

금강초롱꽃(*Hanabusaya asiatica*)과 근연분류군의 비교 연구 2. 표피의 미세구조, 화분학적 형질 및 동위효소 분석

유기억 · 이우철 · ¹⁾이진영 · ¹⁾임학태
(강원대학교 자연과학대학 생물학과, ¹⁾농과대학 원예학과)

Comparative studies on the *Hanabusaya asiatica* and its allied groups 2. Ultrastructure of epidermis, Palynological characters and Isozyme pattern

Yoo, Ki-Oug, Woo Tchul Lee, ¹⁾Jin Young Lee and ¹⁾Hak Tae Lim
(Department of Biology, ¹⁾Department of Horticulture, Kangwon National University, Chunchon, 200-701)

Abstracts

Microscopic structures of epidermis and palynology and isozyme analysis were examined to find out the intergeneric and interspecific relationships and consequently to confirm the position of *Hanabusaya asiatica* as an endemic genus among 4 genera and 9 species belonging to the *Hanabusaya asiatica*, Korean endemic, and its allied groups. In the examination of microscopic structures of epidermis, cell shapes on adaxial and abaxial leaves, cell patterns of perianth and ultrastructure of seed coat were found to be useful characters for the identification of the 4 genera and 9 species. Palynological characters such as microscopic structure and overall morphology of pollen grains were, however, not enough to distinguish them because of the great variabilities in these traits. Isozyme analysis showed that *H. asiatica* was very closely related to *Campanula punctata* and *C. takesimana*, though there were variations among populations and collected areas in some classified groups, depending on classified groups. Based on these results, the position of *H. asiatica* as an endemic genus was well confirmed.

Key words : *Hanabusaya asiatica*, endemic genus, epidermis, palynology, isozyme, variations

서 론

금강초롱꽃(*Hanabusaya asiatica*)은 초롱꽃
과(Campanulaceae), 금강초롱꽃속(*Hanabusaya*)
에 속하는 다년생 초본식물로 한국특산이다. 금강
초롱꽃屬은 Nakai(1911)에 의해 특산속으로 설
정된 이래 *Symphyandra*屬과 동일하거나 또는
독립적인 속으로보는 견해도 있으며 형태적으로 유
사한 초롱꽃(*Campanula punctata*)의 변이품으
로 보는 견해도 있다(Fedorov, 1957). 그러나

형태적으로 가장 가깝다고 알려진 *Symphyandra*
屬의 *S. armena*와는 근엽이나 꽃받침의·형질에
의해 뚜렷이 구별되고 분포지 또한 많은 차이가 있
다. 이러한 차이가 있음에도 불구하고 본 속이 어
떤종으로 부터 유래되었는지, 어느속과 유연관계가
깊은지 등에 관하여 논의의 여지가 있어왔다. 최
근들어 Lee 등(1986, 1988)은 이러한 문제점들
을 해결하기 위해 근대적 접근방법이 필요함을 주
장하면서 본屬과 근연분류군의 화분학적 연구를
수행하여 화분학적으로 금강초롱꽃屬이 특산속으로

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의한 결과임.

서 인정됨을 밝힌 바 있다.

본 연구는 금강초롱꽃과 근연 분류군 4속 9분류군을 대상으로 화분의 미세구조를 재검토하고 현재까지 연구된 바 없는 표피의 미세구조와 동위효소 분석을 통하여 종간 구별이 가능한가를 알아보고, 종내변이 정도를 파악하여, 이결과가 특산속으로서 가치를 인정할 수있는 방법이 되는지의 여부를 규명하는데 기본적인 자료를 제공하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 材料

實驗材料는 1991년 8월부터 1994년 8월까지 채집하여 사용하였으며 실험에 사용된 재료의 증거 표본은 강원대학교 생물학과 표본실에 보관하였고, 재료의 종류와 채집지는 Table 1과 같다.

2. 方法

1) 表皮의 微細形質

표피의 미세형질을 관찰하기 위하여 잎의 일정부위를 택하여 상하 표피를 벗겨낸 후 1% safranin에 염색하여 표피세포와 기공의 크기를 Filar micrometer(A/O 426C)로 측정하였다. 花冠의 表面과 종피는 FAA에 고정되어 있는 재료 또는 생체 재료의 일정 부위를 택하여 0.1 M phosphate buffer(pH 6.8)로 2회 세척 후 1% osmium tetroxide에 고정하였고 30-100% alcohol의 단계적 탈수과정을 거쳐 isoamylacetate로 2차 치환하였으며, critical point dryer로 건조하여 시료를 제작하였다. 이 시료를 critical ion sputter(JEOL-1100)로 150-200Å 두께로 gold coating한 후 주사전자현미경(SEM AKASHI ISI - SS 130)으로 관찰하였다.

2) 花粉學的 形質

생체 및 석엽표본의 꽃에서 藥(anther)만을 제거한 후 Erdtman(1952) 방법을 개량한 Livingstone 方法(Kim and Lee, 1978)에 의해 醋酸分解하였다. 광학현미경(Leiborlux 12) 관찰을 위해서는 glycerin jelly에 화분을 매몰시켜 영구표본을 만든 후 양호한 상태의 화분 20개

Table 1. Materials and collection data of the *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Scientific name (Korean name)	Collection site and date
<i>Adenophora divaricata</i> Fr. et Sav. 넓은잔대	KW : Kongkeun(1993.8.24) Daeryongsan(1991.9.7)
<i>A. grandiflora</i> Nakai 도라지모시대	KW : Soraksan(1992.8.12) Odaesan(1993.8.12)
<i>A. remotiflora</i> Miq. 모시대	KW : Chunsung Daeryongsan(1993.9.21) Hyangrobong(1991.8.15) CN : Hamyang Baekunsan(1992.7.21) Jirisan(1993.8.24)
<i>A. verticillata</i> Fischer 층층잔대	KW : Heongsung Kongkeun(1992. 10.4) CJ : 1100 Goji(1992.9.27)
<i>Asyneuma japonicum</i> (Miq.)Briq. 영아자	KW : Kyebangsan(1993.9.11) Daeryongsan(1993.9.21)
<i>Campanula glomerata</i> var. <i>dahurica</i> Fischer ex Ker 자주꽃방망이	KW : Cheol Won Anamsan(1991.8.11) Heong Seong Kongkeon(1992.9.12)
<i>C. punctata</i> Lamarck 초롱꽃	KW : Daeryongsan(1993.9.21) Gaebangsan(1993.6.18)
<i>C. takesimana</i> Nakai 섬초롱꽃	KB : Ulleungdo(1992.8.18)
<i>Hanabusaya asiatica</i> (Nakai)Nakai 금강초롱꽃	KW : Odaesan(1993.8.12) Soraksan(1992.8.15) Hyangrobong(1991.8.15) Jumbongsan(1993.8.20) Chokdaebong(1993.9.21) Kachilbong (1994. 8.2)

* CJ:Chejudo, CN:Chollanamdo, KW:Kangwondo, KB:Kyeongsangbukdo

Table 2. Stomata size of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Taxa	Adaxial		Abaxial	
	Length(μm)	Width(μm)	Length(μm) *	Width(μm)
<i>A. divaricata</i>	-	-	30.0-33.5-37.5	17.5-23.1-28.8
<i>A. grandiflora</i>	-	-	33.8-37.0-41.3	25.0-27.5-30.0
<i>A. remotiflora</i>	-	-	32.5-36.6-41.3	26.3-28.0-30.0
<i>A. verticillata</i>	-	-	28.8-35.1-37.5	20.0-20.4-25.0
<i>Asyneuma japonicum</i>	-	-	27.5-31.2-35.0	21.3-24.7-26.3
<i>Campanula punctata</i>	-	-	30.0-33.7-38.8	23.8-26.3-30.0
<i>C. takesimana</i>	-	-	27.5-31.1-36.3	21.3-25.3-26.3
<i>C. glomerata</i> v. <i>dahurica</i>	-	-	21.3-26.3-28.8	16.3-19.6-23.8
<i>Hanabusaya asiatica</i>	-	-	32.5-41.5-47.5	22.5-29.1-33.8

* minimum - average - maximum

체 이상을 관찰, 측정하였으며, 주사전자현미경(SEM)의 관찰을 위하여 stub에 화분을 올리고 공기중에서 건조시킨 후 Au로 이온증착시켜 10 KV에서 관찰하였다.

花粉形態에 관한用語는 Erdtman(1972), Faegri와 Iversen(1964) 그리고 우리말 용어는 Lee(1978)를 따랐다.

3) 동위효소 분석

동위효소 분석을 위해 9분류군 15지역의 총 62 개체를 실험에 사용하였다. 재료는 1N phosphate buffer를 사용하여 종자를 마쇄한후 원심분리하여 사용하였으며 전기영동을 위한 gel은 Laemmli(1970)의 방법에 SDS가 첨가되지 않은 4% stacking gel과 11% separating gel의 불연속 polyacrylamide gel을 사용하였고 BIO-RAD(USA)의 protein II Dual Slab Kit를 사용하였다. 전기영동 전개는 4℃의 냉장고에서 140V의 전압으로 1시간동안 실시하였고 전개된 gel은 Pasteur 등(1988)의 방법에 따라 해당 기질과 발색제를 처리하여 동위효소를 검출하였다. 검출한 동위효소는 Esterase(EST), Acid Phosphatase(ACP), Superoxide Dismutase(SD), Alkaline Phosphatase(AKP), α-amylase(AMY)의 5가지이며 전기영동 후 얻어진 밴드를 확인하여 각 종의 집단별 유전자형을 이용하여 대립인자수, 유전자 빈도를 구하여 집단 및 종간의 유전적 변이를 조사하였다. 분석이 끝난 gel은 slide film(Fujichrome ISO 100/21°)으로 촬영한 후 투명한 cellophane film에 밀착, 건조 시킨 후

보관 하였다. 각 집단 종간 유전적 근연관계는 유전자 빈도를 토대로하여 비가중산술방법(UPGMA)으로 유집분석하여 비교하였다.

관찰 및 결과

1. 表皮(epidermis)

1) 잎의 표피(leaf epidermis)

(1) 氣孔의 분포(distribution of stomata)

기공은 잎의 裏面에만 분포하였으며 형태는 副細胞가 없는 不規則型(anomocytic)으로 나타났고, 대부분 기공의 위치가 표피세포와 균등한 형태로 나타났다

(2) 氣孔의 크기(stomata size)

기공의 크기는 길이 21.3-47.5 μm, 폭 16.3-33.8 μm로 나타났는데 길이와 폭 모두 자주꽃방망이가 길이 26.3 μm, 폭 19.6 μm로 가장 작았고 금강초롱꽃이 길이 41.5 μm, 폭 29.1 μm로 가장 크게 나타났다(Table 2).

(3) 表皮細胞 크기(cell size of leaf)

잎의 표피세포는 표면에 각피(cuticle)층이 침적되어 있다. 세포의 크기는 잎의 표면세포의 경우 영양자가 평균 길이 111.5 μm, 폭은 층층잔대가 57.0 μm로 가장 크게 나타났으며, 가장 작은 것은 자주꽃방망이가 길이 57.1 μm, 폭은 자주꽃방망이가 30.8 μm로 가장 작게 나타났다. 이면세포는 금강초롱꽃이 길이 155.6 μm, 폭 58.2 μm로 가장 컸으며, 자주꽃방망이가 길이 54.9 μm, 폭 28.8 μm로 가장 작게 나타났다(Table 3).

Table 3. Cell size of leaf epidermis of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Taxa	Adaxial		Abaxial	
	Length(μm) *	Width(μm)	Length(μm)	Width(μm)
<i>A. divaricata</i>	78.8 - 94.0 -112.5	51.3 - 60.8 - 73.8	80.0-103.1 -147.5	43.8 - 56.5 - 72.5
<i>A. grandiflora</i>	52.5 - 86.7 -120.0	42.5 - 49.3 - 65.0	60.0 - 87.4-112.5	31.3 - 48.0 - 65.0
<i>A. remotiflora</i>	66.3 - 89.0 -113.8	30.6 - 46.2 - 61.3	65.0 - 75.4 - 93.8	27.5 - 40.6 - 55.0
<i>A. verticillata</i>	81.3 - 96.1 -140.0	42.5 - 57.0 - 77.5	68.8 - 87.4 -111.3	30.0 - 45.7 - 62.5
<i>Asyneuma japonicum</i>	87.5 -111.5-137.5	47.5 - 56.7 - 72.5	75.0 - 94.6 -111.3	32.5 - 45.2 - 60.0
<i>Campanula punctata</i>	58.8 - 76.2 - 96.3	33.8 - 47.7 - 61.3	66.3 - 79.7 - 92.5	27.5 - 31.1 - 50.0
<i>C. takesimana</i>	55.0 - 64.9 - 77.5	28.8 - 38.6 - 47.5	52.5 - 69.3 - 90.0	30.0 - 40.7 - 57.8
<i>C. glomerata v. dahurica</i>	48.8 - 57.1 - 71.3	25.0 - 30.8 - 41.3	46.3 - 54.9 - 65.0	21.3 - 28.8 - 35.0
<i>Hanabusaya asiatica</i>	89.0-109.6 -150.0	40.0 - 54.8 - 70.0	120.0-155.6-210.0	35.0 - 58.2 - 85.0

* minimum - average - maximum

(4) 잎의 細胞形態(cell pattern of leaf)

잎의 표면과 이면세포의 모양은 표피세포벽의 屈曲에 따라 2형으로 구분되며 분류군에 따라서 兩面 모두가 波狀屈曲型으로 나타나는 것, 한면은 非屈曲型이고 다른 한면은 波狀屈曲型인 것이 나타났다.

① 兩面波狀型(biaxial undulate): 잎의 앞뒷면 세포 모양이 모두 파상형인 것으로 초롱꽃屬의 초롱꽃, 잔대屬의 도라지모시대, 모시대, 영아자屬에서 나타났다(Plate 1:1-2).

② 表面波狀型-裏面非屈曲型(adaxial undulate-abaxial unflexed): 잎의 표면은 굴곡이 지지 않고 이면은 파상굴곡형인 종류로 위의 분류군을 제외한 나머지 분류군에서 관찰되었다(Plate 1:3-4).

잎 세포의 형태는 세포의 크기, 기공의 크기 보다는 기공 분포, 표피세포의 屈曲형태가 分類學的 形質로 가치가 있다고 사료된다.

2) 花被(perianth): 꽃잎의 표면 형태는 외벽

의 돌출양상과 전체 형태에 의해 5형으로 구분되었다.

① 不分明型(obscure): 표피세포는 폭이 좁고 불규칙하게 융기되어 있으며 열을 지어 비교적 규칙적으로 배열되어 있지만 세포층의 경계가 불분명하게 나타나는 유형으로 영아자屬에서 관찰되었다(Plate 1:5).

② 얇은沈降型(shallow sedimented): 표피세포는 얇게 융기하며 외벽이 굽지 않은 형태로 금강초롱꽃屬에서 관찰되었다(Plate 1:6).

③ 沈降型(sedimented): 표피세포 표면이 두껍게 융기하며 비늘이 표면을 덮고 있는 것 같은 모양을 하며 세포벽을 제외한 세포층은 침강한 형태로 보이는 유형으로 위의 분류군을 제외한 종류들에서 관찰되었다(Plate 1:7-8).

3) 種子와 種皮(seed and seed coat): 종자의 형태는 전체모양, 색깔, 날개의 유무, 표면무늬

Table 4. Seed length and width of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Species \ Size	Length(mm)	Width(mm)	W / L
<i>Adenophora divaricata</i>	2.16-2.44-2.70*	0.83-0.98-1.12	0.2-0.4-0.4
<i>A. grandiflora</i>	1.85-2.09-2.40	0.74-0.88-0.99	0.2-0.4-0.4
<i>A. remotiflora</i>	1.40-1.68-1.95	0.80-0.92-1.06	0.5-0.5-0.5
<i>A. verticillata</i>	1.14-1.32-1.65	0.65-0.76-0.86	0.5-0.5-0.5
<i>Asyneuma japonicum</i>	0.74-0.80-0.85	0.51-0.55-0.65	0.6-0.6-0.7
<i>Campanula punctata</i>	1.00-1.12-1.35	0.55-0.65-0.75	0.5-0.5-0.5
<i>C. takesimana</i>	0.95-1.10-1.25	0.58-0.66-0.71	0.6-0.6-0.5
<i>C. glomerata v. dahurica</i>	1.40-1.63-1.77	0.83-0.94-1.05	0.5-0.5-0.5
<i>Hanabusaya asiatica</i>	1.66-1.93-2.15	0.85-0.94-1.05	0.5-0.4-0.4

* minimum - average - maximum

에 있어 유의한 차이를 보였다.

(1) 種子의 外部形態: 종자의 외부형태를 측정 한 결과는 Table 4와 같다.

종자의 크기는 0.74-2.70mm이며 잔대屬의 넓은잔대가 평균 2.44mm로 가장 컸고, 영아자가 0.80mm로 가장 작았다. 종자의 폭은 0.51-1.12mm 정도로 길이와 마찬가지로 넓은잔대가 평균 0.98mm로 가장 컸고, 영아자가 0.55mm로 가장 작았다.

(2) 種子의 색깔 및 날개(seed color and wing): 종자의 색깔은 갈색, 진한 갈색, 황색, 연한갈색, 검은색 등으로 나타났으며 종자의 날개는 대부분 한쪽면에만 미소한 날개를 갖지만 영아자의 경우는 날개가 존재하지 않았다.

(3) 種子의 표면무늬(surface sculpturing of seed): 종자의 미세구조는 표면 무늬의 형태에 의해 표면세포가 길게 신장하여 방추상형태를 형성하며 좁고 두꺼운 방사성 벽을 갖는 제방형(furrows), 제방형과 비슷하지만 표면이 거의 평활하며 세포벽 사이에 골이 없는것 처럼 보이는 형태인 평활형(smooth)은 초롱꽃屬의 자주꽃방망이에서 관찰되며, 표면무늬가 망상형(reticulate)인 영아자, 표면무늬는 파상형으로 불규칙하며 표면경계에 돌기가 없는 형태로 금강초롱꽃에서 관찰되는 파상형(wave)으로 구분되며(Plate 2:1-8),

제방형은 다시 세포 경계지역에 돌기의 존재 여부 및 분포 양상에의해 돌기형, 미돌기형, 무돌기형으로 나눌 수 있었다.

4. 花粉學的 形質

조사된 분류군의 화분은 모두 單粒으로 크기는 27.50-51.25 μ m x 25.00-55.00 μ m (최소-최대 x 極軸길이-赤道面 직경) 크기에 있으며 평균크기로 가장 작은 것은 자주꽃방망이, 가장 큰 것은 극축과 적도면 모두 도라지모시대가 가장 크게 나타났다. 表壁의 두께는 평균 1.98-2.67 μ m 범위로 금강초롱꽃이 가장 두껍게 나타났다(Table 5).

(1) 花粉粒의 크기(size of pollen grains): 화분립의 크기는 Erdtman(1952)의 기준에 의해 極軸의 길이와 赤道面 나비의 평균이 39.8-47.0 μ m 인 중형의 크기로 도라지모시대를 제외한 잔대屬, 초롱꽃屬, 금강초롱꽃屬, 영아자屬에서 관찰되었으며, 대형으로는 極軸의 길이와 赤道面 나비의 평균이 50.0-52.0 μ m인 것으로 잔대屬의 도라지모시대에서 관찰되었다.

(2) 花粉粒狀(shape of pollen grains): 화분 입상의 전체형태는 전체 분류군에서 亞短球形(suboblate)-弱短球形(oblate-spheroidal)으로 (P/E=0.85-0.94) 관찰되었다

Table 5. Pollen measurement of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Scientific name	Polar length ¹ (P)	Equatorial ¹ diameter(E)	P/E	Exine ¹ thick	Aperture ² Echina ³ type no.
<i>Adenophora divaricata</i>	36.25-39.80-42.50	42.50-43.13-45.00	0.85-0.94	1.98	4,(5)p 12
<i>A. grandiflora</i>	45.00-48.48-51.25	50.00-51.85-55.00	0.90-0.93	2.48	4,(5)p 13
<i>A. remotiflora</i> (Hyangrobong)	36.75-39.93-42.50	41.75-43.20-45.00	0.88-0.94	2.11	3,4p 14
(Mt. Baekun)	37.75-42.50-45.00	43.00-46.48-50.00	0.88-0.90	2.19	4,5p 14
<i>A. verticillata</i>	42.50-44.44-47.50	45.00-47.00-51.25	0.94-0.93	2.36	4,5p 11
<i>Asyneuma japonicum</i>	35.00-36.35-40.00	40.00-40.35-46.25	0.88-0.86	2.03	(3)4,(5)p 14
<i>Campanula glomerata</i> v. <i>dahurica</i>	27.50-30.31-32.50	25.00-27.50-30.00	0.91-0.92	1.98	3p 16
<i>C. punctata</i>	32.50-36.88-40.00	30.00-33.15-35.00	0.92-0.88	2.01	3,4p 15
<i>C. takesimana</i>	31.25-32.90-35.00	33.75-35.20-37.50	0.92-0.93	2.05	3p 12
<i>Hanabusaya asiatica</i> (Mt. Sorak)	38.75-41.00-42.50	43.75-46.38-50.00	0.89-0.85	2.17	5,6p 14
(Mt. Jumbong)	37.50-40.68-42.50	43.75-45.25-46.25	0.86-0.92	2.50	5,6p 16
(Chockdaebong)	38.75-40.20-42.50	41.25-43.00-45.00	0.94-0.86	2.67	4,5,6p 18
(Hyangrobong)	40.00-42.19-45.00	42.50-47.06-52.50	0.94-0.86	2.25	5p 15
(Mt. Odae)	37.50-40.56-43.75	42.50-44.00-47.50	0.88-0.92	2.55	5,6p 12

¹: unit in μ m

²: p:porate, c:colpate, cp:colporate

³: echina number per 100 μ m²

(3) 發芽口(aperture): 발아구는 모두 공형발아구를 가지며 발아구의 수에 따라 3-6개의 孔口를 갖는 잔대屬, 3-5개의 孔口를 갖는 영아자屬, 3-4개의 孔口를 갖는 초롱꽃屬, 4-6개의 孔口를 금강초롱꽃屬으로 구분되었다

(4) 表面무늬(surface sculpturing): 본 연구에서 다른 분류군들의 표면무늬는 모두 亂線狀(rugulate)으로 亂線狀에 刺狀突起가 있는 것으로 刺狀突起의 끝추서는 정도에 의해 2형으로 세분할 수 있었다. 첫째로는 亂線突起 끝이 곧추서며 刺狀突起 수가 약 11-14개/100 μ m²인 것으로 잔대屬에서 볼 수 있었다(Plate 3: 1-5). 둘째는 亂線突起 끝이 서지 않거나 드물게 서있으며 刺狀突起 수가 약 12-18개/100 μ m²인 것으로 초롱꽃屬, 영아자屬, 금강초롱꽃屬에서 볼 수 있었다(Plate 3:6-8) (Plate 4:1-8).

5. 동위효소 분석

금강초롱꽃과 근연분류군, 총 9분류군의 14개 집단을 대상으로 Esterase(EST), Acid Phosphatase(ACP), Superoxide Dismutase(SD), Alkaline Phosphatase(AKP), α -amylase(AMY) 등 5개의 효소를 검출한 결과는 Fig.1과 같다.

Esterase(EST)의 이형접합자는 monomer 또는 많은 loci로 분리되는 dimer상태로 나타난다(Pasteur, 1988). 본 실험에서 전기영동상의 이동속도는 매우 다양하며 진한 갈색의 밴드로 나타났다. 이중 금강초롱꽃의 점봉산 집단과 섬초롱꽃은 같은 밴드 패턴을 보이는 것으로 나타났고 나머지 분류군들은 같거나 각각 다른 밴드 패턴을 보이는 것으로 나타났다. 초롱꽃屬의 자주꽃방망이는 초롱꽃이나 섬초롱꽃에 비해 많은 차이가 있는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 형태적으로 화서와 잎등의 특징이 뚜렷하게 구별되어 나타나기 때문이라 생각된다. 영아자는 두 지역간에 전혀 다른 양상을 보여 보다 많은 연구가 필요함을 알 수 있었다. Superoxide dismutase(SD)는 Polyphenol oxidase의 한 종류로 negative로 발색이된다. 금강초롱꽃은 역시 단일한 1개의 locus로 나타났으며 분류군 간에는 약간의 차이를 보였다. Acid Phosphatase(ACP)의 이형접합체 형태는 monomer

또는 많은 loci로 분리되는 dimer 상태로 나타난다고 알려져 있다(Pasteur, 1988). 이동속도는 매우 느리고 갈색의 밴드로 나타났다. 이중 대부분은 단일 locus로 나타났으나 분류군에 따라서는 1개의 대립형질이 나타나기도 하였다. 잔대屬의 모시대와 도라지모시대는 금강초롱꽃과 같은 단일 locus로 나타나 형태적으로 엽서의 형질등이 유사하다는 Nakai(1911)의 결과와 일치 하였다. Alkaline Phosphatase(AKP)의 이형접합자는 monomer이며 종에 따라 많은 loci로 분리되어 나타난다(Pasteur, 1988). 본 실험에서는 분류군마다 지역 집단간 구별없이 매우 다양한 밴드 양상이 나타났으며 영아자만이 두 집단에서 하나의 대립형질이 나타났다. α -amylase(AMY)는 hydrolase의 한 종류로 이동속도는 느리며 대부분이 단일한 locus로 나타났다.

이상의 5개 동위효소 분석 결과 금강초롱꽃과 유사한 밴드패턴을 보이는 분류군은 초롱꽃屬의 섬초롱꽃이 Esterase(EST), Acid Phosphatase(ACP), α -amylase(AMY)에서, 잔대속의 모시대와 도라지모시대는 Superoxide dismutase(SD)에서 가장 유사한 locus를 갖는 것으로 나타났다(Fig.1).

이상의 결과를 정리한 4속 9종 14집단 간의 유전자당 평균 대립형질 수(\bar{A}), 평균 다형형의 빈도(\bar{P}), 평균 이형접합자 빈도(\bar{H}_D)를 Table 3에 나타내었다. 금강초롱꽃 2집단의 유전자당 평균 대립인자수는 1.23개이며 오대산 집단이 1.18개, 점봉산 집단이 1.27개로 나타났다. 두 집단의 평균 다형형의 빈도는 27.3%이며 오대산 집단이 18.2%로 매우 낮고 점봉산 집단은 36.4%를 나타내었다. 이형접합자의 빈도는 0.11로 낮게 나타났고 오대산 집단 보다는 점봉산 집단이 0.13으로 높게 나타났다.

초롱꽃屬의 경우 섬초롱꽃은 실험에 사용한 동위효소에서 모두 단일한 대립인자로 나타났다. 평균 이형접합자 빈도는 평균 0.06으로 다른 분류군과 비교했을때 가장 낮게 나타났다. 영아자屬 두 집단의 유전자당 평균 대립인자수는 1.27개이며 계방산 집단이 1.33개, 대룡산 집단이 1.20개로 나타났다. 2집단의 평균 다형형의 빈도는 26.7%이

Fig. 1.

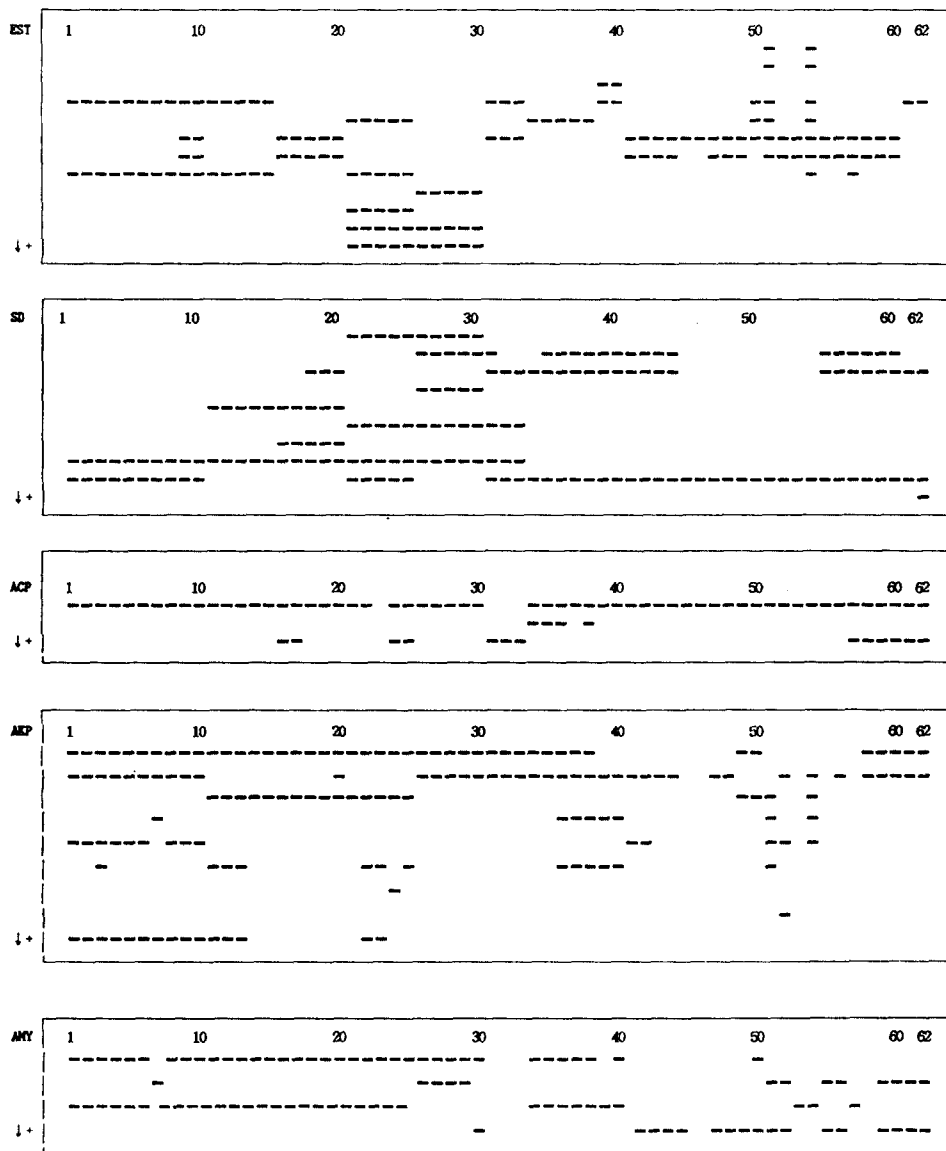


Fig. 1. Diagram showing 5 isozymes of *Harabusaya asiatica* and its allied groups.
 (Notes) 1-5: *Harabusaya asiatica* (Odaesan), 6-10: *Harabusaya asiatica* (Jumbongsan)
 11-15: *Campanula takesimana* (Ulleungdo) 16-20: *Campanula punctata* (Kongkeun)
 21-25: *Campanula glomerata* var. *dahurica* (Kongkeun), 26-30: *Asyneuma japonicum*
 (Kyebangsang), 31-33: *Asyneuma japonicum* (Daeryongsan), 34-38: *Adenophora*
verticillata (Jejudo), 39-43: *Adenophora verticillata* (Kongkeun), 44-45: *Adenophora*
grandiflora (Odaesan), 46-49: *Adenophora remotiflora* (Jirisan), 50-54: *Adenophora*
remotiflora (Daeryongsan), 55-56: *Adenophora divaricata* (Kongkeun), 57-62:
Adenophora divaricata (Daeryongsan).

Table 2. Allele frequency of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Locality Locus	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
EST-1	a 1.00 b 1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50 0.50	1.00	1.00
EST-2	a 1.00 b 1.00	1.00	1.00		1.00		1.00	1.00			0.50 0.50	0.50 0.50		1.00
EST-3	a b c	0.50		0.50			1.00		0.50 0.50	1.00	0.50 0.50	0.50 0.40	0.50 0.50	0.50 0.42 0.08
EST-4	a b					1.00					0.63 0.38			
EST-5	a				1.00									
EST-6	a b				0.50 0.50	0.50 0.50								
AA-1	a 1.00 b 1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		0.60 0.40	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
AA-2	a			1.00	1.00		1.00	1.00						1.00
SUP-1	a				1.00	1.00								
SUP-2	a b			1.00		1.00	0.20 0.80	0.50 0.50	0.50 0.50				0.50 0.50	1.00
SUP-3	a b		1.00	1.00		1.00								
SUP-4	a b			1.00	1.00	1.00	1.00							
SUP-5	a 0.50 b 0.50	1.00	1.00	0.50 0.50	1.00	0.50 0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
AMP-1	a 0.50 b 0.50	0.50 0.50	1.00	0.90 0.10	1.00	0.50 0.50	0.50 0.50	0.50 0.50	1.00	1.00	0.50 0.50	1.00	0.50 0.50	0.50 0.50
AMP-2	a b c		1.00		1.00			1.00			1.00	0.33		
AMP-3	a b c	1.00		1.00	0.75 0.26			1.00				0.50		
AMP-4	a	1.00	1.00	1.00	1.00									
AMY-1	a 1.00 b 1.00	0.80 0.20	1.00	1.00	1.00	0.60 0.40	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00
AMY-2	a b	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.33 0.67		1.00	0.40 0.60	0.50 0.50	1.00

(Notes) A: *Hanabusaya asiatica*(Odaesan), B: *Hanabusaya asiatica*(Jumbongsan), C: *Campanula takesimana* (Ulleungdo), D: *Campanula punctata*(Kongkeun), E: *Campanula glomerata* var. *dahurica*(Kongkeun) F: *Asyneuma japonicum*(Kyeongsan), G: *Asyneuma japonicum*(Daeryongsan), H: *Adenophora verticillata*(Jejudo), I: *Adenophora verticillata*(Kongkeun), J: *Adenophora grandiflora*(Odaesan), K: *Adenophora remotiflora*(Jirisan), L: *Adenophora remotiflora*(Daeryongsan), M: *Adenophora divaricata* (Kongkeun), N: *Adenophora divaricata*(Daeryongsan).

며 계방산 집단이 33.2%으로 나타났고 대룡산 집단은 20.0%를 나타내었다. 이형접합자의 빈도는 평균 0.15로 낮게 나타났고 계방산 집단이 대룡산 집단보다는 0.17로 높게 나타났다. 잔대屬의 경우는 나머지 3屬에 비해 평균 대립인자수, 다형형의

빈도, 이형접합자 빈도가 매우 높게 나타났으며 이중 평균 대립인형질 수는 넓은잔대의 공근 집단이 1.5개로 가장 많았으며, 다형형의 빈도와 이형접합자 빈도는 모시대의 대룡산 집단이 60.0%와 0.31로 가장 높게 나타났다(Table 2).

Table 3. Mean of alleles per locus(\bar{A}), polymorphism(P) and heterozygosity(H_D) of *Hanabusaya asiatica* and its allied groups

Locality	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
A	1.18	1.27	1.00	1.27	1.13	1.33	1.20	1.27	1.33	1.00	1.40	1.42	1.50	1.30
P(x)	18.2	36.4	0	27.3	12.5	33.3	20.0	27.3	33.3	0	40.0	60.0	50.0	20.0
HD	0.09	0.13	0	0.07	0.05	0.17	0.13	0.13	0.16	0	0.20	0.31	0.25	0.11

(Notes) A: *Hanabusaya asiatica*(Odaesan), B: *Hanabusaya asiatica*(Jumbongsan), C: *Campanula takesimana*(Ulleungdo), D: *Campanula punctata*(Kongkeun), E: *Campanula glomerata* var. *dahurica*(Kongkeun), F: *Asyneuma japonicum*(Kyebangsan), G: *Asyneuma japonicum*(Daeryongsan), H: *Adenophora verticillata*(Jejudo), I: *Adenophora verticillata*(Kongkeun), J: *Adenophora grandiflora*(Odaesan), K: *Adenophora remotiflora*(Jirisan), L: *Adenophora remotiflora*(Daeryongsan), M: *Adenophora divaricata*(Kongkeun), N: *Adenophora divaricata*(Daeryongsan).

본 실험에 사용한 5개의 동위효소에서 얻어낸 식별 가능한 밴드들을 존재 유무에 따라 각각을 하나의 OTU로 보아 기초자료행렬을 작성하고 이를 근거로 유사도 값을 구한다음 UPGMA방법으로 phenogram을 작성한 결과는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보는 것처럼 금강초롱꽃과 근연분류군의 동위효소에 의한 형질은 크게 2군, 즉 금강초롱꽃屬과 초롱꽃, 섬초롱꽃이 포함된 초롱꽃屬, 영아자의 대롱산 집단, 잔대屬이 포함된 1군과 초롱꽃속의 자주꽃방망이, 영아자의 계방산 집단이 포함된 1군으로 유사도 0.59에서 구별되었다.

금강초롱꽃屬은 독립적으로 구별되어 나타났고 형태적으로 근연인 섬초롱꽃, 초롱꽃과 함께 유사도 0.73에서 분지되어 유사성이 높은 것으로 나타났다. 그러나 나머지 분류군에 있어서는 속내 종간 분류가 명확치 않은 것으로 나타났고, 특히 영아자屬의 경우는 1속 1종임에도 불구하고 계방산과 대롱산 집단이 전혀 다른 경향을 보여 좀더 세밀한 연구가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과에서 금강초롱꽃은 근연분류군과 동위효소에 의해서 뚜렷이 구별되지만 나머지 유사분류군들은 속내 종간, 집단간 유의성을 찾아볼 수가 없었다. 그 이유는 초롱꽃과 분류군들이 외부형태적으로 많은 변이양상을 나타내고 있고(유, 1995), 특히 잔대屬의 경우는 같은 지역 집단간에도 매우 심한 변이 양상을 보이므로 이에 대한 정확한 동위효소 분석을 위해서는 보다 많은 지역,

집단 그리고 더 많은 동위효소 분석을 수행해야만 가능하리라 생각된다.

고 찰

표피의 微細構造에 의한 형질에서 잎의 기공은 잎의 이면에만 나타나고 큐티클층이 침적되어 나타났다. 기공의 형태는 부세포가 없는 불규칙형(Metcalf and Chalk, 1950)이었으며 잎의 표면과 이면 세포의 모양도 다소 차이가 있었다. 화피의 표면 역시 표피세포의 모양, 세포의 움기 정도에 의해 속을 구별하는 중요한 형질로 인정되었다.

초롱꽃科의 경우 종자형질에 관한 연구는 매우 미비한 실정이며(Corner, 1976) 종자의 형질 역시 본 科의 계통을 다루는데는 거의 사용되지 않았고(Shetler and Morin, 1986) 종자의 형질에 대한 대체적인 系統學的 研究가 수행된 것은 電子顯微鏡의 발달과 더불어 시작되었다(Brisson and Peterson, 1977). 초롱꽃科의 경우 Geslot(1980), Thulin(1974, 1975), Carolin(1980) 등에 의하여 주로 유럽과 남아프리카의 초롱꽃科 식물들에 대한 연구가 있다. 沼田(1981)은 被子植物의 종자표면무늬를 40型, 36亞型으로 구분하고 분류하였는데 韓國産의 경우 전체형태는 제방형, 망상형, 파상형으로 구별되며, 표면무늬 위에 돌기의 존재 유무, 돌기의 존재위치 등에 의해 잘 구분되

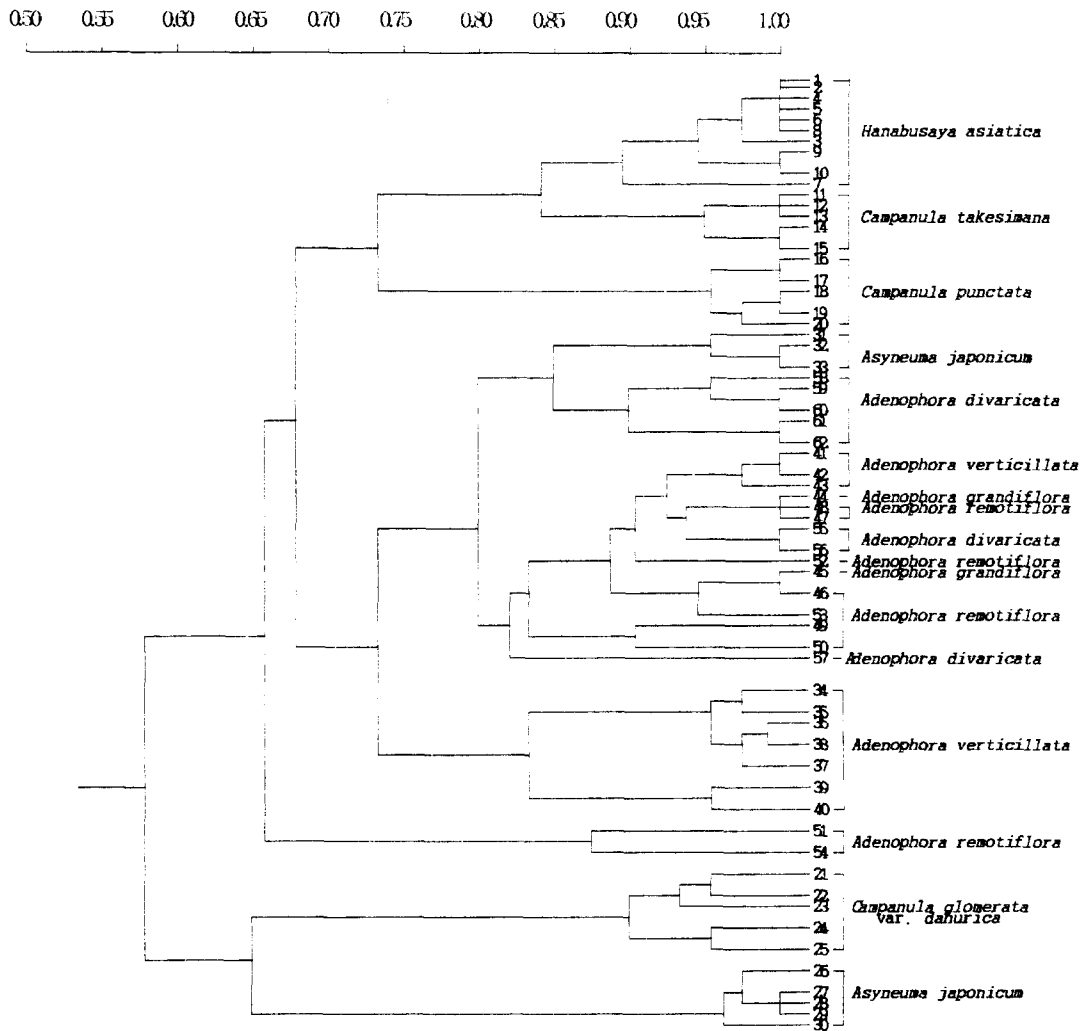


Fig. 2. Phenogram for *Hanabusaya asiatica* and its allied groups based on analysis of 5 isozymes

(Notes) 1-5: *Hanabusaya asiatica* (Odasan), 6-10: *Hanabusaya asiatica* (Jumbongsan), 11-15: *Campanula takesimana* (Ulleungdo), 16-20: *Campanula punctata* (Kongkeun), 21-25: *Campanula glomerata* var. *dahurica* (Kongkeun), 26-30: *Asyneuma japonicum* (Kyeongsan), 31-33: *Asyneuma japonicum* (Daeryongsan), 34-38: *Adenophora verticillata* (Jejudo), 39-43: *Adenophora verticillata* (Kongkeun), 44-45: *Adenophora grandiflora* (Odasan), 46-49: *Adenophora remotiflora* (Jirisan), 50-54: *Adenophora remotiflora* (Daeryongsan), 55-56: *Adenophora divaricata* (Kongkeun), 57-62: *Adenophora divaricata* (Daeryongsan).

었다. 잎이 輪生하는 분류군 중 넓은잔대의 경우는 잔대屬의 다른 분류군과는 달리 종자 표면세포 사이의 골이 얇고 편평하여 다른 분류군들과 구별되었다. 영아자는 종자표면 세포형태가 뚜렷한 網型에 규칙적인 돌기가 있어 다른 屬과 구별되나 Shetler와 Morin(1986)에 의한 북아메리카의

*Asyneuma canescens*와 *A. prenanthoides*가 제방형 형태를 갖는 특징을 비교해 볼때 전혀 다른 傾向을 보여 한국에 1屬 1種만이 분포하는 영아자屬에 대한 근연 집단간의 비교 연구가 필요함을 알 수 있었다. 초롱꽃屬의 경우 꽃이 頭狀總狀花序 또는 圓錐花序를 갖는 자주꽃방망이가 중

자표면이 거의 평활하여 다른 초롱꽃屬 분류군들과 구별되었다. 韓國特産屬인 금강초롱꽃屬의 경우는 표면이 波狀의 무늬에 불규칙한 세포 모양을 가지고 돌기가 없어 外部形態적으로 잎이나 꽃의 일반적인 형태는 초롱꽃(*Campanula punctata*)이나 잔대屬의 모시대(*Adenophora remotiflora*)와 近緣이라는 見解(Nakai, 1909)와는 달리 종자형질에 의해서는 차이가 있어 特産屬으로서 잘 구분되었다. 따라서 종자의 표피형질은 屬을 구분할 수 있는 유용한 형질임을 알 수 있었지만 속 이하의 分類階級에서는 유의성을 찾아볼 수 없었다.

花粉의 형태는 발아구의 형태가 구형, 공구형, 공형 발아구를 가지고 있고, 표면무늬와 粒狀에 의한 분류 역시 속간에는 구분이 가능하지만, 화분의 특징에 의해 종을 유집 및 분류가 어렵다는 Lee 등(1988)의 결과와 마찬가지로 종간구별은 명확하지 않았다. 또한 같은 분류군이라 할 지라도 집단간, 개체간 발아구의 수, 크기 등에 다양한 차이가 있으며 표면무늬의 형태에 있어서도 개체마다 다르게 나타나는 것도 있었다. 특히 금강초롱꽃의 경우는 지역 집단간에 발아구의 수, 표면무늬의 형태 등에 있어 많은 변이가 있는 것으로 나타났고 가칠봉 집단은 다른 지역의 화분과 명확히 차이가 있으므로 앞으로 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 이러한 결과는 초산분해과정, 화분의 성숙정도와도 관련이 있을 것이라는 Lee 등(1988)의 의견에 동의한다. 넓은 의미에서 Doyle(1969)과 Muller(1970)는 화분 發芽口의 진화를 구형발아구 또는 공구형(colpus)에서 공형발아구 또는 공구(pore)로 진행되었음을 系統學的, 地質學的으로 밝혀냈다. 이런 견해로 볼때 본 연구에 사용된 분류군들은 모두 공형발아구를 가져 구형발아구 또는 공구형발아구를 갖는 초롱꽃科의 나머지 屬 들보다는 진화한 발아구를 가진 것으로 생각된다.

전기영동법을 이용한 동위효소 및 단백질의 분석은 효과적으로 많은 유전자를 검출할 수 있는 장점으로 자연집단의 유전적 변이 정도를 측정하는데 널리 이용되고 있으며 종의 분류 및 계통진화 연구에도 이용되고 있다(Lewontin and Hubby, 1966). 본 연구에 사용된 5개의 동위효소 분석결

과 금강초롱꽃과 가장 근연관계에 있는 분류군은 섬초롱꽃과 초롱꽃으로 나타났으며 나머지 유사 분류군들과의 유사도가 0.65이하로 매우 낮게 나타났다. 이러한 결과는 외부형태적으로 금강초롱꽃이 화관의 형태에 있어서는 초롱꽃과 매우 근연이라는 선행연구자들의 견해와 일치하는 것이다(Fedorov, 1957; Nakai, 1921). 그러나 엽서 등의 형태에서 가장 유사한 잔대屬의 모시대와는 매우 다른 경향을 보였다. 속 이하의 속내 또는 종내 변이에 있어서도 잔대속 분류군, 자주꽃방망이와 영아자는 집단간에도 많은 유전적 다양성을 보여 더 많은 연구의 필요성을 나타내기도 하였다.

적 요

금강초롱꽃과 근연분류군 4속 9분류군에 대한 표피 및 화분의 미세구조, 동위효소 분석을 통하여 금강초롱꽃屬이 특산속으로서 구분이 가능한가를 알아보았다. 표피는 미세구조에서는 잎의 표면과 이면세포의 모양, 화피의 세포형태, 종피의 미세구조 등이 속과 종을 구분하는데 유용한 형질로 나타났으며, 화분학적 형질에서는 표면무늬와 전체 형태에 많은 변이가 있어 속내 분류군들의 유집 및 분류가 불가능하였다. 동위효소 분석에서는 분류군에 따라 지역, 집단간 변이가 매우 심하게 나타났지만 금강초롱꽃과 가장 유사한 분류군은 초롱꽃과 섬초롱꽃으로 유집되어 나타났다. 이상의 결과에서 금강초롱꽃屬은 근연 분류군과 표피의 형질, 동위효소 분석등에서 근연 분류군과 뚜렷한 차이가 있어 특산속으로서 잘 구분되었다.

참 고 문 헌

- Brisson, J. D. and R. L. Peterson. 1977. The scanning electron microscope and X-ray microanalysis in the study of seeds: a bibliography covering the period of 1967~1976. *Scanning Electron Microscopy*. 2:697-712.
- Carolin, R. D. 1980. Pattern of the seed surface of *Goodenia* and related genera.

- Austral. J. Bot. 28:123-137.
- Corner, E. J. H. 1976. The seeds of Dicotyledons. Cambridge Univ. Press. Cambridge. vol. 1:85.
- Doyle, J. A. 1969. Cretaceous angiosperm pollen and the Atlantic Coastal Plain and its evolutionary significance. J. Arnold Arbor. 50:1-35.
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Hafner Publ. Company. New York. p. 553.
- Erdtman, G. 1972. Pollen morphology and plant taxonomy. Hafner publishing Company New York. pp. 90-94.
- Faegri, K. and J. Iversen. 1964. Textbook of Pollen Analysis. Munksgard. Copenhagen. p. 237.
- Fedorov, A. A. 1957. Flora of the U. S. S. R. vol. 24. pp. 126-450.
- Geslot, A. 1980. Le tégument séminal de quelques Campanulacées : étude au microscope électronique à balayage. Adansonia series(2) 19:307-318.
- Kim, K. H. and S. Lee. 1978. Contribution to the pollen morphology and taxonomy of Korean Gymnosperms on the generic level. Jour. Kor. Fores. Soc. 40:35-42(in Korean).
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T₄. Nature 227:680-685.
- Lee, S. T. 1978. Phylogenetic significance of pollen morphology. Kor. Jour. Pl. Tax. 8:59-68.(in Korean)
- Lee, Y. M. An and K. R. Park. 1986. Palynological relationship of *Hanabusaya asiatica* Nakai within the Campanulaceae. Kor. Jour. Plant Tax. 16:25-37.(in Korean)
- Lee, Y. J. Chung and J. K. Lee. 1988. A palynotaxonomic study of the Korean Campanulaceae. Kor. Jour. Plant Tax. 18:115-131.(in Korean)
- Lewontin, R. C. and Hubby, J. L. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudo-obscura*. Genetics 54:595-609.
- Metcalfe, C. R. and L. Chalk. 1950. Anatomy of Dicotyledons 2. Oxford, Clarendon Press.
- Muller, J. 1970. Palynological evidence on early differentiation of angiosperms. Biol. Rev. 45:417-450.
- Nakai, T. 1909. Plantae novae Asiaticae. Bot. Mag. Tokyo. 23:185-192.
- Nakai, T. 1911. Flora Koreana II. Jour. Coll. Sci. Tokyo Univ. 31:64-68.
- Pasteur, N. 1988. Practical isozyme genetics. Ellis Horwood Ltd. pp. 194-195.
- Shetler, S. G and N. R. Morin. 1986. Seed morphology in North American Campanulaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 73:653-688.
- Thulin, M. 1974. *Gunillaea* and *Namacodon*. Two new genera of Campanulaceae in Africa. Bot. Not. 127:165-182.
- 沼田 眞. 1981. 種子の科学. 研成社. pp. 161-162.
(접수일:1995년 11월 5일)

PLATE 1

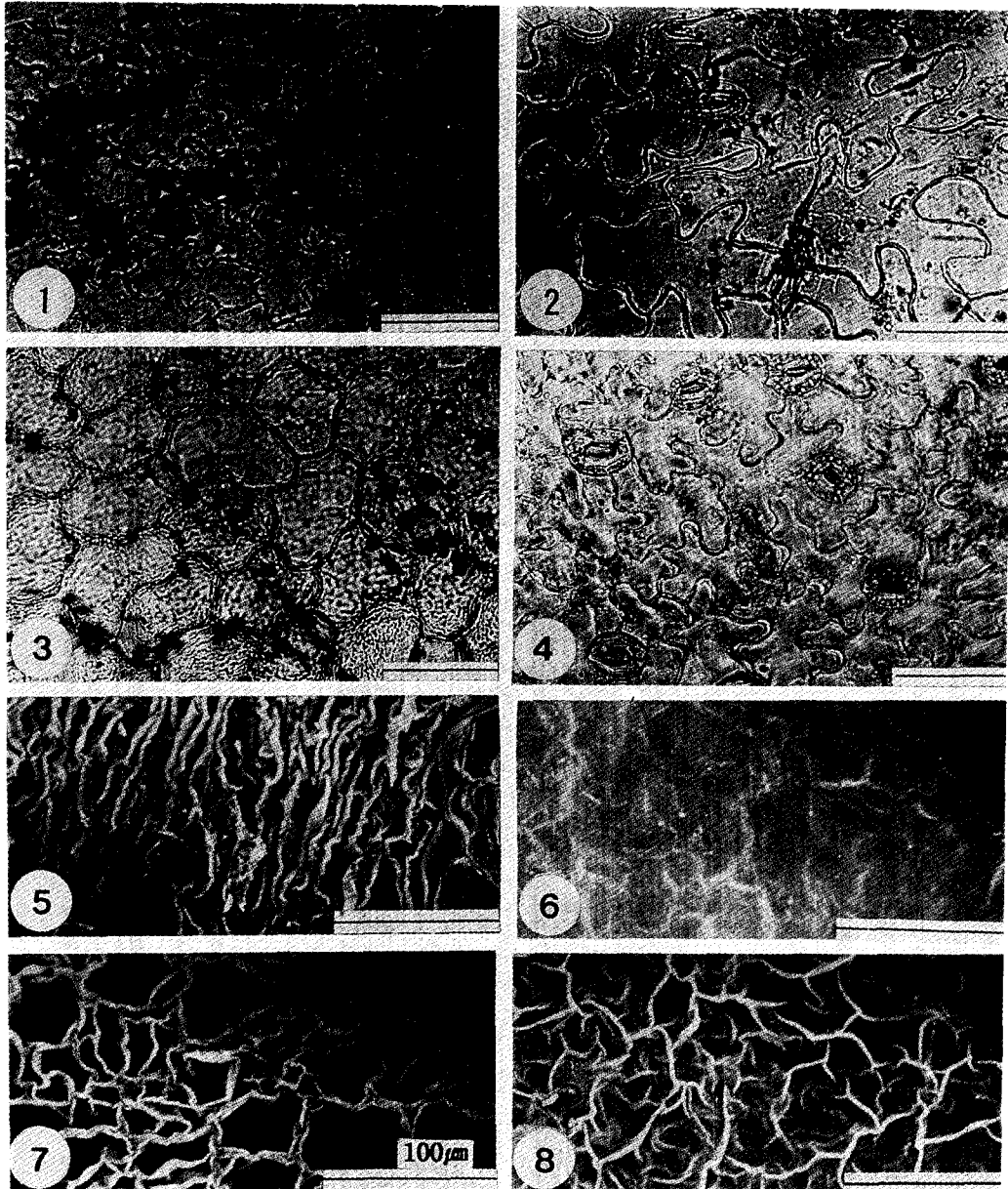


Plate 1. Observation of cell pattern of leaf epidermis(1-4) by LM and perianth by SEM(5-8)

1. Adaxial surface of *Adenophora remotiflora*

2. Abaxial surface of *A. remotiflora*

3. Adaxial surface of *Hanabusaya asiatica*

4. Abaxial surface of *H. asiatica*

5. *Asyneuma japonicum*

6. *Hanabusaya asiatica*

7. *Campanula glomerata* var. *dahurica*

8. *Adenophora remotiflora*

PLATE 2

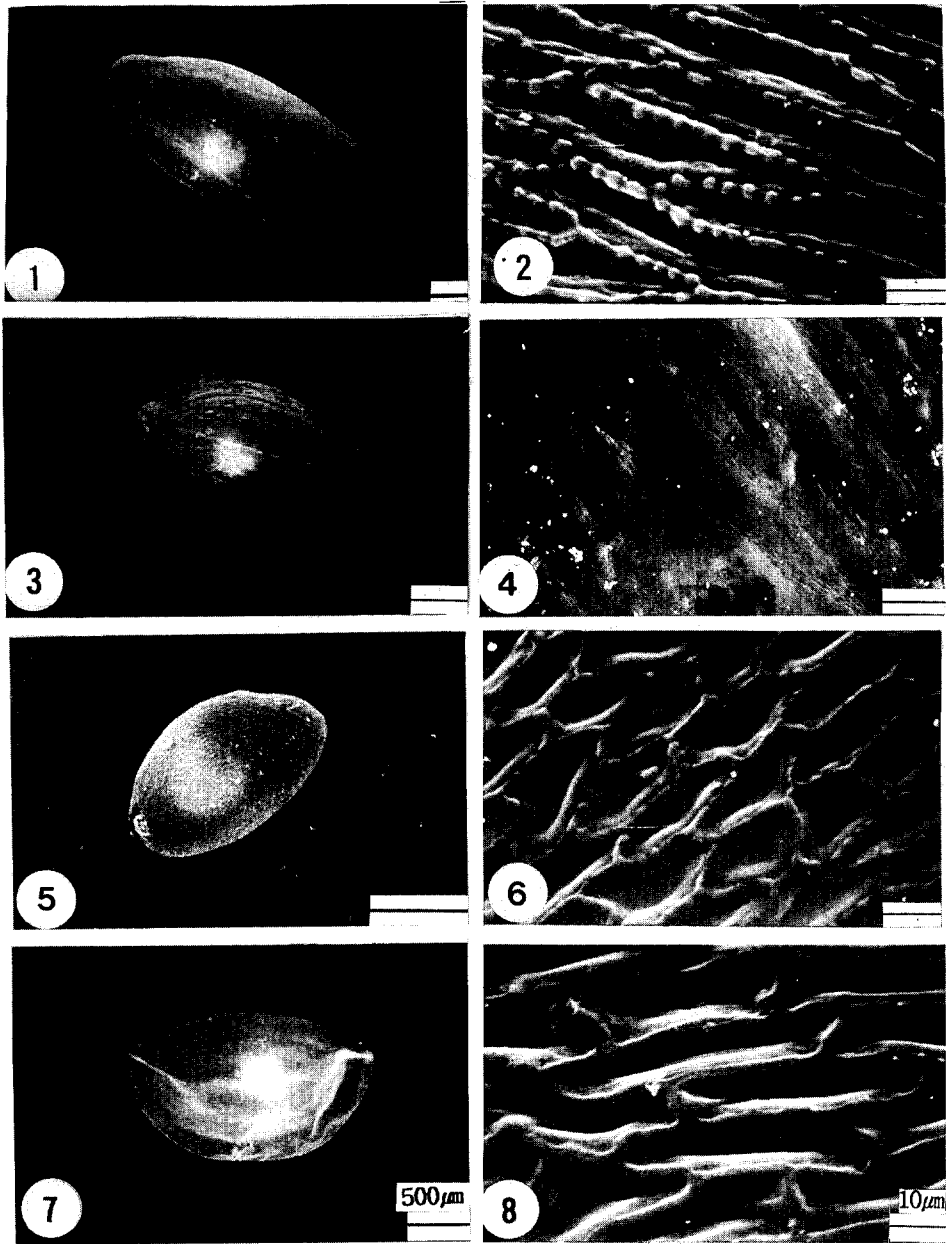


Plate 2. SEM photographs of seed

1. *Adenophora remotiflora*

3. *Campanula glomerata* var. *dahurica*

5. *Asyneuma japonicum*

7. *Hanabusaya asiatica*

2. *Adenophora remotiflora*

4. *Campanula glomerata* var. *dahurica*

6. *Asyneuma japonicum*

8. *Hanabusaya asiatica*

PLATE 3

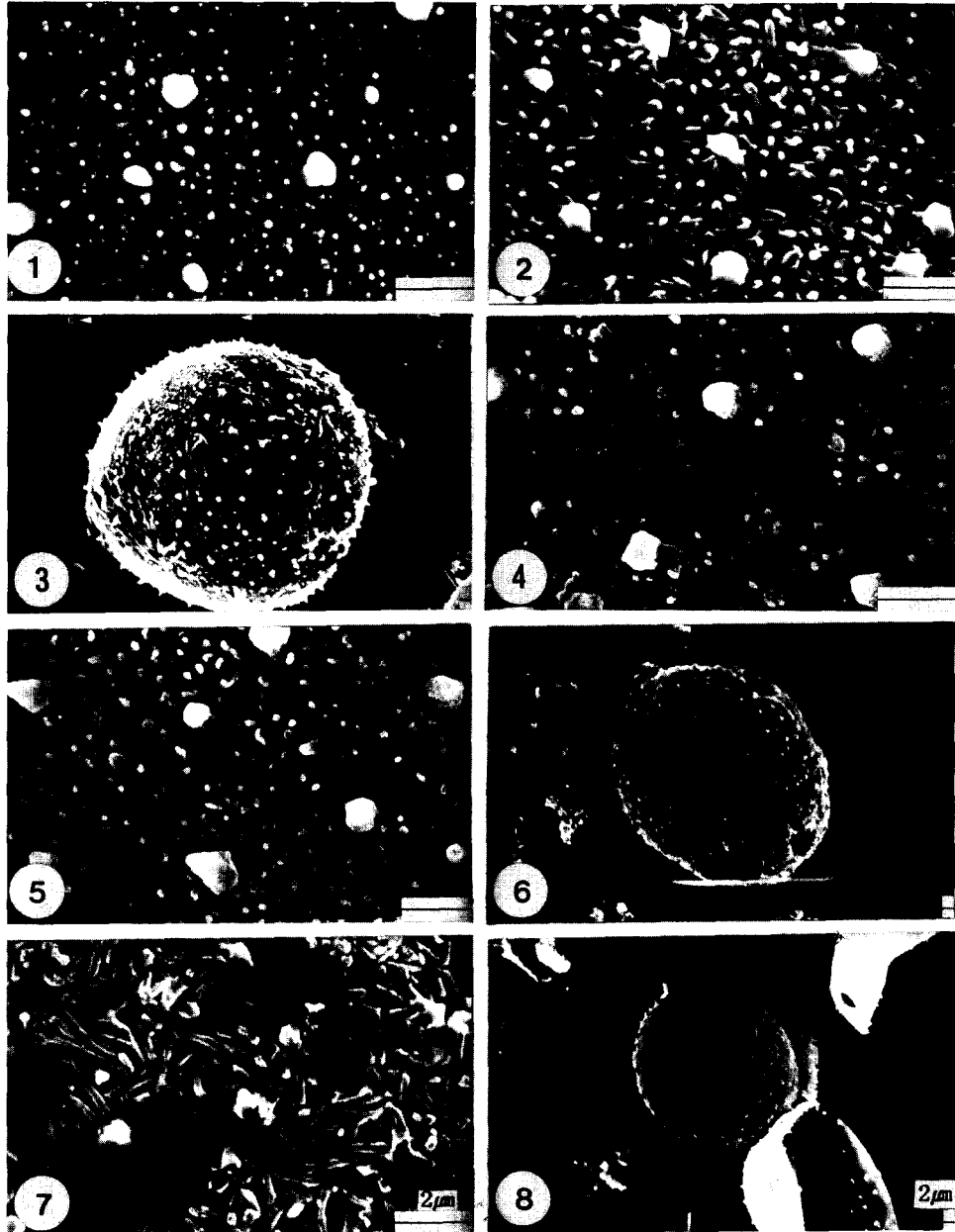


Plate 3. SEM photographs of pollen grains(1-8)

1. *Adenophora divaricata*

3. *A. remotiflora*

5. *Adenophora grandiflora*

7. *Asyneuma japonicum*

2. *A. verticillata*

4. *A. remotiflora*

6. *Asyneuma japonicum*

8. *Campanula punctata*

PLATE 4

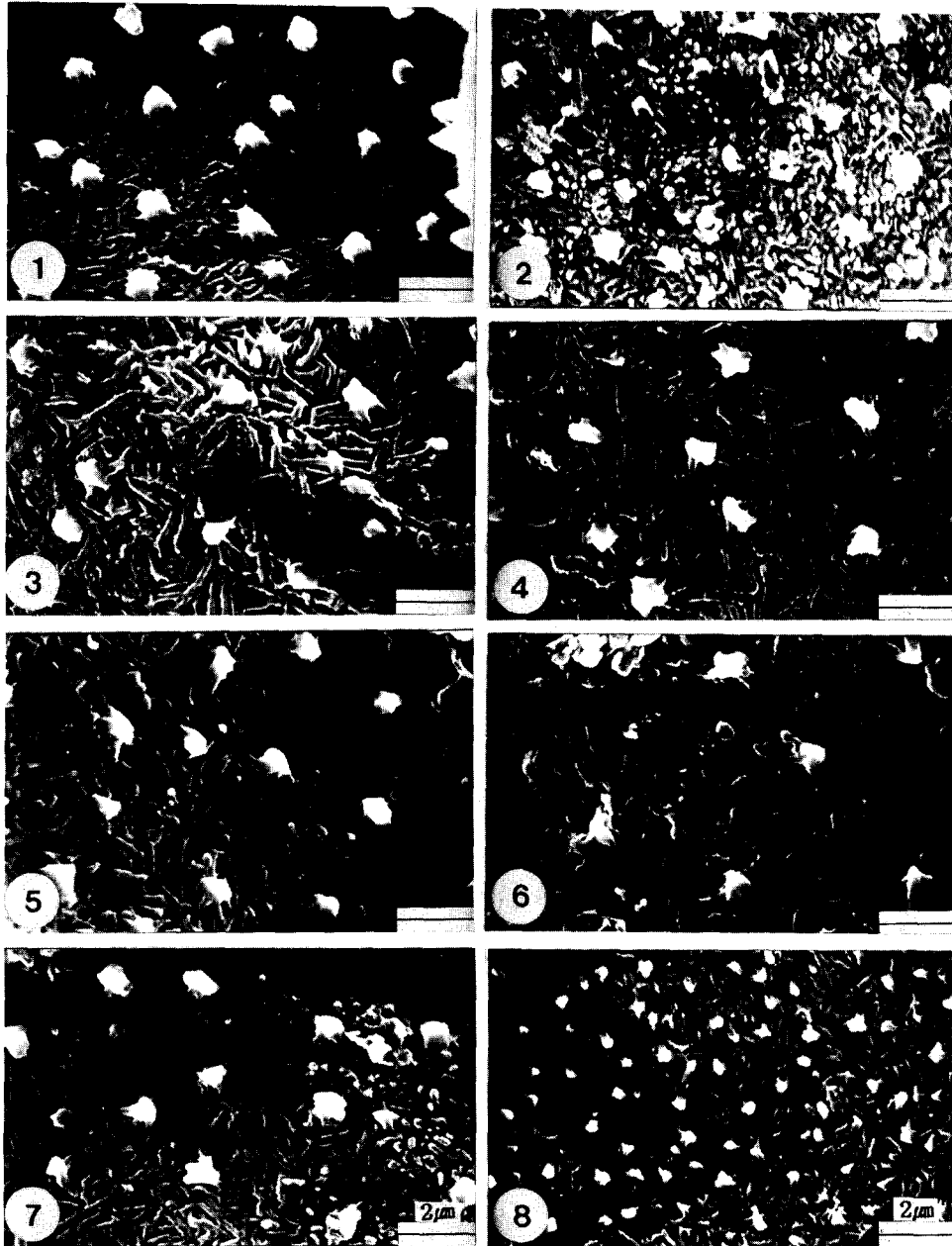


Plate 4. SEM photographs of pollen grains.

1. *Campanula punctata*

3. *Hanabusaya asiatica*(Soraksan)

5. *H. asiatica*(Chokdaebong)

7. *H. asiatica*(Odaesan)

2. *C. glomerata* var. *dahurica*

4. *H. asiatica*(Jumbongsan)

6. *H. asiatica*(Hyangrobong)

8. *H. asiatica*(Kachilbong)