

## RAPD에 의한 한국산 대극속(*Euphorbia* L., Euphorbiaceae) 식물의 분류학적 유연관계

김주환<sup>1\*</sup> · 김동갑<sup>1</sup> · 오병운<sup>2</sup> · 정규영<sup>3</sup> · 박기룡<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>대전대학교 생명과학부, <sup>2</sup>충북대학교 생명과학부,

<sup>3</sup>안동대학교 생명자원과학부, <sup>4</sup>경남대학교 생명과학부)

한국산 대극속 12분류군을 대상으로 기존의 속내분류체계에 대한 검토와 속내 종집단간의 계통학적 유연관계를 논의하고자 본 연구를 수행하였다. 12분류군 21집단을 대상으로 한 RAPD 분석을 실시하여 14개의 oligoprimer를 이용한 효소중합반응에서 220개의 유효한 polymorphic band가 확인되었다. Nei-Li의 거리지수를 이용한 분석결과, *Esula*아속의 종간에는 8.4-40.2%의 유전적 상이성을 나타내었고, *Esula*아속내의 *Esula*절과 *Tithymalus*절사이에는 16.9-40.2%의 차이를 나타내었으며, *Chamaesyce*아속의 종간에는 10.5-26.4%의 차이를 보였다. 한국산 대극속 식물의 종간 집단사이에는 2.1-10.6%로 종내의 지역집단간에는 높은 유전적 유연관계가 있는 것으로 나타났다. UPGMA tree와 NJ tree에 의하면 한국산 대극속은 땅빈대아속 식물군(group2), 흰대극, 섬흰대극, 개감수로 구성된 흰대극아절집단(group3)과 대극, 두메대극, 암대극, 낭독, 붉은대극, 등대풀(group1)로 구성된 3개의 뚜렷한 유집군으로 구성되었고, 이는 현재의 대극속의 속내분류체계에 다소 인위적인 설정이 있음을 나타내고 있다. 또한, 등대풀의 분류학적 위치에 대한 재검토가 필요한 것으로 판단되고, 흰대극아절은 단계통군을 나타내는 자연분류군인 것으로 생각된다. RAPD 분석방법은 한국산 대극속의 속내집단 및 지역개체군간의 한계와 유연관계를 검토하는 데에 매우 유용한 것으로 생각된다.

주요어 : 대극속, RAPD, UPGMA, NJ, 유연관계

약 2,100종 10속을 포함하는 대극족(tribe Euphorbieae)은 1개의 수술로 구성된 많은 수꽃이 중앙의 암꽃을 둘러싼 형태로, 모든 꽃은 축소되어 술잔처럼 생긴 배상화서(cyathium)를 형성하며, 배상의 융합된 포의 정상에는 선체가 달려있고, 열매는 쉽게 터지는 삭과로서 3개의 종자가 들어있는 종들로 구성된 피자식물내의 가장 큰 분류군 중의

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

하나이다(Oudejans, 1992; Webster, 1994). 대극속(*Euphorbia* L.)은 전세계에 1,500-2,000여종이 자라고(Croizat, 1940; Wheeler, 1943; Melchior, 1964; Oudejans, 1992; Webster, 1994), 한국에는 약 20분류군이 분포하는 것으로 알려져 있다(Lee, 1976; Lee, 1995).

피자식물에서 가장 큰 속으로 알려져 있는 대극속은 최초로 Linnaeus(1753)에 의해 한계가 설정된 이래, 전세계적으로 매우 다양한 분류군이 존재함에도 불구하고, 초기화서의 형태, 식물의 습성 및 전체의 모양과 같은 소수의 인지형질을 기초로 분류되고 있기 때문에, 본 속에 대한 계통학적 가설의 부족, 지역적 식물상의 기재에 있어서 심각한 명명법의 불일치 등으로 인하여 만족할 만한 속내 분류체계가 설정되지 못하고 있다(Croizat, 1940, 1942, 1972; Wheeler, 1943).

한국산 대극속에 관한 연구로는 Palibin(1898)이 *E. esula*, *E. esula* var. *latifolia*, *E. helioscopia*, *E. lunulata* 및 *E. pekinensis*의 4종 1변종을 처음 보고하였고, Nakai(1911)는 상기한 5분류군을 포함하여 *E. humifusa*, *E. lucorum*, *E. lucorum* var. *polyradiata*, *E. lucorum* var. *simplicior*, *E. lucorum* var. *glabrata*, *E. jolkini*, *E. sieboldiana* 등 8종 4변종에 대한 검색표와 함께 한국산 대극속을 정리한 바 있다. 이후 Mori(1921)는 *E. lucorum*의 변종들을 제외하고, *E. fauriei*, *E. pallasii*의 2종을 추가하여 총 11분류군으로 한국산 대극속을 기재하였다. 그러나 이후 한국산 대극속에 대한 기재는 종의 누락, 학명의 변경, 종이하 분류군의 추가 및 속명의 변경 등에 의해 매우 혼란하게 되었고(Chung *et al.*, 1937; Nakai, 1952), 이러한 양상은 이후 도감 및 명감 등에 그대로 반영되어 현재까지도 분류군의 정확한 한계설정의 부재와 학명의 오용 등 많은 분류학적 문제점을 보이고 있다(Chung, 1965; Park, 1974; Lee, 1976, 1980; Lee, 1995; Lee, 1996).

상기한 바와 같이 한국산 대극속 식물에 대한 많은 문제점이 제기되고 있음에도 불구하고, 본 속에 대한 분류학적 연구결과는 Park and Lee(1988)의 화분학적 연구, Park *et al.*(1999a, 1999b)의 붉은대극의 형태적 및 유전적 분화에 대한 연구와 두메대극의 유연관계에 관한 연구 등이 전부이며, Ahn(1994)은 대극과 붉은대극의 phenol성 화합물에 대한 연구를 수행한 바 있다. 한편 최근 Chung *et al.*(2002)은 한국산 대극속 13분류군에 대한 해부학적 연구를 수행하여 그 결과의 분류학적 유용성을 논의한 바 있다.

최근 계통분류학에 있어서 근연분류군간의 유전적 유연관계분석에 대한 요구가 증대됨에 따라, DNA fingerprinting 방법을 이용하여 핵산의 다형현상(polymorphism)을 분석함으로써 유전형(genotype)의 기본적 차이를 결정하는 여러가지 방법들이 개발되어 사용되고 있는데(Weising *et al.*, 1995), 그중 최근 식물계통분류학에서 가장 많이 사용되는 대표적인 것이 RAPD(Williams *et al.*, 1990)이다(Kwon and Choi, 2001; Sim and Kim, 2002). RAPD 분석은 간단한 10-mer primer를 가지고 미량의 DNA로부터 PCR을 이용하여 많은 양의 분자유전학적 표지인자를 손쉽게 검색할 수 있는 장점을 가지고

있다.

따라서 본 연구에서는, 한국산 대극속 식물의 RAPD에 의한 분자유전학적 자료를 기초로, 대극속 식물군의 분류학적 한계 및 집단간의 유전적 다양성을 파악하여, 속내분류체계의 타당성을 논하며, 대극속 분류군들의 정확한 종분류와 분류군간의 유연관계를 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구의 재료는 1997년 5월부터 2001년 10월까지 본인 등이 직접 채집한 것을 사용하였고, 한국산 대극속에 속한 2아속 12분류군의 21집단을 연구대상으로 하였으며, 본 연구에 사용된 재료의 증거표본은 대전대학교 생명과학부 식물표본실(TUT), 충북대학교 생물학과 표본실(CBU) 및 경남대학교 생명과학부 표본실(KNUH)에 보관하였다(Table 1).

### 2. 방법

#### (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 막자사발에 액체질소를 넣어 분말로 파쇄하여 -70℃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- $\beta$ -mercaptoethanol이 첨가된 15ml의 extraction buffer(2% CTAB; 100mM Tris, pH 8.0; 50mM EDTA, pH 8.0; 500mM NaCl)에 넣은 후 65℃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℃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

**Table 1.** Materials and collection data of *Euphorbia* L. in Korea (System adopted from Hurusawa, 1954).

Taxa (Korean Name)	Localities and Voucher Specimens
<b>Subgenus <i>Esula</i></b>	
<b>Sect. <i>Helioscopiae</i></b>	
<i>Euphorbia helioscopia</i> L. (등대풀)	Bomok-dong, Jeju-do (1) (Kim & Tho 2001-0002, Mar. 30, 2001, TUT) Daejeong, Jeju-do (2) (Kim & Tho 2001-0012, Mar. 31, 2001, TUT)
<b>Sect. <i>Tithymalus</i></b>	
<b>Subsect. <i>Esulae</i></b>	
<i>Euphorbia esula</i> L. (흰대극)	Gariwangsan, Gangwon-do (1) (Oh & Kim 2001-0002, Apr. 22, 2001, *CBU.) Deokjeokdo, Incheon-si (2) (Chung 110, Mar. 2, 2001, KNUH) Cheongpodae beach, Chungcheongnam-do (3) (Chung 115, June 10, 2001, KNUH)
<i>Euphorbia octoradiata</i> Leveille et Vaniot (섬흰대극)	Yongmeori, Jeju-do (1) (Chung 102, July 1, 1997, KNUH) Sanbongsan, Jeju-do (2) (Chung 200, Mar. 31, 2001, KNUH)
<i>Euphorbia sieboldiana</i> Morr. et Decne. (개감수)	Geojedo, Gyeongsangnam-do (1) (Park 1025, Sept. 16, 2000, KNUH) Biseonda, Seoraksan, Gangwon-do (2) (Tho & Kim 2001-0001, Apr. 22, 2001, TUT)
<b>Subsect. <i>Galarrhoei</i></b>	
<i>Euphorbia jolkini</i> Boiss. (암대극)	Bomok-dong, Jeju-do (1) (Kim & Tho 2001-0001, Mar. 30, 2001, TUT) Sehwa, Jeju-do (2) (Kim & Tho 2001-0011, Mar. 31, 2001, TUT)
<i>Euphorbia pekinensis</i> Rupr. (대극)	Deokrimsan, Yeonggwang, Jeollanam-do (1) (Park 101, July 14, 1997, KNUH) Mokpo-si, Jeollanam-do (2) (Park 120, Sept. 2000, KNUH)
<i>Euphorbia fauriei</i> Leveille et Vaniot (두메대극)	Hallasan, Jeju-do (Tho & Kim 2001-0022, June 2, 2001, TUT)

Table 1. Continued.

Taxa (Korean Name)	Localities and Voucher Specimens
<i>Euphorbia ebracteolata</i> Hayata (붉은대극)	Pungdo, Chungcheongnam-do (1) (Park 1005, Mar. 28, 1997, *KNUH) Mandeoksan, Jeonju-si, Jeollanam-do (2) (Park 1011, May 4, 1998, KNUH) Baekamsa, Jeollanam-do (3) (Park 1010, Mar. 1998, KNUH)
Subsect. <i>Verticillatae</i>	
<i>Euphorbia pallasii</i> Turcz. (낭독)	Peking, China (Oh 2001-0002, May 28, 2001, CBU)
Subgenus <i>Chamaesyce</i>	
<i>Euphorbia humifusa</i> Willd. (땅빈대)	Jeju-do (Oh & Kim 2000-0001, Sept. 22, 2001, CBU)
<i>Euphorbia maculata</i> L. (큰땅빈대)	Andong-si, Gyeongsangbuk-do (Kim 2001-0001, Sept. 18, 2001, TUT)
<i>Euphorbia supina</i> Rafin. (애기땅빈대)	Sogeumgang, Odaesan, Gangwon-do (Oh & Kim 2001-0011, Oct. 2, 2001, CBU)

\*CBU : Chungbuk National University Herbarium,

\*KNUH : Kyeongnam University Herbarium

cycler에서 수행되었다. PCR반응은 전체 25 $\mu$ l 부피로 행하며, 10-50ng DNA, 1.5unit *Taq* DNA Polymerase, 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% gelatin, 0.5M primer 및 200M의 각 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 등이 포함되어 있다. RAPD PCR에 사용되는 primer는 NAPS(University of British Columbia)에서 제작된 No. 1-100의 10-mer oligoprimer를 이용하였으며, 다음의 PCR반응에 사용되었다. ① 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 pre-denaturation, ② 94 $^{\circ}$ C에서 1분간, 45 $^{\circ}$ C에서 2분간, 72 $^{\circ}$ C에서 2분으로 구성된 amplifying cycle을 35회 반복, ③ 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 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. PCR을 통하여 합성된 DNA product는 10 $^{-4}$ % EtBr이 포함된 1.5% Agarose gel로 전기영동하여 UV-illuminator상에서 band를 확인한 후, Universal Software(AAB, 2000)의 1D-PCR program을 이용하여 정확한 band의 위치를 결정하였다.

**Table 2.** The code and sequences of primer analysed, total numbers of bands and fragment size which were used in this study.

Primer	Sequence (5' 3')	Total no. of bands	Fragment size range(bp)
NAPS-04	CCT GGG CTG G	21	300-2000
NAPS-06	CCT GGG CCT A	19	300-2000
NAPS-12	CCT GGG TCC A	14	300-1600
NAPS-13	CCT GGG TGG A	15	400-1900
NAPS-30	CCG GCC TTA G	15	350-1600
NAPS-71	GAG GGC GAG G	16	200-1900
NAPS-72	GAG CAC GGG A	13	350-2100
NAPS-74	GAG CAC CTG A	13	350-1900
NAPS-77	GAG CAC CAG G	21	300-1580
NAPS-82	GGG CCC GAG G	9	600-1600
NAPS-91	GGG TGG TTG C	13	300-1300
NAPS-95	GGG GGG TTG G	16	300-1300
NAPS-97	ATC TGC GAG C	16	400-1600
NAPS-98	ATC CTG CCA G	19	300-1300
Total	-	220	-
Mean/primer		15.7	

### (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 기초로한 Neighbor-Joining tree(NJ tree, Saitou and Nei, 1987)를 작성하여 각 OTU간의 유연관계를 검토하였다.

## 결과 및 고찰

본 연구에 사용된 random primer는 총 100개이었으며, 그 중 primer screening을 통해 반응이 일어난 primer는 32개였다. 본 실험에서 반응이 일어난 32개의 primer는 대부분 G+C content가 매우 높았으며(60-80%), 그 중 3번 반복실험을 통해 분류군 전체에서 동일한 재현성을 보이는 반응이 일어난 것은 14개였다(Table 2). PCR과정을 통하여 증폭된 RAPD 절편들은 200bp에서 2,100bp 사이의 구간에서 관찰되었고, RAPD

**Fig. 1.** The electrophoretic photograph of RAPD with NAPS-72.

M: Molecular Maker

Lane 1: *Euphorbia fauriei* Leveille et Vaniot

Lane 2: *E. humifusa* Willd.

Lane 3: *E. maculata* L.

Lane 4: *E. supina* Rafin.

Lane 5-6: *E. helioscopia* L.

Lane 7-8: *E. sieboldiana* Morr. et Decne.

Lane 9-10: *E. pekinensis* Rupr.

Lane 11-13: *E. ebracteolata* Hayata

Lane 14, 16, 17: *E. esula* L.

Lane 15, 20: *E. octoradiata* Leveille et Vaniot

Lane 16-17: *E. jolkini* Boiss.

Lane 21: *E. pallasii* Turcz.

**Fig. 2.** The electrophoretic photograph of RAPD with NAPS-74.

The lanes are corresponded to those of Figure 1.

**Fig. 3.** The electrophoretic photograph of RAPD with NAPS-78.

The lanes are corresponded to those of Figure 1.

marker의 수는 각 primer마다 9-21개로 다양하게 나타났으며, 종간에 서로 차이를 나타내거나, 종내의 지역개체군간에 동일하거나 서로 다른 밴드양상이 관찰되었다(Figs. 1, 2, 3; Table 2). 14개의 primer로부터 자료분석에 유용한 220개의 RAPD markers가 최종 분석에 이용되었고, 이를 근거로 Nei-Li의 유전적 거리지수를 사용하여 비유사도(상사도)지수행렬을 도출하였다(Table 3). 또한, 도출된 유사도지수행렬을 기초로 UPGMA phenogram이 작성되었고, 학자에 따라(Webster, 1967) 다른 속으로 구분되기도 하는 땅빈대아속(subgen. *Chamaesyce*)을 비교군으로 설정한 NJ tree를 도출하여 이들의 계통학적 유연관계를 검토하였다.

RAPD분석에 의한 유전적 상사도지수행렬에 의하면, *Esula*아속의 종간에는 8.4-40.2%의 유전적 상이성을 나타내었고, 그중 두메대극과 섬흰대극의 인천 덕적도집단간이 8.4%로 가장 낮았으며, 두메대극과 등대풀의 제주도 대정 집단 간이 40.2%로 가장 높은 것으로 나타났다. *Esula*아속내의 *Esula*절과 *Tithymalus*절사이에는 16.9-40.2%의 차이를 나타내었으며, *Tithymalus*절의 등대풀과 낭독사이에는 28.8%의 차이를 보였고, *Esula*절내의 분류군들사이에는 8.4-39.3%의 상사도를 나타냈다. 또한, *Chamaesyce*아속의 종간에는 땅빈대와 애기땅빈대사이에 10.5%, 땅빈대와 큰땅빈대간에 26.4%, 큰땅빈대와 애기땅빈대간에 19.5%의 차이를 보였다. 한편, 취급된 대극속 식물의 종간 집단사이에는 비교적 낮은 유전적 상사도를 보였는데, 붉은대극의 종집단간에는 5.3-11.7%(평균 9.0%), 섬흰대극에서는 4.6-16.0%(평균 10.6%), 암대극에서는 2.3%, 개감수에서는 5.5%, 대극에서는 3.3%, 등대풀에서는 2.1%로 나타났고, 이는 전반적으로 속내의 아속간, 절간 및 종간의 상사도에 비해 매우 적은 값을 보이며 종내의 지역집단간에는 높은 유전적 유연관계가 있음을 나타내고 있다.

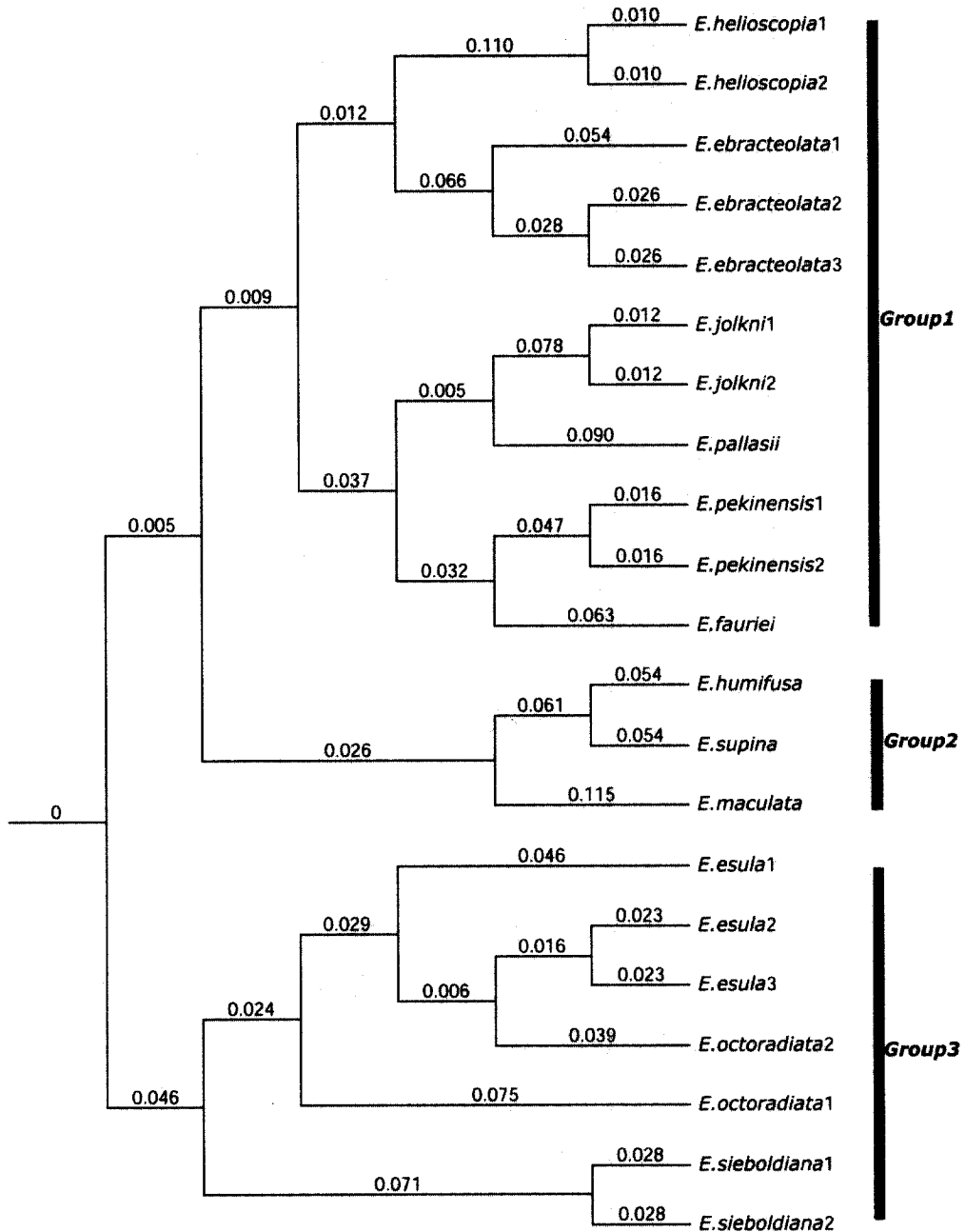
RAPD 결과를 기초로 UPGMA방법의 유집분석과 NJ tree분석을 수행한 결과, 한국산 대극속 식물은 흰대극, 섬흰대극 및 개감수집단(group 3)과 땅빈대아속집단(group 2), 대극을 포함한 나머지집단(group 1)의 커다란 3개의 유집군으로 구별되었다(Fig. 4). Group 1은 등대풀절(sect. *Helioscopiae*), 낭독아절(subsect. *Verticillatae*), 대극아절(subsect. *Galarrhoei*)을 포함하며, group 3은 흰대극과 섬흰대극, 개감수집단이 포함된 흰대극아절(subsect. *Esulae*) 유집군이고, group 2는 땅빈대아속(subgen. *Chamaesyce*) 유집군이었다. 한편, RAPD 분석결과에 의한 유전적 거리를 기초로 하여 땅빈대아속을 비교군으로 설정한 NJ tree에 의하면, 유집분석에 의한 phenogram과는 다소 상이한 결과를 나타내었다. 우선 UPGMA tree에서 Group I으로 유집되었던 흰대극, 섬흰대극 및 개감수집단군과 등대풀로부터 분지된 붉은대극, 암대극, 낭독, 대극, 두메대극 집단군은 각각 명확히 구별되는 분화경로를 나타내었으며, *Esula*아속은 비교군으로부터 뚜렷히 독립된 집단군을 형성하였다. 또한, *Esula*아속내의 집단에서 개감수집단은 흰대극과 가지대극집단의 자매군을 형성하였고, 등대풀집단은 붉은대극, 암대극, 낭독, 대극, 두메대극



Table 3. Genetic dissimilarity matrix calculated by Nei-Li's genetic distance coefficient based on RAPD analysis.

	<i>E. heliothecopis</i>	<i>E. jobleri</i>	<i>E. pekimensis1</i>	<i>E. pekimensis2</i>	<i>E. fauriei</i>	<i>E. ebraeoides1</i>	<i>E. ebraeoides2</i>	<i>E. ebraeoides3</i>	<i>E. pallasi</i>	<i>E. esulii</i>	<i>E. esulii2</i>	<i>E. esulii3</i>	<i>E. octonidians1</i>	<i>E. octonidians2</i>	<i>E. octonidians3</i>	<i>E. sibiridians1</i>	<i>E. sibiridians2</i>	<i>E. humifusa</i>	<i>E. maculata</i>	<i>E. suzuna</i>	
<i>E. heliothecopis</i>	-																				
<i>E. heliothecopis2</i>	0.0209	-																			
<i>E. jobleri</i>	0.2984	0.2632	-																		
<i>E. jobleri2</i>	0.2767	0.2582	0.0233	-																	
<i>E. pekimensis1</i>	0.2303	0.2454	0.1720	0.1700	-																
<i>E. pekimensis2</i>	0.2110	0.2729	0.1547	0.1702	0.0330	-															
<i>E. fauriei</i>	0.4019	0.3620	0.2422	0.2539	0.1011	0.1527	-														
<i>E. ebraeoides1</i>	0.2473	0.2639	0.2340	0.2422	0.2009	0.1861	0.3116	-													
<i>E. ebraeoides2</i>	0.2073	0.2340	0.2358	0.2833	0.2218	0.2237	0.3139	0.1000	-												
<i>E. ebraeoides3</i>	0.2284	0.2491	0.2164	0.2390	0.2606	0.2473	0.3389	0.1167	0.0528	-											
<i>E. pallasi</i>	0.2879	0.2879	0.1683	0.1901	0.1607	0.1914	0.1976	0.2544	0.2747	0.2688	-										
<i>E. esulii</i>	0.2435	0.2786	0.2620	0.2769	0.3642	0.3266	0.3389	0.2833	0.2647	0.2585	0.2694	-									
<i>E. esulii2</i>	0.3163	0.3163	0.3509	0.3209	0.3658	0.3930	0.2946	0.2997	0.2992	0.2914	0.3365	0.0841	-								
<i>E. esulii3</i>	0.3067	0.3063	0.2833	0.2821	0.3462	0.3381	0.2391	0.2638	0.2980	0.2611	0.2725	0.0462	0.0462	-							
<i>E. octonidians1</i>	0.3361	0.3361	0.2464	0.2611	0.2891	0.3129	0.3209	0.2475	0.2497	0.2429	0.2541	0.1437	0.1519	0.1569	-						
<i>E. octonidians2</i>	0.2504	0.2688	0.2914	0.3163	0.3209	0.3442	0.2671	0.2959	0.2747	0.2475	0.2401	0.0940	0.0686	0.0680	0.1430	-					
<i>E. sibiridians1</i>	0.2298	0.2147	0.3391	0.3438	0.3163	0.2894	0.3209	0.2914	0.3209	0.3462	0.2981	0.1793	0.2013	0.2233	0.1912	0.1812	-				
<i>E. sibiridians2</i>	0.2435	0.2145	0.2905	0.3003	0.2422	0.3639	0.2797	0.2833	0.2647	0.3620	0.2504	0.1819	0.2025	0.2223	0.2246	0.1711	0.0550	-			
<i>E. humifusa</i>	0.2171	0.2725	0.2945	0.3288	0.1962	0.2214	0.2217	0.3043	0.2797	0.3711	0.2658	0.2992	0.3753	0.2776	0.4034	0.2391	0.3125	0.2284	-		
<i>E. maculata</i>	0.2694	0.2684	0.2786	0.3532	0.2981	0.2767	0.3711	0.3599	0.4019	0.3221	0.2833	0.2725	0.3153	0.2772	0.3067	0.2845	0.2563	0.2520	0.2644	-	
<i>E. suzuna</i>	0.1954	0.2658	0.2676	0.2833	0.2668	0.2694	0.2868	0.2338	0.2338	0.2147	0.1979	0.2647	0.2722	0.2127	0.3209	0.2199	0.2637	0.2647	0.1075	0.1947	-

\* Find the Abbreviation in Table 1



**Fig 4.** The UPGMA phenogram of Korean *Euphorbia* based on the results of RAPD analysis.

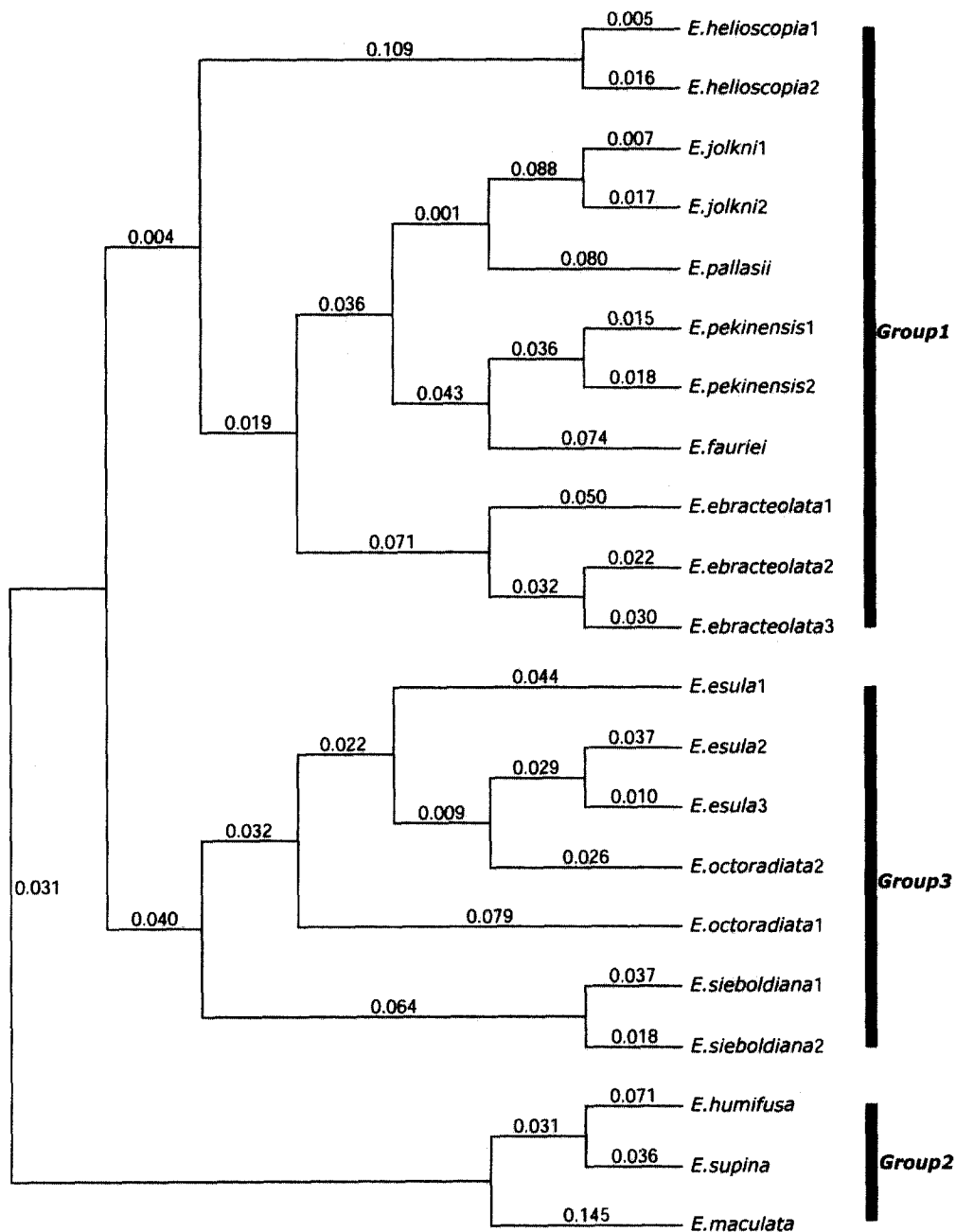


Fig. 5. The Neighbor-Joining tree of Korean *Euphorbia* based on the results of RAPD analysis.

집단군의 자매군으로 나타났다(Fig. 5).

UPGMA phenogram과 NJ tree를 비교해보면, 등대풀의 위치에 있어 큰 차이를 나타내고 있다. 즉, UPGMA phenogram에서는 붉은대극과 가까운 집단으로, NJ tree에서는 독립된 집단으로 group 1의 기저에 위치한다. Hurusawa(1954)는 등대풀을 독립된 등대풀절로 처리하여 흰대극절(sect. *Esula*)과 분리시킨 바 있으나, UPGMA phenogram의 경우, 흰대극절의 붉은대극과 높은 유연관계를 보여주고 있으며, NJ tree에서는 등대풀이 흰대극절의 붉은대극, 암대극, 대극, 두메대극 및 등대풀절의 낭독으로 구성된 집단군의 독립된 자매군으로 형성되고 있다. 이는 NJ tree에서는 등대풀을 독립된 절로 분리시킨 Hurusawa(1954)의 속내 분류체계와 일치하지만 UPGMA phenogram에서는 Hurusawa(1954)의 분류학적 처리를 지지하지 않고 있다. 한편, UPGMA tree와 NJ tree의 공통점으로는 흰대극절 중에서 대극아절(subsect. *Galarrhoei*)과 낭독아절(subsect. *Verticillate*)의 유연관계가 매우 높은 것으로 나타났으며, 흰대극절내 흰대극아절(subsect. *Euesulae*)에 속하는 흰대극, 섬흰대극, 개감수는 하나의 유집군을 형성함으로써 흰대극아절이 자연분류군임을 지지하고 있다. 또한, 흰대극은 섬흰대극과 하나의 집단을 형성함으로써 향후 흰대극과 섬흰대극의 분류학적 한계에 대한 검토가 필요한 것으로 생각되며, 대극아절에 속하는 암대극은 동일 아절의 두메대극, 암대극 보다는 낭독아절의 낭독과 더 높은 유연관계를 나타내어 낭독아절의 분류학적 위치의 타당성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. Park *et al.*(1999b)은 형태적 형질에 의한 두메대극의 계통학적 연구에서 두메대극이 대극, 암대극과 유연관계가 높으며 그중 대극은 두메대극과 자매군의 관계를 나타낸다고 하였다. 본 연구에서도 두메대극은 대극과 가장 유연관계가 높고 암대극, 낭독과도 높은 유연관계를 보여주고 있는데, 이는 엽병의 존재유무와 화분표면의 형태 등이 흰대극절의 분류에 있어서 매우 유용한 형질임을 나타내고 있다. 또한, Chung *et al.*(2002)은 해부학적 형질을 검토하면서 주맥부의 돌출양상, 유관속초의 존재유무, 엽병의 횡단면, 자방벽의 구조, 배주의 형태 등이 한국산 대극속을 분류하는데 유용한 형질이며 특히 땅빈대아속은 상기한 형질에 의해 흰대극아속과 뚜렷히 구분된다고 하였다. 그러나, 본 연구 결과 땅빈대아속은 독립된 유집군을 형성하며 흰대극, 섬흰대극, 개감수로 구성된 흰대극아절과는 뚜렷한 차이점을 나타내지만, 그외의 붉은대극, 등대풀, 암대극, 낭독, 대극, 두메대극과 유연관계가 높은 것으로 나타내어 땅빈대아속을 독립된 속으로 처리한 Webster(1967)의 견해와는 일치하지 않았기 때문에 앞으로 계속된 형질의 보완연구를 통하여 땅빈대아속의 분류학적 위치에 대한 검토가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해보면, 한국산 대극속은 흰대극, 섬흰대극, 개감수로 구성된 흰대극아절집단, 대극, 두메대극, 낭독, 암대극, 붉은대극, 등대풀로 구성된 집단, 그리고 땅빈대아속군으로 3개의 group으로 구성되었고, 이는 현재의 대극속의 속내분류체계에 다소

인위적인 설정이 있음을 나타내고 있으며, 등대풀의 분류학적 위치에 대한 재검토가 필요한 것으로 판단되고, 흰대극아절은 자연분류군인 것으로 생각된다. 한편, RAPD 분석방법은 전반적인 한국산 대극속의 속내집단 및 지역개체군간의 한계와 유연관계를 설명하는데 매우 유용한 것으로 생각된다.

## 사 사

본 연구는 2000년도 한국과학재단 목적기초연구(R01-2000-00067) 지원으로 수행되었기에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

- AAB (Advanced American Biotechnology). 2000. Universal Software. 1D program for PCR and RFLP. Fullerton, CA.
- Ahn, B. T. 1994. Chemical and taxonomical study on the Korean Euphorbiaceae plants. Ph.D. dissertation, Chungbuk Nat. Univ., Cheongju (in Korean).
- Chung, G., B. Oh, K. Park, J.-H. Kim, and H. Kwon. 2002. Taxonomic study of Korean *Euphorbia* L. by anatomical characters. Kor. J. Pl. Tax. 32:77-94.
- Chung, T. H. 1965. Illustrated Encyclopedia of Flora and Fauna of Korea. vol. 5. Tracheophyta. Samhwa. Minist. Educ. (in Korean).
- \_\_\_\_\_, P.S. To, D. B. Lee and F. J. Lee. 1937. Nomina Plantarum Koreanum. Chos. Nat. Hist. Inst. (in Korean).
- Croizat, L. 1940. New and critical Euphorbiaceae from eastern tropical Asia. Jour. Arn. Arb. 21:490-510.
- \_\_\_\_\_. 1942. Peculiarities of the inflorescence in the Euphorbiaceae. Bot. Gaz. 103:771-779.
- \_\_\_\_\_. 1972. An introduction of the subgeneric classification of *Euphorbia* L. with stress on the South African and Malagasy species III. Webbia 27:1-221.
- 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.
- Hurusawa, I. 1954. Eine nochmalige Durchsicht des herkommlichen systems der Euphorbiaceen im weiteren Sinne. Journ. Fac. Sci. Univ. Tokyo III. Bot. 6:209-342.
- Kwon, S. and B. Choi. 2001. Taxonomy of Korean endemic species of *Vicia hirticalycina* based on morphological and genetic variations. Kor. J. Pl.

- Tax. 31:15-31 (in Korean).
- Lee, T. B. 1976. Vascular plants and their uses in Korea. Kwanak Arboretum, Seoul. (in Korean).
- \_\_\_\_\_. 1980. Illustrated Flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul (in Korean).
- Lee, W. T. 1995. Lineamenta Florae Koreae. Academy Press, Seoul (in Korean).
- Lee, Y. N. 1976. Illustrated Flora & Fauna of Korea. Vol. 18. Flowering plants. Samwha Minist. Educ., Seoul (in Korean).
- \_\_\_\_\_. 1996. Flora of Korea. Kyohaksa, Seoul (in Korean).
- Linnaeus, C. 1753. Species Plantarum. ed. 1. Stockholm.
- Ma, J. S. and C. Y. Wu. 1992. A synopsis of Chinese *Euphorbia* L. s.l. Collect. Bot. (Barcelona) 21:97-120.
- Melchior, H. 1964. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Band II. Gebruder Borntrager, Berlin.
- Mori, T. 1921. An Enumeration of Plants Hitherto known from Corea. Gov. Chos. (in Japanese).
- Nakai, T. 1911. Flora Koreana II. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 31:1-573 (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.
- Oudejans, R. C. H. M. 1992. Current research in the taxonomy of genus *Euphorbia* L. s.l. (Euphorbiaceae). Collect. Bot. (Barcelona) 21:5-8.
- Palibin, J. 1898. Conspectus Florae Koreae I. Bull. Acad. Imp. Sci. St. Petersburg 17:1-135.
- Park, K. and S. Lee. 1988. A palynotaxonomic study of the Korean Euphorbiaceae. Kor. J. Pl. Tax. 18:69-94.
- \_\_\_\_\_, B. Ahn and K. Lee. 1999a. Reexamination of sectional classification in Far Eastern *Euphorbia* subgenus *Esula* (Euphorbiaceae) using morphological and phenolic data. Pl. Bio. 42:199-204.
- \_\_\_\_\_, D. Chung and B. Lee. 1999b. Phylogenetic relationships of *Euphorbia fauriei* within the Korean *Euphorbia* subgenus *Esula*. Journ. of Kyeongnam Univ. Natural Inst. 13:87-98 (in Korean)
- Park, M. K. 1974. Keys to the herbaceous plant in Korea (Dicotyledoneae). Cheongumsa, Seoul (in Korean).
- 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. and J.-H. Kim. 2002. A systematic study of the genus *Iris* series *Chinensis* Lawrence (Iridaceae) based on RAPD analysis. Kor. J. Pl. Tax. 32: 95-108.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP-Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) ver. 4.0b8. Academic Press, Sunderland, MA.
- Webster, G. L. 1967. The genera of Euphorbiaceae in the southeastern United States. J. Arnold Arbor. 48: 303-430.
- Webster, G. L. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 81: 33-144.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer. 1995. DNA fingerprinting in Plants and Fungi. CRC press.
- Wheeler, L. C. 1943. The genera of living Euphorbieae. Amer. Midl. Natur. 30: 456-503.
- 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 Relationship of the Korean *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) based on RAPD analysis

Kim, Joo-Hwan<sup>1\*</sup>, Dong-Kap Kim<sup>1</sup>, Byoung-Un Oh<sup>2</sup>,  
Gyu Young Chung<sup>3</sup> and Ki-Ryong Park<sup>4</sup>

<sup>1</sup>(Division of Life Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea;

<sup>2</sup>School of Life Science, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea;

<sup>3</sup>School of Bioresource Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea; <sup>4</sup>Department of Biology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea)

### Abstract

We examined the infrageneric system and discuss the genetic relationships with 12 taxa of *Euphorbia* in Korea using the RAPD. Two hundred twenty scorable RAPD markers were found from the PCR reactions with 14 random oligoprimers and were analyzed by Nei-Li's genetic distance coefficient with 21 populations of Korean *Euphorbia*. Based on the RAPD results, from 8.4 to 40.2 percent of genetic variations were showed among the species of subgenus *Esula*. Also, 16.9-40.2% between sect. *Esula* and sect. *Tithymalus* and 10.5-26.4% among subgenus *Chamaesyce* of genetic variations were found. In addition, 2.1-10.6% of genetic variation were showed among the populations of Korean *Euphorbia*. Based on the UPGMA tree and NJ tree from RAPD analyses, three major groups (group 1: sect. *Helioscopiae*, subsect. *Verticillate* and subsect. *Galarrhoei*; group 2: subgen. *Chamaesyce*; group 3: subsect. *Esulae*) were recognized. The current infrageneric systems proposed by several taxonomists have some problems. The result suggested that reexamination on the taxonomic status of *E. helioscopia* were needed and subsect. *Esulae* might be a natural group. RAPD analysis was very useful to delimit the taxa and to explain the relationships among the species of *Euphorbia* in Korea.

Key words: *Euphorbia* RAPD, UPGMA, NJ, relationships

---

\*Corresponding author: Phone: +82-42-280-2434, FAX: +82-42-285-2434,  
e-mail: kimjh@dju.ac.kr