	0.026	0.035	0.000				
MIN2	0.218	0.195	0.157	0.124	0.119	0.154	0.136	0.043	0.100	0.051	0.045	0.031	0.000			
RUT1	0.135	0.119	0.119	0.104	0.130	0.090	0.094	0.183	0.253	0.204	0.194	0.198	0.180	0.000		
RUT2	0.186	0.166	0.149	0.119	0.135	0.104	0.109	0.173	0.215	0.175	0.168	0.169	0.157	0.060	0.000	
UNI	0.216	0.212	0.203	0.151	0.177	0.132	0.139	0.195	0.206	0.249	0.209	0.216	0.192	0.157	0.062	0.000

*OTU symbols are same as those in Table 2.

유사도지수행렬을 기초로 UPGMA phenogram이 작성되었다(Fig. 4). 또한, 솔붓꽃과 난장이붓꽃을 비교군으로 설정한 NJ tree를 도출하여 이들의 계통적 유연관계를 분석

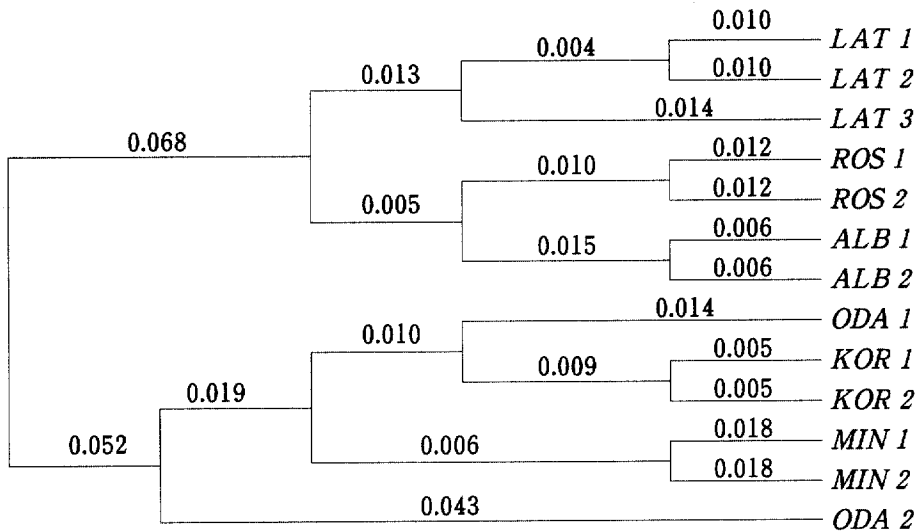


Fig. 4. The UPGMA phenogram of *Iris* series *Chinensis* by RAPD analysis. OTU symbols are same as those in Table 2.

하였다 (Fig. 5).

RAPD분석에 의한 유전적 상사도지수행렬에 의하면, 금붓꽃계열내의 종간에는 2.2-21.8% (평균 9.2%)의 유전적 상이성을 나타내었고, 그중 노랑무늬붓꽃과 노랑붓꽃이 2.2%로 가장 낮았으며, 넓은잎각시붓꽃과 금붓꽃이 21.8%로 가장 높은 것으로 나타났다. 각시붓꽃종집단(각시붓꽃, 넓은잎각시붓꽃, 흰각시붓꽃)과 금붓꽃complex(금붓꽃, 노랑붓꽃, 노랑무늬붓꽃) 사이에는 10.1-21.8% (평균 13.5%)의 차이를 나타내었다. 한편, 각시붓꽃종집단간에는 2.8-6.7%의 낮은 값이 나타나 종내의 분류군간에는 높은 유전적 유연관계를 보여주고 있으며, 금붓꽃complex간에는 2.2-10.4%으로 각시붓꽃종집단에 비해 다소 높은 유전적 거리를 보여 종간에 뚜렷한 불연속성이 관찰되었다. 금붓꽃계열내 지역별개체군간에는 0.8-3.1%의 매우 낮은 값을 보이며, 동일분류군내에서의 높은 유전적 유사성을 나타내었다. 한편, 비교군으로 설정된 솔붓꽃과 난쟁이붓꽃사이에는 평균 15.7%의 상사도를 나타내었고, 비교군과 금붓꽃계열과는 평균 18.3%의 높은 유전적 거리를 나타내었으며, 비교군과 금붓꽃계열의 분류군중에는 흰각시붓꽃과 솔붓꽃간에 9.0%로 가장 낮았고, 노랑붓꽃과 솔붓꽃간에 평균 24.9%로 가장 높은 것으로 관찰되었다.

RAPD 결과를 기초로 UPGMA방법의 유집분석을 수행한 결과, 금붓꽃계열은 각시붓꽃종집단과 금붓꽃complex의 커다란 2개의 유집군으로 구별되었다 (Fig. 4). 각시붓꽃종집단은 각시붓꽃과 흰각시붓꽃으로 구성된 유집군과 넓은잎각시붓꽃유집단과 독립된 하나의 커다란 유집군을 형성하며, 금붓꽃계열내에서 각시붓꽃종집단이 뚜렷한 유전적 불연속

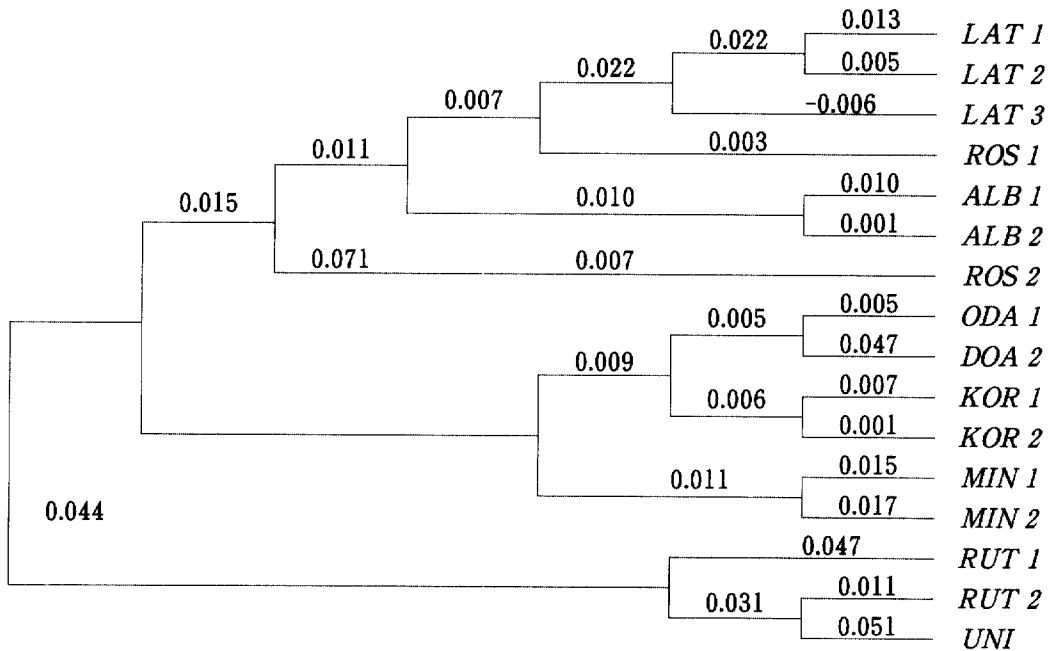


Fig. 5. The NJ tree of *Iris* series *Chinensis* calculated by Nei-Li's genetic distance based on RAPD analysis. OTU symbols are same as those of Table 2.

성을 나타내었다. 금붓꽃complex에서 노랑붓꽃과 금붓꽃의 지역별개체군들은 각각 낮은 수준에서 종집단으로 유집되어, 노랑무늬붓꽃과 함께 커다란 하나의 유집군을 형성하였다. 한편, RAPD 분석결과에 의한 유전적 거리를 기초로 하여 솔붓꽃과 난쟁이붓꽃을 비교군으로 설정한 NJ tree에 의하면, 유집분석에 의한 phenogram과 유사한 결과를 나타내었다. 금붓꽃계열은 비교군과는 분화경로가 명확히 구별되는 단일계통집단군을 형성하였고, 금붓꽃complex의 노랑무늬붓꽃과 노랑붓꽃은 금붓꽃으로부터 분화된 것으로 나타났으며, 각시붓꽃종집단은 금붓꽃complex와 명확히 구별되는 자매군으로 형성되었다.

최근까지 RAPD에 의한 분석방법은 속내 혹은 혈연적으로 가까운 분류군간의 계통학적 유연관계를 입증하는 분류학에 사용되거나, 종간 혹은 종내의 지역군집 및 잡종을 분석하여 그 기원을 추정하는 분자생태학에 많이 이용되고 있는 것으로 보고되어 있다 (Hardrys *et al.*, 1992). 본 연구에서도 RAPD 분석법은 금붓꽃계열의 종집단 및 지역개체군간의 유연관계를 설명하는데에 매우 유용한 것으로 판단되었다. 각시붓꽃종집단중 기본종과는 화피편이 백색인 차이점을 근거로 하여 품종으로 설정된 흰각시붓꽃은 오대산과 대관령의 서부지역에서 처음 발견되었고 (Lee, 1974), 이후 광릉과 조계산 굴목재에 분포하는 것이 알려졌으며, 최근에는 계급을 품종으로 설정한 Lee(1996) 본인에 의해 변종

으로 계급이 변경되기도 하였다. 그러나 전국의 각지에 분포하는 모종인 각시붓꽃의 집단 중에서도 개체간에 화피편의 색변이가 짙은 보라색에서 연보라색 및 백색에 가까운 약한 보라색과 같이 일련의 연속성을 나타내며, 화피편이 백화증을 나타내는 변이체가 자주 관찰되었고, 화피편이 색이외에는 모종과 뚜렷한 차이가 없다. 결국, 흰각시붓꽃은 각시붓꽃의 개체변이일 가능성이 매우 높으며, 향후 흰각시붓꽃에 대한 분류학적 처리가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 넓은잎각시붓꽃은 잎하부가 초상으로 둥글게 말리고 잎의 중부이상 모종에 비해 뚜렷히 넓은 특징으로 변종으로 설정되었고(Sim and Kim, 1992), 충남의 전지역과 전남북 일부지역에 국한되어 분포한다. UPGMA분석에 의하면, 넓은잎각시붓꽃은 각시붓꽃종집단내에서 각시붓꽃과 흰각시붓꽃 유집단과는 독립된 개체군집단으로 유집되는 것으로 나타났다. 한국특산으로 알려져 있는 노랑무늬붓꽃은 노랑붓꽃의 품종으로 처음 보고되었고(Lee and Lee, 1964), 이후 Lee(1974)에 의해 신종 발표되었으며, 이후 Lee(1984)는 노랑붓꽃의 변종으로 취급하는 등 분류군의 계급설정에 논란이 있어왔다(Table 1). 노랑무늬붓꽃은 태백산맥을 따라 오대산에서 주왕산까지 분포하는 것으로 알려져 있으며, 강원과 경북의 산지에 주로 분포하고 있다. NJ tree에 의하면 노랑무늬붓꽃은 노랑붓꽃과 함께 금붓꽃으로부터 분화된 것으로 추정되며, 금붓꽃complex는 모두 독립된 종집단으로 구분되어져, 노랑무늬붓꽃을 종으로 처리한 Lee(1974)의 견해와 일치하였다.

이상의 결과를 종합해보면, 금붓꽃계열은 붓꽃속내 근연분류군으로부터 독립된 계통군으로 판단되고, 금붓꽃계열은 각시붓꽃complex와 금붓꽃complex의 2개의 group으로 구성되며, 이는 금붓꽃계열의 분류학적 위치에 대하여 금붓꽃집단과 각시붓꽃집단을 하나의 계열로 설정해야 한다는 Rodinenko(1961)의 견해보다는 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 나누어야 한다는 Sim(2000)의 의견과 일치하여, 향후 금붓꽃계열에서 각시붓꽃계열을 독립시키는 분류학적 처리가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 또한, 흰각시붓꽃은 각시붓꽃의 개체변이로 추정되고, 노랑무늬붓꽃은 금붓꽃과 노랑붓꽃으로부터 명확히 구분되는 독립된 종으로 생각된다. 비록 본 연구에서는 금붓꽃계열에 속하는 식물중 중국의 동북부에 분포하는 *I. henryi*와 *I. grijsii* 2종이 포함되지는 않았지만, RAPD 분석방법은 전반적인 금붓꽃계열의 종집단 및 지역개체군간의 한계와 유연관계를 설명하고 종의 분류학적 정체성을 확인하는 데에 매우 유용한 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 일부지원(과제번호 PF001302-00)에 의해 수행되었습니다. 본 연구를 위해 많은 도움을 준 김동갑선생과 염지원양, 그리고 귀중한 조언을 해주신 두명의 심사자들에게 감사드립니다.

인 용 문 헌

- AAB (Advanced American Biotechnology). 2000. Universal Software. 1D program for PCR and RFLP. Fullerton, CA.
- Baker, J. G. 1892. Handbook of the Iridaceae. George Bell and Sons. London. Pp. 1-47.
- Chung, T. H. 1956. Korean Flora. Shinjisa, Seoul. 2 (in Korean).
- _____. 1965. Illustrated encyclopedia of flora and fauna of Korea. vol. 5. Tracheophyta. Samhwa. Minist. Educ. (in Korean)
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia Univ. Press. New York. Pp. 1211-1213.
- Diels, L. 1930. Iridaceae in Engler and Prantl. Nat. Pflanzenfam. Aufl. 215a : 463-505.
- Doyle, J. J. and J. A. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19 : 11-15.
- Dykes, W. R. 1913. The genus *Iris*, Cambridge Univ. Press. London.
- Fritsch, P., M. Hanson, C. Spore, P. Pack and L. Reiseberg. 1993. Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related taxa of flowering plants. Plant Molecular Biology 11 : 10-20.
- Goldblatt, P. 1981. Systematics, phylogeny and evolution of *Dietes* (Iridaceae). Ann. Missou. Bot. Garden 68 : 132-153.
- Hardrys, H., M. Balick and B. Schrierwator. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. Mol. Ecol. 1 : 55-63.
- Hutchinson, J. 1959. The Families of Flowering Plants. Vol. II. Monocotyledones. Clarendon Press, Oxford.
- Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of Vascular Plants. Macmillan Publishing Co., New York. Pp. 422-425.
- Lawrence, G. H. M. 1953. A reclassification of the genus *Iris*. Gent. Herb. 8 : 346-371.
- Lee, T. B. 1976. Vascular plants and their uses in Korea. Kwanak Arbor. 1 : 128-129 (in Korean).
- _____. 1980. Illustrated Flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul (in Korean).
- _____. 1984. Outline of Korean endemic plants and their distribution. Kor. Jour. Pl. Tax. 14 : 21-32.
- Lee, W. J. and W. H. Lee. 1964. Report on study of a new species of Iridaceae plants. Seoul Agricultural College : 1-4 (in Korean).
- Lee, Y. N. 1976. Illustrated Flora & Fauna of Korea. Vol. 18. Flowering plants. Samwha Minist. Educ. (in Korean).

- _____. 1974. New taxa on Korean Flora(1). *Kor. Jour. Bot.* 17:33-35.
- _____. 1996. Flora of Korea. Kyohak Pub. Co. Seoul. Pp. 951-956 (in Korean).
- Mathew, B. 1981. *The Iris*. B T Batsford, London.
- Melchior, H. 1964. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Band II. Gebruder Borntrager, Berlin. Pp. 535-538.
- Mori, T. and U. Kajiwara. 1927. A list of plants from Mt. Hakudo. *Jour. Chos. Nat. Hist. Soc.* 4:1-16.
- Nakai, T. 1911. Flora Koreana II. *Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo.* 31:230-234 (in Japanese).
- _____. 1914. Report on the vegetation of Quelpart and Wanto Isl. *Gov. Gen. Chosen. Seoul.* Pp. 1-156 (in Japanese).
- _____. 1952. A Synoptical sketch of Korean Flora. *Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo.* 31:148 (in Japanese).
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 106:283-292.
- Palibin, J. W. 1901. *Conspectus Florae Koreae II.* *Trudy Imp. S-Petersburgsk Bot. Sada.* 19:106-108.
- Rodinenko, G. I. 1961. The genus *Iris*. Academy of Science USSR, Leningrad and Moscow.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Sim, J. K. 1988. A taxonomic study on Iridaceae in Korea. Ph. D. dissertation Graduate School, Korea Univ. Seoul (in Korean).
- _____. 2000. Iridaceae. *In* Monographs of Korean Vascular Plants. Sim, J. K., S. C. Ko, B. U. Oh, W. B. Lee, G. Y. Chung, C. Y. Yoon, J.-H. Kim, C. G. Jang and S. J. Park. Academy Publishing Co. Seoul. Pp. 373-439 (in Korean).
- _____. and Y. S. Kim. 1992. New taxa of Iridaceae from Korea. *Kor. J. Pl. Tax.* 22:1-5.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP-Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) ver. 4.0b8. Academic Press, Sunderland, MA.
- Takhtajan, A. 1969. Flowering Plants-Origin and Dispersal. Smithsonian Inst. Press. Washington. Pp. 236.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer. 1995. DNA Fingerprinting in Plants and Fungi. CRC press, Boca Raton.
- Williams, J., A. Kubelik, J. Rafalski and S. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Reserch* 18:6231-6239.

A Systematic Study of the genus *Iris* series *Chinensis* Lawrence (Iridaceae) based on RAPD analysis

Sim, Jeong Ki and Joo-Hwan Kim^{1*}

(Department of Biology, Mokwon University, Daejeon 302-729, Korea

¹Division of Life Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea)

Abstract

Iris, series *Chinensis*, endemic to Far Eastern Asia (Korea, China, and Japan), is distinguished from related series by the morphological characters such as size of plant, floral axis, perianth, and seed. Six taxa such as *I. minutoaurea*, *I. koreana*, *I. odaesanensis*, *I. rossii*, *I. rossii* for. *alba*, and *I. rossii* var. *latifolia* are distributed in Korea. Korean species of series *Chinensis* are in need of investigations even though there have been many controversals on the taxonomic identities and status of rank. In the present study, we performed the RAPD analysis to delimit the taxa and to investigate the genetic relationships with 16 populations of series *Chinensis* including outgroups. Eighty four scorable RAPD markers were found from the PCR reactions with 13 random oligoprimers and were analyzed by Nei-Li's genetic coefficient. From 5.5 to 21.8 percent of genetic variations were showed among the species of series *Chinensis*. Two major groups (*I. rossii* and *I. minutoaurea* complex) were clustered from the phenogram of UPGMA analysis. From the NJ tree, series *Chinensis* was grouped distinctly from the outgroups, and *I. koreana* and *I. odaesanensis* were diverged from *I. minutoaurea*. Also, *I. rossii* was the sister group of *I. minutoaurea* complex. RAPD analysis was very useful to resolve the taxonomic problems, to delimit the taxa and to discuss the taxonomic relationships among the species of *Iris* series *Chinensis*.

Key words: *Iris* series *Chinensis*, RAPD, UPGMA, NJ, relationships

*Corresponding author: Phone: +82-42-280-2434, FAX: +82-42-285-2434

e-mail: kimjh@dju.ac.kr