

엽록체 *trnT* 서열에 의한 족도리풀 속 식물의 분류학적 연구

동의대학교 : 김선환, 최주수, 허만규*

국립농업과학원/농업유전자원센터 : 김정숙

The Taxonomy Study of Genus *Asarum* in Korea Using Sequences of Plastid *trnT* Region

Department of Molecular Biology, Dongeui University

Sun-Hwan Kim, Joo-Soo Choi, and Man-Kyu Huh*

National Agrobiodiversity Center, RDA

Jung-Sook Sung

실험목적

기존 연구로 오(2008)와 권(2009)는 ITS (nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences)를 이용하여 족도리풀속 식물 9개 분류군에 대해 계통분석 연구를 수행한 바 있다. 그러나 ITS만으로는 일부 분지군이 분해되지 않은 점이 있었다. 따라서 본 연구에서는 *trnL-trnT* 부위에서 결과가 앞서 분자생물학적 분류 결과와 유사한 분해되지 않는 분류군이 있었다. 또한 형태학적으로 너무 세분화된 결과라는 것을 입증하는지 ITS 결과와 비교하고자 하였다. 본 연구에서는 오(2008)에서 분석하지 않은 3 분류군을 추가하여 선행 연구 결과와 비교하였다.

재료 및 방법

○ 실험재료

본 분석에 사용한 식물 분류군은 자주족도리풀(*A. siboldii* Miquel for. *koreanum* Y. Lee), 금오족도리(*A. patens* Yamaki), 서울족도리풀(*Asarum heterotropoides* var. *seoulense* (Nakai) Kitag.), 개족도리(*A. maculatum* Nakai), 민족도리풀(*A. siboldii* Miquel var. *manshuricum* Maximowicz), 민무늬족도리풀(*A. vericolor* (Yamaki) Y. Lee var. *non-vericolor* Y. Lee), 각시족도리풀(*Asarum siboldii* Miquel var. *manshuricum* Maximowicz for. *misandrum* Y. Lee), 족도리풀(*A. sieboldii* Miquel), 빨도리풀(*A. siboldii* Miquel var. *cornutum* Y. Lee)로 자생지에서 직접 채집하여 사용하였다.

○ 실험방법

각 식물체로부터 DNA를 추출하기 위하여 Plant DNA Zol Reagent (Life Technologies Inc., Grand Island, New York, USA)를 사용하였다. 엽록체의 *trnL* intron 과 *trnL - trnT* spacer 부위는 Taberlet 등(1991)이 고안한 시발체(primer)로 PCR (polymerase chain reaction)을 이용하여 증폭시켰다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 분리하였는데 이때 절편들의 상대적 크기를 비교하기 위해 100 bp ladder DNA marker 를 같이 loading시켰다. 전기영동 후 젤은 ethidium bromide로 염색하여 밴드를 현상하였다. 이후 젤에서 DNA를 QIAquick Gel

.....
주저자 연락처 (Corresponding author) : 허만규 E-mail : mkhuh@deu.ac.kr Tel : 051-890-1529

Extraction Kit (QIAGEN)로 추출하였다. 추출된 DNA를 bluescript vector와 ABI Prism 377 Sequencer로 서열화하였다.

실험결과

족도리속 8개 분류군에 대한 *trnL* - *trnT* 부위의 profiles은 100 bp ladder DNA marker로 크기를 비교한 결과 모두 약 880 bp nucleotides의 크기를 가지고 있었다. 이들 밴드를 purification하여 서열을 분석한 결과 많은 족도리속 식물은 874-897 nucleotides (bp)였다. 최고와 최저의 24 bp 차이는 삽입과 결실에 의한 것이다. DNA 서열의 서열 배당은 많은 갭(gaps)을 필요로 하였다. 전체 934 특성(characters)이었으며 866 특성은 일정하였다. 63개 변이는 절약-비정보적이었고 단지 5개만 절약-정보적이었다. 7곳(위치 34, 35, 38, 42, 48, 53, 589)에서 한 염기의 삽입이 발견되었다. 3부위(위치 284~295, 599~619, 717~735)에서 긴 직렬 염기 삽입이 있었다. 염기 직렬 결실은 빨족도리풀에서 144~173자이에서였다. 또 다른 서열 변이는 짧은 염기들의 반복이 있었는데 TATTAGTTATTA였다. 앞서 연구된 ITS 결과에서 집단에 따라 여러 개체를 채집했을 때 같은 분류군 내 일부 개체들이 다른 분류군 내로 군집되는 것을 볼 수 있다. 즉, 족도리풀의 일부는 자주족도리풀과 빨족도리풀(*Asarum siboldii* var. *cornutum*)에 같은 분지군을 형성하기도 하지만 일부 개체들은 선운산족도리풀(*A. sonunsanense*)과 같은 분지군을 형성하였다. 털족도리풀(*A. manshuricum*)도 마찬가지였다. 따라서 잎의 형질에서 많은 변이가 있으므로 향후 엽록체 DNA에 의한 분자마커로 보완할 필요가 있을 것이다.

Table 1. Taxa used in the molecular study of the genus *Asarum*

Code	Korean Name	Scientific Name
A-1	자주족도리풀	<i>A. siboldii</i> for. <i>koreanum</i>
A-2	금오족도리풀	<i>A. patens</i>
A-3	서울족도리풀	<i>A. heterotropoides</i> var. <i>seoulense</i>
A-4	개족도리	<i>A. maculatum</i>
A-5	민족도리풀	<i>A. siboldii</i> var. <i>manshuricum</i>
A-6	민무늬족도리풀	<i>A. vericolor</i> var. <i>non-vericolor</i>
A-7	각시족도리풀	<i>Asarum siboldii</i> var. <i>manshuricum</i> Maximowicz for. <i>misandrum</i>
A-8	족도리풀	<i>A. sieboldii</i>
A-9	빨족도리풀	<i>A. siboldii</i> var. <i>cornutum</i>

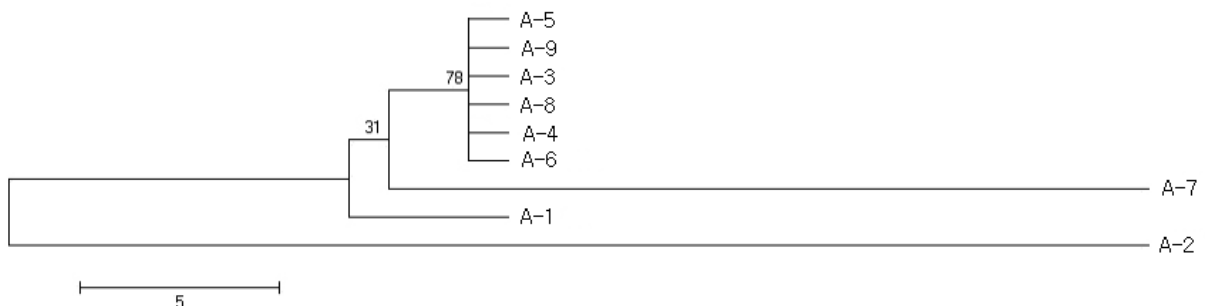


Figure 1. The maximum parsimonious tree for genus *Asarum* based on *trnL* and *trnT* analysis using PAUP 4b10.