

RAPD에 의한 한국산 붓꽃속(*Iris*)의 계통분류학적 연구

박선주^{1*} · 심정기² · 박홍덕³

(영남대 생명공학연구소¹ · 목원대 생물학과² · 대구가톨릭대 생물학과³)

한국산 붓꽃속(*Iris* L.; Iridaceae) 15종과 비교군인 등심붓꽃속(*Sisyrinchium angustifolium* Mill.)과 범부채속(*Belamcanda chinensis* (L.) DC.)을 포함한 17분류군을 대상으로 RAPD분석이 수행되었다. 10개의 oligoprimer를 이용한 효소중합반응에서 80개의 유효한 polymorphic band가 확인되었다. 유전적 상사도 지수에 의하여 bootstrap을 포함한 neighbour-joining 방법을 통하여 계통수를 평가하였다. 한국산 붓꽃속은 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*) 또는 2속과 1아속으로 분류되어지고, 붓꽃아속(*Limniris*)은 6개의 분계조를 형성하고 있어 Waddick(1992)이 설정한 2절, 6계열의 분류체계가 더 타당하다고 생각된다. *Chinensis*계열은 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 구분되어진다. *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열(시베리아붓꽃, 붓꽃)과 매우 가까운 유연관계를 형성하고 있으며, *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃은 *Ruthenicae*계열에 속하는 솔붓꽃, 난장이붓꽃과 가까운 유연관계를 나타내고 있다. RAPD 분석자료를 기초로 한 한국산 붓꽃속의 계통학적 연구는 형태학적, ITS 염기서열 결과와 비슷한 결과를 제시하였고, 많은 학자들에 의해 논란이 된 분류군들의 문제를 해결하는데 유용한 접근 방법이라 생각되며, 전체 붓꽃속 수준에서의 계통분석에 유용한 도구로 이용될 수 있는 것으로 사료된다.

주요어 : 붓꽃속, RAPD, NJ, 계통학적 연구

붓꽃과(Iridaceae)는 백합목(Liliales)으로 분류하기도 하고(Lawrence, 1951; Cronquist, 1981) 또는 붓꽃목(Iridales)으로 독립시켜 분류하기도 한다(Hutchison, 1959). 붓꽃과 식물은 대부분 다년생초본이지만 드물게는 1년생초본, 상록성초본, 및 소관목도 포함된다(Goldblatt, 1971; Cronquist, 1981). 붓꽃속(*Iris* L.)은 붓꽃과(Iridaceae)에 속하는 식물로 전세계에 200여종이 주로 북반구 온대에 분포하며(Goldblatt, 1971),

*교신저자 : 전화 : 053) 810-2987, 전송 : 053) 816-8498, 전자우편 : sjpark01@yu.ac.kr
(접수 : 2002년 9월 16일, 심사완료 : 2002년 11월 2일)

한반도 특산인 *I. koreana* Nakai(노랑붓꽃), *I. odaesanensis* Y. Lee(노랑무늬붓꽃), *I. rossii* Baker var. *latifolia* Sim et Kim(넓은잎각시붓꽃), 및 *I. rossii* for. *alba* Y. Lee(흰각시붓꽃)을 포함하여, 한반도에는 11종, 4변종, 1품종이 자생하고 있다(Sim, 1988).

붓꽃속은 Linnaeus(1753)에 의하여 처음 속이 설정된 이후 Lawrence(1953), Rodionenko(1961), Waddick(1992), Zhao(1992) 등에 의해 분류체계가 연구되었는데, 학자에 따라 상당한 이견을 가지고 있다(Table 1). 상기한 붓꽃속의 분류체계중 가장 널리 인정되고 있는 것은 Rodionenko(1961)의 견해로서 그는 붓꽃속을 다음과 같이 6개의 아속으로 분류하였다. 외화피편에 부속물이 없는 *Limniris*아속, 외화피편에 부속물이 없고, 외화피편이 제금형인 *Xyridion*아속, 외화피편에 부속물인 털이 없고, 돌기가 있는 *Crossiris*아속, 외화피편에 털이나 돌기가 없고, 화경은 규칙적으로 수회 돌로 분지하는 *Pardanthopsis*아속, 외화피편에 단세포성 또는 다세포성 털이 있고, 종자에 가종피가 없는 *Iris*아속, 근경은 작고 육질의 뿌리를 가지는 *Nepalensis*아속 등으로 구분하고 있다. 또한 *Limniris*아속을 *Limniris*절, *Unguicularis*절 및 *Ioniris*절 등 3절로 분류하였는데, *Limniris*절은 화주는 기부에서 분지하고, 꽃이 진후 화피통은 삭과 위에 남아있지 않으며, *Unguicularis*절은 삭과가 삼각상으로 3개의 능선이 있고, 종자에는 부속물이 없으며, 화주는 작은 돌기가 있다. *Ioniris*절은 삭과가 아원형으로 종자에는 배봉선이 있고, 광택이 있으며, 포는 다소 편평하고 화피통이나 삭과를 찌는 특징에 의해 구분하였다. *Limniris*절은 다시 4개 아절(*Apogon*, *Ensatae*, *Tenuifoliae*, 및 *Syriacae*)로 분류되며, *Limniris*절의 *Apogon*아절은 9개의 계열(*Sibiricae*, *Prismaticae*, *Laevigata*, *Chinensis*, *Californicae*, *Hexagonae*, *Longipetalae*, *Tripetalae*, *Vernae*)로 나누어진다. 이상과 같은 Rodionenko(1961)의 분류체계는 표본재료를 대상으로 외부형태학적 분류형질을 재검토하였고, 생체재료를 이용하여 해부학적 방법과 화학적 형질을 이용한 체계이다. 따라서 그 이후의 분류체계와 관한 언급은 Rodionenko(1961)의 견해와 비교한 연구들이 주를 이루었다(Waddick, 1992; Zhao, 1992). 한국산 붓꽃속의 분류체계는 Rodionenko(1961)의 견해를 기준으로 Sim(1988)은 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*)과 가장 많은 분류군이 포함되어 있는 *Limniris*아속내에 2절(*Limniris*, *Ioniris*), 2아절(*Apogon*, *Ensatae*), 그리고 6계열(*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*), *Crossiris*아속에 1절(*Crossiris*)로 세분하였고, Zhao(1992)의 분류체계에 따르면 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*), *Limniris*아속에 2절(*Limniris*, *Ioniris*), *Crossiris*아속에 1절(*Crossiris*)로 나누어지고, Waddick(1992)에 따르면 1아속(*Limniris*), *Limniris*아속에 2절(*Limniris*, *Lophiris*)을 두었으며, *Limniris*절에 6계열(*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*)의 분류체계로 분류되어진다(Table 1).

특히 많은 학자들에 의해 문제가 되고 있는 대청부채(*Iris dichotoma*)는 특이한 종집단

Table 1. Taxonomic dispositions of Korean *Iris* by previous authors

Rodionenko(1961) and Sim(1988)	Zhao(1992)	Waddick(1992)
Genus <i>Iris</i>	Genus <i>Iris</i>	Genus <i>Iris</i>
Subgenus <i>Limniris</i>	Subgenus <i>Limniris</i>	Subgenus <i>Limniris</i>
Section <i>Limniris</i>	Section <i>Limniris</i>	Section <i>Limniris</i>
Subsection <i>Apogon</i>		
Series <i>Sibircae</i>		Series <i>Sibircae</i>
<i>I. sanguinea</i>	<i>I. sanguinea</i>	<i>I. sanguinea</i>
<i>I. sibirica</i>		<i>I. sibirica</i>
Series <i>Laevigatae</i>		Series <i>Laevigatae</i>
<i>I. ensata</i> var. <i>spontanea</i>		<i>I. ensata</i>
<i>I. pseudacorus</i>	<i>I. pseudacorus</i>	<i>I. pseudacorus</i>
<i>I. laevigata</i>	<i>I. laevigata</i>	<i>I. laevigata</i>
Series <i>Chinensis</i>		Series <i>Chinensis</i>
<i>I. minutoaurea</i>	<i>I. minutoaurea</i>	<i>I. minutoaurea</i>
<i>I. rossii</i> var. <i>rossii</i>	<i>I. rossii</i>	<i>I. rossii</i>
<i>I. koreana</i>		
<i>I. odaesanensis</i>		
Series <i>Tripetalae</i>		Series <i>Tripetalae</i>
<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>
Subsection <i>Ensatae</i>		
Series <i>Ensatae</i>		Series <i>Ensatae</i>
<i>I. lactea</i> var. <i>chinensis</i>	<i>I. lactea</i>	<i>I. lactea</i>
Section <i>Ioniris</i>	Section <i>Ioniris</i>	
Series <i>Ruthenicae</i>		Series <i>Ruthenicae</i>
<i>I. ruthenica</i> var. <i>nana</i>	<i>I. ruthenica</i>	<i>I. ruthenica</i>
<i>I. uniflora</i> var. <i>caricina</i>	<i>I. uniflora</i>	<i>I. uniflora</i>
Subgenus <i>Crossiris</i>		Subgenus <i>Crossiris</i>
Section <i>Crossiris</i>		Section <i>Crossiris</i>
Series <i>Tectores</i>	Section <i>Lophiris</i>	
<i>I. tectorum</i>	<i>I. tectorum</i> Maxim.	<i>I. tectorum</i>
Subgenus <i>Pardanthopsis</i>	Subgenus <i>Pardanthopsis</i>	Genus <i>Pardanthopsis</i>
<i>I. dichotoma</i>	<i>I. dichotoma</i>	<i>P. dichotoma</i>

으로 화서는 규칙적으로 여러차례 둘로 분지하고, 씨에는 작은 가종피가 있는 특징으로 붓꽃속의 *Pardanthopsis*아속으로 설정하는 학자(Baker, 1892; Rodionenko, 1961; Zhao,

1992)가 있는 반면에, Lenz(1972), Mathew(1981), Waddick(1992) 등은 화서가 많이 분지하고 꽃이 많이 달리며, 꽃의 수명이 매우 짧고 화피통은 거의 없으며, 꽃이 진 후 비틀어 시드는 특징을 들어 대청부채를 독립된 속인 *Pardanthopsis*속으로 분리하기도 하였다. 또한 외화피에 털이 없고, 닭벼슬모양의 돌기물이 있는 연미붓꽃(*I. tectorum*)에 대하여 Rodionenko(1961), Sim(1988) 및 Zhao(1992)는 *Crossiris*아속의 *Crossiris*절로 분류계급을 설정하는가 하면, Waddick(1992)은 *Limniris*아속의 *Lophiris*절로 처리하는 등 분류 체계에 혼돈이 있어왔다.

속이하 분류체계의 비교와 일부 종에 있어서 논란이 되고 있는 분류군 즉, 금붓꽃(*I. minutoaurea*), 노랑붓꽃(*I. koreana*), 노랑무늬붓꽃(*I. odaesanensis*), 그리고 각시붓꽃(*I. rossii*) 계열에 대한 실체에 대하여 한 개의 series(계열)로 해야 한다는 견해와 (Rodionenko, 1961) 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 나누어야 한다는 견해가 있다(Sim, 1988; Sim *et al.*, 2002; Sim and Kim, 2002).

이상과 같이 형태학적인 연구결과 학자들간에 속이하의 분류계급에 견해 차이가 있는바, 우선 국내에 분포하는 붓꽃속을 대상으로 학자에 따라 문제시 되고 있는 대청부채와 연미붓꽃의 분류학적 계급과, *Chinensis*계의 분류 체계에 대하여 명확히 하고 이에 대한 한국산 붓꽃속의 유연관계를 파악하고자 한다. 이를 위하여, 핵산의 다형현상을 분석함으로써 유전형의 기본적 차이를 결정하는 여러 가지 방법등 중에서 최근 계통분류학에 많이 적용시키고 있는 Random amplified polymorphic DNA (RAPD)를 실험방법으로 사용하였다. RAPD 분석은 간단한 10-mer primer를 가지고 소량의 DNA로부터 PCR을 이용하여 많은 양의 분자유전학적 표지인자를 손쉽게 검색할 수 있는 장점을 가지고 있다. 따라서 RAPD는 본 연구의 목적인 한국산 붓꽃속 및 속내 분류군의 계통학적 위치와 유연관계를 파악하는데 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료의 전체 genomic DNA는 총 17종이다(Table 2). 한국산 붓꽃속을 대상으로 한 형태학, 해부학, 화학적 특징들은 연구하여, 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*)으로 구분한 Sim(1988)의 견해에 따라 *Limniris*아속에 13분류군, *Crossiris*아속에 1분류군, *Pardanthopsis*아속에 1분류군 그리고 비교군으로는 계통학적으로 가까운 등심붓꽃속(*Sisyrinchium*)의 등심붓꽃(*S. angustifolium* Mill.)과 범부채속(*Belamcanda*)의 범부채[*B. chinensis* (L.) DC]를 선정하였다(Rodionenko, 1961; Waddick, 1992; Zhao, 1992).

DNA추출 및 PCR: DNA추출은 생체 혹은 건조표본을 이용하였으며, 생체는 목원대학교와 대구가톨릭대학교에서 이식, 재배한 것을 사용하였다. 이러한 DNA 추출은 액체질소를

Table 2. Plant materials used for this study. Vouchers are deposited at YNUS (Yeungnam University), MCU (Mokwon University), DCU (Catholic University of Daegu). The taxonomic treatment followed the system by Sim (1988)

Taxon	Source	Locality
Genus <i>Iris</i>		
Subgenus <i>Limniris</i>		
Section <i>Limniris</i>		
Subsection <i>Apogon</i>		
Series <i>Sibiricae</i>		
<i>I. sanguinea</i> Donn ex Horn.	J. Sim 967(MWU)	Jeollabuk-do, Jeonju
<i>I. sibirica</i> L.	J. Sim 876(MWU)	Daejeon, Doan-dong
Series <i>Laevigatae</i>		
<i>I. ensata</i> var. <i>spontanea</i> (Makino) Nakai	J. Sim 854(MWU)	Gyeonggi-do, Mt. Chungnyeongsan
<i>I. pseudacorus</i> L.	J. Sim 850(MWU)	Daejeon, Doan-dong
<i>I. laevigata</i> Fisch. ex Turcz.	H. Park 379(DCU)	Gyeongsangbuk-do, Hayang
Series <i>Chinensis</i>		
<i>I. minutoaurea</i> Makino	J. Sim 840(MWU)	Chungcheogbuk-do, Boeun
<i>I. rossii</i> Baker var. <i>rossii</i>	J. Sim 887(MWU)	Daejeon, Okyeobong
<i>I. rossii</i> Baker var. <i>latifolia</i> Sim et Kim	J. Sim 889(MWU)	Daejeon, Anyeong-ri
<i>I. koreana</i> Nakai	J. Sim 842(MWU)	Jeollabuk-do, Byeonsanbando
<i>I. odaesanensis</i> Y. Lee		
Series <i>Tripetalae</i>		
<i>I. setosa</i> Palla. ex Link	J. Sim 873(MWU)	Gangwon-do, Samcheok
Subsection <i>Ensatae</i>		
Series <i>Ensatae</i>		
<i>I. lactea</i> var. <i>chinensis</i> (Fisch.) Koidz.	J. Sim 902(MWU)	Jeollanam-do, Mt. Jeogye-san
Section <i>Ioniris</i>		
Series <i>Ruthenicae</i>		
<i>I. ruthenica</i> var. <i>nana</i> Maxim.	J. Sim 896(MWU)	Daejeon, Doan-dong
<i>I. uniflora</i> var. <i>caricina</i> Kitagawa	J. Sim 891(MWU)	Gangwon-do, Mt. Seorak-san
Subgenus <i>Crossiris</i>		
Section <i>Crossiris</i>		
Series <i>Tectores</i>		
<i>I. tectorum</i> Maxim.	J. Sim 940(MWU)	Gyeongsangnam-do, Hadong

Table 2. Continued.

Taxon	Source	Locality
Subgenus <i>Pardanthopsis</i>		
<i>I. dichotoma</i> Pall.	J. Sim 900(MWU)	Incheon, Daecheong-do Island
outgroup		
<i>Sisyrinchium</i>		
<i>S. angustifolium</i> Mill.	J. Sim 051(MWU)	Jeju-do Island, Ara-dong
<i>Belamcanda</i>		
<i>B. chinensis</i> (L.) DC.	J. Sim 808(MWU)	Gangwon-do, Samcheok

이용하여 잎을 파쇄한 후, 2×CTAB 방법으로 60℃에서 small scale DNA 추출방법을 이용하여 추출하였다(Doyle and Doyle, 1987; Lookermam and Jansen, 1996). RAPD 증폭의 증폭반응은 Techne thermal cycler에서 수행하였다. PCR 반응은 전체 50 μ l 부피로 행하며, 20-100ng을 사용하였다. PCR의 반응조건은 94℃에서 3분동안 denaturation, 50℃에서 1분동안 annealing, 72℃에서 1분 동안 extension, 그리고 매 사이클마다 1초씩 증가되는 extension step을 수행하였다. 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 DNA산물은 1.2% agarose gel로 전기영동하여 band를 확인한 후 위치를 결정하였다.

자료 및 계통수 분석: RAPD결과는 각 band를 하나의 형질로 취급하여 유, 무에 따라 각기 1과 0으로 표시하고, 전체 OTU에 대한 자료행렬을 작성하였으며, PAUP 4.02b (Swofford, 2001)을 사용하였으며, 또한 Nei(1972)의 유전적 거리지수를 다소 변형한 Nei-Li의 거리지수를 이용하여 상사도 행렬을 도출하였다. 도출된 자료행렬에 따라 유전적 유사도를 기초로 한 neighbor-joining tree (NJ)를 산출하였다(Saitou and Nei, 1987). 또한 각 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 Bootstrap (Felsenstain, 1985)을 이용하였다.

결 과

유전자의 변이: 본 17종의 RAPD 결과 본 연구에 사용된 random primer는 총 200개였으며, 그 중 primer screening을 통해 반응이 일어난 primer는 35개였다. 본 실험에서 반응이 일어난 35개의 primer는 대부분 G+C content가 매우 높았으며(69%), 그 중 3번 반복 실험을 통해 분류군 전체에서 반응이 일어난 것은 10개였다(Table 3). 이러한 결과는 일반적으로 primer의 염기구성이 DNA의 증폭길이에 커다란 영향을 미치며

Fig. 1. RAPD patterns of primer No. N-8023.

M. 100bp DNA Ladder

- | | |
|---|--|
| Lane 1. <i>Sisyrinchium angustifolium</i> Mill. | Lane 2. <i>Belamcanda chinensis</i> DC. |
| Lane 3. <i>Iris sanguinea</i> Donn ex Hornemann | Lane 4. <i>Iris sibirica</i> L. |
| Lane 5. <i>Iris ensata</i> var. <i>spontanea</i> (Makino) Nakai | |
| Lane 6. <i>Iris pseudacorus</i> L. | Lane 7. <i>Iris levigata</i> Fisch. ex Turcz. |
| Lane 8. <i>Iris minutoaurea</i> Makino | Lane 9. <i>Iris koreana</i> Nakai |
| Lane 10. <i>Iris odaesanensis</i> Y. Lee | Lane 11. <i>Iris rossii</i> Baker var. <i>rossii</i> |
| Lane 12. <i>Iris rossii</i> var. <i>latifolia</i> Sim et Kim | Lane 13. <i>Iris setosa</i> Pallas ex Link |
| Lane 14. <i>Iris lactea</i> Pall. var. <i>chinensis</i> (Fischer) Koidz. | |
| Lane 15. <i>Iris ruthenica</i> Ker-Gawler var. <i>nana</i> Maxim. | |
| Lane 16. <i>Iris uniflora</i> Pall. ex Link var. <i>caricina</i> Kitagawa | |
| Lane 17. <i>Iris tectorum</i> Maxim. | Lane 18. <i>Iris dichotoma</i> Pallas |

(Williams *et al.*, 1990) random primer에 있어서 G+C content 가 높을수록 DNA 증폭은 매우 잘 일어난다는 견해와 일치하였다(Fritsch *et al.*, 1993). PCR과정을 통하여 증폭된 RAPD 절편들은 200bp에서 2,500bp사이의 구간에서 관찰되었고, RAPD marker의 수는 primer마다 3-12개로 다양하게 나타났으며, 종간에 서로 차이를 나타내거나, 종내의 지역개체군간에 동일하거나 서로 다른 band 양상이 관찰되었다(Figs. 1, 2). 10개의 primer로부터 자료분석에 유용한 80개의 scorable RAPD markers가 최종분석에 이용되었고, 이를 근거로 Nei-Li의 유전적 거리지수를 이용하여 비유사도(상사도) 지수 행렬을 도출하였다(Table 4). 유전적 상사도지수행렬에 의하면 연미붓꽃과 *Iris*속 내 분류군 간의 변이는 9.7-19.6%, *Limniris*아속의 *Sibiricae*계열과 *Iris*속 내 다른 분류군 간의 종간변이는 3.7-16.3%이며, *Laevigatae*계열과 다른 계열과의 비교 시 종간변이는 5.3-18.9%, *Chinensis*계열중 금붓꽃, 노랑무늬붓꽃, 노랑붓꽃의 종간변이는 7.1-24.7%, 각시붓꽃과 넓은잎각시붓꽃사이 변이는 4.99%, *Ruthenicae*계열(솔붓꽃, 난장이붓꽃)의 종간변이는 8.4-31.6%를 나타내었다. *Tripetale*계열(부채붓꽃)은 14.3-16.3%, *Ensatae*계열(타래붓꽃)은

Fig. 2. RAPD patterns of primer No. N-8044.

M. 100bp DNA Ladder

- Lane 1. *Sisyrinchium angustifolium* Mill. Lane 2. *Belamcanda chinensis* DC.
 Lane 3. *Iris sanguinea* Donn ex Hornemann Lane 4. *Iris sibirica* L.
 Lane 5. *Iris ensata* var. *spontanea* (Makino) Nakai
 Lane 6. *Iris pseudacorus* L. Lane 7. *Iris leavigata* Fisch. ex Turcz.
 Lane 8. *Iris minutoaurea* Makino Lane 9. *Iris koreana* Nakai
 Lane 10. *Iris odaesanensis* Y. Lee Lane 11. *Iris rossii* Baker var. *rossii*
 Lane 12. *Iris rossii* var. *latifolia* Sim et Kim Lane 13. *Iris setosa* Pall. ex Link
 Lane 14. *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz.
 Lane 15. *Iris ruthenica* Ker-Gawler var. *nana* Maxim.
 Lane 16. *Iris uniflora* Pall. ex Link var. *caricina* Kitag.
 Lane 17. *Iris tectorum* Maxim. Lane 18. *Iris dichotoma* Pall.

Table 3. The list of 10 primers used of RAPDs analysis in this study

Primer NO.	Sequence(5' to 3')	Primer NO.	Sequence(5' to 3')
N-8008	TCGGCTCTGG	N-8030	GCCACCTCCT
N-8009	GGGTAACGCC	N-8036	GGGCCCCGAGG
N-8013	GTTTCGCTCC	N-8044	TGCCGAGCTG
N-8022	GGTACTCCAC	N-8046	TTCCCGGAGC
N-8023	CAGGCGGCGT	N-8047	CAGCACCCAC

11.4-19.2%를 나타내었다.

고 찰

RAPD의 연구결과는 한국산의 붓꽃속의 분류체계, 유연관계를 파악하는데 도움이 되었

다. 한국산 붓꽃속은 외부형태학적으로 Rodionenko(1961), Sim(1988), 및 Zhao(1992)의 견해에 따르면, 외화피편에 부속물이 없고, 화경은 수회 둘로 분지하며, 종자에 가종피가 있는 *Pardanthopsis*아속, 외화피편에 부속물이 있는 *Crossiris*아속, 외화피편에 부속물이 없고 종자에 가종피가 없는 *Limniris*아속 등의 3아속으로 나누어진다고 하였으며, Waddick(1992)의 견해에 따르면 *Pardanthopsis*는 별개의 속으로 분리되며 나머지는 *Limniris*아속에 포함된다. 한국의 대청도 및 백령도에 분포하고, 화서가 산형상취산화서이며, 화경은 2-3회 분지하고, 꽃이 진 후, 화피편은 나선으로 비틀어지며, 종자는 장타원형으로 가운데가 오목하며, 양 끝에 날개모양의 가종피를 갖는 대청부채는 학자에 따라 독립된 속(*Pardanthopsis*)으로 (Lenz, 1972; Mathew, 1981) 또는 붓꽃속의 아속(*Padanthopsis*)으로 해야 한다고 주장(Rodionenko, 1961; Sim, 1988; Zhao, 1992; Waddick, 1992)하는 등 의견이 분분한데, 본 RAPD의 연구결과, 대청부채는 외화피편과 내화피편의 형태의 차이와 화주 분지는 편평한 화판상이며, 수술은 덮는 특징을 가지고 있는 붓꽃속의 분계조와 같이 묶이지 않고 outgroup인 범부채와 연미붓꽃 그리고 *Limniris*아속의 중간단계의 유집군을 형성하는 결과를 보여주어 기존의 학자들이 제시한 붓꽃속의 아속과, 새로운 속으로의 분류체계중 어느것도 강하게 지지 될 수 없는 자료를 나타내었다. 또한 외화피에 털이 없고, 닭벼슬모양의 돌기물이 있는 연미붓꽃(*I. tectorum*)에 대하여 Rodionenko(1961), Sim(1988) 및 Zhao(1992)는 *Crossiris*아속의 *Crossiris*절로 분류계급을 설정하는가 하면, Waddick(1992)은 *Limniris*아속의 *Lophiris*절로 하는 등 분류체계에 혼돈이 있어왔는데 본 연구의 결과 85% bootstrap 지지도를 가지고 *Limniris*아속으로 유집되는 결과를 나타내어 Waddick(1992)의 견해가 타당함을 보여주었다. *Limniris*아속은 절, 아절, 그리고 계열로 구분되거나(Rodionenko, 1961; Sim, 1988; Waddick, 1992)와 절로만 나누어지기도 한다(Zhao, 1992)(Table. 1). 즉, Rodionenko(1961)와 Sim(1988)은 붓꽃아속을 2절(*Limniris*, *Ioniris*), 2아절(*Apogon*, *Ensatae*), 6계열(*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*)로 세분하였으며, Zhao(1992)는 2절(*Limniris*, *Ioniris*), Waddick(1992)은 1절(*Limniris*)로 구분하였는데, 본 *Limniris*아속의 RAPD에 근거한 계통수는 크게 4개의 분계조(Fig. 3)를 형성하여, Waddick(1992)의 견해에 더 가까운 것으로 나타났다. 즉, *Sibiricae*계열에 속하는 시베리아붓꽃과 붓꽃이 하나의 유집군을 형성하면서, *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃과 분계조를 형성하고 있다. *Chinensis*계열에 속하는 금붓꽃군과 각시붓꽃군은 2개의 유집군으로 구별된다. 즉, 각시붓꽃, 흰각시붓꽃이 하나의 유집군을 금붓꽃, 노랑붓꽃, 노랑무늬붓꽃은 별개의 유집군을 형성하고 있어, *Chinensis*계열은 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 양분되어야 한다고 주장한 Sim(1988), Sim et al.(2002), Sim and Kim(2002)의 견해가 타당함을 보여주었다. 또한 Sim et al.(2002)의 ITS 연구결과 금붓꽃과 가까운 종은 노랑붓꽃이라고 하였으나, 본 연구결과 노랑붓꽃은 노랑무늬붓꽃과 가장

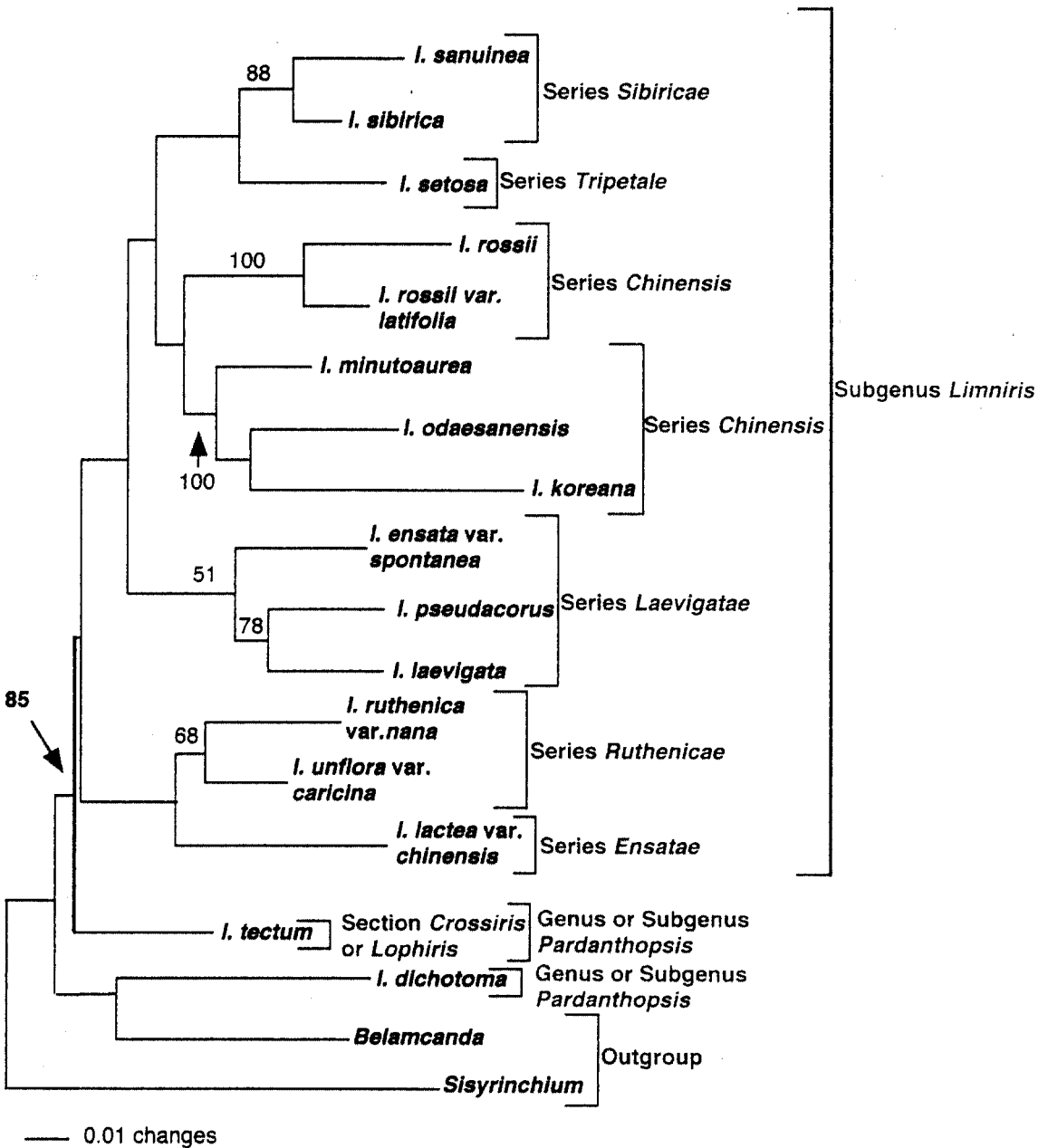


Fig. 3. Neighbour-Joining (NJ) tree. The bootstrap values are found above branches.

가까운 유연관계를 나타내고 있어 이 분류군에 대한 유연관계는 차후 좀 더 연구해야 할 필요성이 요구된다. *Laevigatae*계열에 속하는 노랑꽃창포, 꽃창포, 제비붓꽃이 분계조를 이루고 있으며, *Ruthenicae*계열에 속하는 솔붓꽃과 난쟁이붓꽃이 가까운 유집군을 이루면서 *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃과 분계조를 이루고 있다. 따라서 이러한 RAPD의 결과는 Sim *et al.*(2002)의 ITS의 결과와 거의 유사한 유집경향을 나타내고 있다.

이상의 RAPD 분석자료의 결과로서 한국산 붓꽃속의 분류체계는 Rodionenko(1961), Sim(1988), 및 Zhao(1992)가 주장하고 있는 3아속, Waddick(1992)의 2속, 1아속의 분류체계중 어느것도 지지하지 않는 결과를 나타내어 분류체계의 설정문제는 앞으로의 과제로 남겨두고자 한다. 한편, 붓꽃아속의 *Limniris*절은 2개의 분계조로 세분되는 계열을 포함하여, 4개의 분계조를 형성하고 있어 Waddick(1992)이 설정한 6계열로 구분하는게 타당하다고 사료된다. *Chinensis*계열은 단일 group으로 유집되었지만, 보다 세분하는 경우는 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 분리되어야 한다고 사료된다. 또한 *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열과 매우 가까운 유연관계를 형성하고 있으며, *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃은 *Ruthenicae*계열과 가까운 유연관계를 나타내고 있다. 그러나 붓꽃속은 약 200여종이나 되는 큰 분류군으로 전체적인 분류체계를 수립하지 못한 점은 향후 과제로 남겨 두고자 한다. RAPD 분석자료를 기초로 한 한국산 붓꽃속의 계통학적 연구는 형태학적, ITS 염기서열 결과와 비슷한 결과를 제시하였고, 많은 학자들에 의해 논란이 된 분류군들의 문제를 해결하는데 유용한 접근방법이라 생각되나, 대청부채와 연미붓꽃의 분류체계를 확립하기 위한 자료로는 불충분하며, 이 문제를 해결하기 위해서는 부가적인 분류군 및 RAPD와 같은 다른 유용한 marker를 이용하여 전체 붓꽃속 수준에서의 계통을 논한다면 분류체계, 유연관계 및 진화경향성을 규명하는데 유용할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 과학기술부 21세기 프론티어연구개발사업/자생식물이용기술사업(과제번호 : PF001201-06)의 일부 지원에 의해 수행되었습니다. 본 논문에 좋은 조언을 해주신 두명의 심사자님께 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Baker, J. G. 1892. Handbook of the Iridaceae. George Bell and Sons. London. Pp. 1-47.
 Cronquist, A. 1981. An Intergrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia Univ. Press. New York. Pp. 1211-1213.

- 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.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Goldblatt, P. 1971. Cytological and morphological studies in Southern African Iridaceae. *Jour. South Africa Bot.* 37:317-460.
- 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.
- Lenz, L. W. 1972. The status of *Pardanthopsis* (Iridaceae). *Aliso* 7:401-403.
- Linne, C. 1753. *Species Plantarum. Holmiae* (Stockholm).
- Lookermam D. J. and R. K. Jansen. 1996. The use of herbarium material for DNA studies. *In* *Sampling the Green World.* Stuessy, T. F. and D. H. Sömer (eds.) Columbia University Press, New York.
- Mathew, B. 1981. *The Iris.* Batsford, London.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 106:283-292.
- Rodionenko, 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. thesis, Korea Univ. Seoul. (in Korean).
- Sim, J. K., H. D. Park and S. J. Park. 2002. Phylogenetic study of Korean *Iris* (Iridaceae) based on nrDNA ITS sequences. *Kor. J. Plant. Tax.* 32:33-53.
- Sim, J. K. and J. H. Kim. 2002. A systematic study of the genus *Iris* series *Chinensis* Lawrence (Iridaceae) based on RAPD analysis. *Kor. J. Plant. Tax.* 32:95-108.
- Swofford, D. L. 2001. *PAUP-Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) ver. 4.0b2.* Academic Press, Sunderland, MA.
- Waddick, J. W. 1992. *Chinese Iris in the Wild and in the Garden.* Timber Press, Portland, Oregon.
- Williams, J., A. Kubelik, J. Rafalski and S. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18:6231-6239.
- Zhao, Y. T. 1992. *The Iris of China.* Timber Press, Portland, Oregon.

A molecular systematic study of Korean *Iris* (Iridaceae) based on RAPD analysis

Park, Seon-Joo^{1*}, Sim, Jeong-Ki², Hong-Duok Park³

¹Institute of Biotechnology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea;

²Department of Biology, Mokwon University, Daejeon 302-729, Korea;

³Department of Biology, Catholic University of Daegu, Kyongsan 712-702, Korea)

RAPD analyses were compared for 17 taxa of Korean *Iris* including the subgenus *Sisyrinchium* and *Belamcanda*. Eighty scorable RAPD markers were formed from the PCR reactions using 10 random oligoprimers. In this systematic analyses which used neighbor-joining methods including bootstrapping analyses with genetic coefficients, the Korean *Iris* were divided into three subgenera (*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*), or two genera (*Limniris*, *Pardanthopsis*). The molecular data agree with the previous classification system that recognized two sections and six series for the subgenus *Limniris* because the subgenus is comprised of four clades in the RAPD analyses. According to the molecular data, the series *Chinensis* should be divided into two groups. The *minutoaurea* group is composed of *I. koreana*, *I. odaesanensis*, and *I. minutoaurea*, while the *rossi* group is comprised of two varieties of *I. rossi*. The series *Tripetalae* is closely allied with the series *Sibiricae*, whereas the series *Ensatae* is recognized as a sister group to the series *Ruthencae*. The molecular phylogeny, which was based on RAPD analysis, for the most part agreed with the data proposed by previous authors. This is because the basis of morphological and ITS sequence data suggests that the RAPD markers should be very useful in addressing phylogenetic questions about the genus *Iris*.

Key words: *Iris*, RAPD, NJ, molecular phylogeny.

*Corresponding author: Phone: +82-53-810-2987, Fax: +82-53-816-8498,
e-mail: sjpark01@yu.ac.kr