

덩굴딸기(*Rubus oldhami*)의 종내변이

김미나, 장수길, 유기억*

강원대학교 자연과학대학 생명과학부

Intraspecific Variations of *Rubus oldhami*

Kim, Mi-Na, Su-Kil Jang and Ki-Oug Yoo*

Division of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT

Taxonomic studies on morphological, principal component analysis (PCA), palynological, RAPD and PCR-RFLP analysis were conducted to intraspecific relationships of *Rubus oldhami*. Three types of *Rubus oldhami* based on the flower characters such as petal length and number were used in this study. Among the 14 morphological characters, perianth length, calyx lobe length, apical leaflet shape and leaflet length were used to distinguish for each type. The pollen characters such as shape, aperture number, surface sculpture were showed very similar among three types. Eight primers out of 20 arbitrary primers were screened for three types, and were revealed 33 (60%) polymorphic bands. The phenogram by RAPD data showed incongruent with morphological analysis. Even though ten restriction endonucleases produced 20 restriction sites, polymorphic bands were not observed. Based on the results, three types of *Rubus oldhami* divided well by morphological characters, but pollen and DNA data were not supported. Therefore, type 1 and 2 which different from type 3 by flower characters considered as a temporary hybrid or ecotype because of their similar habitats.

Key words : Intraspecific relationship, morphology, pollen, PCR-RFLP, RAPD, *Rubus oldhami*

서언

덩굴딸기 (*Rubus oldhami*)는 장미목 (Rosales), 장미과 (Rosaceae), 산딸기나무속 (*Rubus*)에 속하는 낙엽활엽관목으로 가지가 길게 뻗어 줄딸기라고 불리워 지기도 한다(이, 1996B; 이, 2003). 장미과 식물은 전세계적으로 약 100속 3000여종이 분포하는 것으로 알려

져 있으며, 산딸기나무속은 북반구에 넓게 분포하고 딸기속 (*Fragaria*), 배나무속 (*Pyrus*)과 더불어 주요 작물로 널리 재배되기도 한다. 덩굴딸기는 산딸기나무속 식물 중 가장 흔한 종으로 우리나라 뿐만 아니라 히말라야 지방에서 중국 서부, 히말라야 북부에서 일본까지 폭넓게 분포하며 우리나라에는 전도 각지의 산기슭과 골짜기 주변에서 볼 수 있다(이, 1996a, b; 고와 전,

*교신저자 : E-mail : yooko@kangwon.ac.kr

2003). 그러나 자연상태에서는 자연잡종이 많이 생기고, 드물게 자웅이주인 개체도 나타나 종내 변이는 매우 심한 실정이다(고와 전, 2003). 현재까지 덩굴딸기의 변이체에 대한 국내기록은 분홍색 꽃이 피는 모종에 비해 백색 꽃이 피는 개체(이, 2003)가 있다는 보고만이 있을 뿐이다. 본 연구에서는 강원도 태백시 대덕산에서 꽃잎의 수와 크기, 꽃받침 수에 있어 기본종과 차이를 보이는 2가지 형태의 변이체를 발견하였으며, 이들에 대한 분류학적 연구를 통하여 덩굴딸기의 종내 유연관계를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

실험재료는 크게 3가지의 유형, 즉 꽃이 겹꽃으로 피는 유형(type 1), 꽃잎의 수가 많고, 꽃잎과 꽃받침의 크기가 기본종보다 크게 나타나는 변이형(type 2), 그리고 5장의 꽃잎과 꽃받침을 가지는 정상적인 유형(type 3)으로 나누어 사용하였다.

방법

외부형태학적 형질 : 외부형태 형질은 2003년부터 2004년 까지 자생지에서 수집한 생체재료와 강원대학교 표본실(KWNU)에 소장되어 있는 석엽표본을 사용하였으며 채집지 정보는 Table 1과 같다. 외부형태 형질의 기재에 사용한 용어는 Jones와 Luchsinger(1986)를 따랐으며 우리말 용어는 이(2002)를 참조하였다.

주성분 분석 : 주성분 분석은 외부형태학적 형질에서 사용한 16가지의 공통형질을 이용하여 기초자료행렬을 작성하고 이를 토대로 SAS program(ver. 6.02)을 이용하여 분석하였다.

화분학적 형질 : 화분은 생체 및 석엽표본의 꽃에서 약(anther)만을 제거 한 Erdtman(1952)의 방법을 개량한 Livingstone법(Kim and Lee, 1978)을 따라 초산분해(acetolysis)한 후 시료로 사용하였다. 광학현미경(Olympus Vanox) 관찰을 위해서는 glycerin jelly에 화분을 매몰시켜 영구 표본을 만든 후 양호한 상태의 화분을 유형별로 20개 이상을 100배 또는 400배로 관찰, 측정하였으며, 화분의 표면 미세구조 관찰은 한국기초과학지원연구원 춘천분소의 저진공주사전자현미경(LVSEM, Hitachi S-

Table 1. Collection data of *Rubus oldhami* used in this study

Type	Species	Collection site	Collection date	Collector
1	<i>Rubus oldhami</i>	GW : Mt. Daeduk	May 18, 2003	Ki-Oug Yoo
		GW : Mt. Daeduk	May 18, 2003	Ki-Oug Yoo
		GW : Mt. Daeduk	May 18, 2003	Ki-Oug Yoo
2		GW : Mt. Daeduk	May 20, 2004	Ki-Oug Yoo
		GW : Mt. Daeduk	May 20, 2004	Ki-Oug Yoo
		GW : Mt. Daeduk	May 20, 2004	Ki-Oug Yoo
		GW : Mt. Daeduk	May 20, 2004	Ki-Oug Yoo
3		GW : Chuncheon	May 22, 1976	Woo-Tchul Lee
		GW : Soguemgang	May 8, 1988	Woo-Tchul Lee
		GW : Mt. Yeonyeob	May 3, 1997	Woo-Tchul Lee
		GW : Mt. Odae	May 20, 2004	Ki-Oug Yoo

*GW : Gangwon-do.

3500N)을 사용하였다. 화분형태에 사용한 용어는 Faegri와 Iversen(1964), 그리고 우리말 용어는 Lee(1978)을 따랐다.

RAPD와 PCR-RFLP 분석 : 실험에 사용할 DNA의 추출은 Doyle과 Doyle(1987)의 방법을 따랐으며, 추출한 DNA는 Beckman spectrophotometer로 정량한 후 5ng/ μ l로 희석하여 PCR을 위한 DNA로 사용하였다. PCR은 Williams 등(1990)의 방법을 따랐으며, DNA 증폭은 DNA Thermal Cycler (Biometra, Whatmam Co.)로 수행하였다. RAPD를 위한 primer는 Operon사의 random primer 20종류를 사용하였다. PCR 조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 pre-denaturation, 94 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation, 35 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 extension하여 40회 반복한 후 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 더 유지시켰다. 증폭된 DNA는 1.1% agarose gel에 전기영동한 후 UV하에서 polaroid camera로 촬영하였다. 분자량 비교를 위한 marker로는 100 bp DNA ladder와 100 bp Plus DNA Ladder를 사용하였다. PCR-RFLP는 Demesure 등(1995)의 방법을 따라 9부분의 cpDNA non-coding region을 대상으로 증폭하였으며 PCR 조건은 92 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation, 55 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 extension하여 45회 반복한 후 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 더 유지시켰 주었다. 증폭된 DNA는 10가지의 제한 효소 (*MspI*, *TaqI*, *HinfI*, *DraI*, *HindIII*, *PstI*, *XhoI*, *BamHI*, *XbaI*, *EcoRV*)를 처리한 후 1.5% agarose gel에 전

기영동 하였고, UV하에서 band를 확인하고 polaroid camera로 촬영하였다. 분자량 비교를 위한 marker로는 100 bp Plus DNA Ladder를 사용하였다. RAPD와 PCR-RFLP 결과를 통한 유연관계분석은 촬영된 gel 사진을 근거로 증폭된 밴드를 각각 하나의 운영분류단위(OTU, operational taxonomic unit)로 취급하여 각각에 대한 자료행렬(data matrix)을 작성하였다. 유연관계 분석을 위한 유사도는 similarity coefficient 값을 이용하였으며, 유집분석은 NTSYS-pc(version 2.02j, Applied Biostatistics, Setauket, New York, USA)를 사용하였고, 비가중산술법(UPGMA, unweighted pair-group method using arithmetic average)으로 유집하였다.

결과 및 고찰

외부형태학적 형질

줄기(stem) : 줄기는 덩굴성으로 옆으로 2m 이상 길게 뻗고 털은 없으며 전체에 굵은 가시가 있다. 작은 가지는 붉은 빛이 돌며 흰색가루로 덮여 있다. 줄기의 형질은 유형별로 차이가 없었다.

꽃(flower) : 덩굴딸기의 3가지 유형별 꽃에 대한 8가지 형질을 측정 및 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 꽃은 대부분 한 개씩 달리고 단정화서 형태로 피며, 5월에 자색 또는 드물게 흰색꽃이 피기도 한다. 꽃의 전체 크기는 type2가 가장

Table 2. Flower measurements of *Rubus oldhami*

Type	Peduncle	Petal			Calyx lobe			No. of calyx lobe
	length(mm)	Length(mm)	Width(mm)	L/W*	Length(mm)	Width(mm)	L/W	
1	29.2-43.4-74.6**	8.1-17.1-20.9	3.1-7.9-9.6	2.18	7.9-9.8-11.9	1.8-3.3-4.4	2.95	5-6
2	21.5-54.8-105.0	16.2-21.1-27.0	6.5-9.9-17.4	2.14	9.0-11.1-13.0	2.0-3.1-3.5	3.57	5-6
3	19.6-38.0-62.0	10.7-13.1-18.0	3.9-4.6-6.5	2.84	6.0-8.2-12.0	0.7-2.8-4.6	2.94	5

*=Length/Width, **=Minimum-Average-Maximum.

크게 나타났다. 화경(peduncle)은 대부분 새로운 가지에서 나고 가시가 있으며(이, 2003) 대부분 위를 향한다. 화경의 길이는 type 3이 평균 38.0mm로 가장 작았으며 두 가지 변이형들은 각각 43.4mm와 54.8mm로 크게 나타났다. 화경의 길이는 개체에 따라 매우 심한 변이폭을 가지는 것으로 관찰되었다. 꽃잎(petal)은 3가지 유형을 나누는데 매우 중요한 형질로 인정된다. 꽃잎의 길이와 폭은 type 2가 평균 21.1mm와 9.9mm로 가장 크게 나타나 겹꽃(type 1)과 정상인 기본종(type 3)과 뚜렷하게 구별되었다. 꽃잎의 모양은 기본종은 타원형이지만 나머지 두 가지 유형은 넓은타원형으로 나타났다. 꽃잎의 수도 기본종은 5개로 변이가 없었지만, type 2는 5-8개로 다양하고 크기와 모양도 불규칙하게 나타났다. 한편 type 1은 뚜렷한 겹꽃이 피는 형태로 꽃잎은 5장씩 2층으로 달리며 모양도 비슷하였다. 꽃받침(calyx)의 길이는 type 2가 평균 11.1mm로 가장 크게 나타났지만 폭은 type 1이 3.3mm로 가장 컸다. 꽃받침 열편의 수는 기본종은 5개로 변이가 없었지만 나머지 type들은 5-6개로 나타났다. 꽃받침 열편에는 가시가 있고 모양은 피침형이지만 type 2는 좁은피침형으로 나타났다.

잎(leaf) : 잎에 대한 8가지 형질을 측정, 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 잎은 호생하며 우상복엽으로 달리고 잎 끝은 예두 또는 둔두, 엽저는 예저, 가장자리에는 겹톱니가 있고 표면에는 잔털이 있으며 뒷면 맥위에도 털이 분포한다. 정소엽(apical leaflet)은 우상복엽을 구성하는 정단부 잎은 꽃잎과 마찬가지로 type 2의 길이와 폭이 가장 크게 나타났으며 나머지는 비슷하였다. 정소엽의 모양은 type 2의 경우 길이와 폭의 비가 1.19로 넓은삼각상난형을 보이는데 비해 나머지는 삼각상난형으로 구별되었다. 소엽(leaflet)은 덩굴딸기의 우상복엽을 구성하는 소엽은 5-9개였으며 겹꽃이 피는 type 1만이 5-7개로 차이를 보였다. 소엽의 길이와 폭은 정소엽

과 마찬가지로 type 2가 가장 크게 나타났으며 비율도 1.28로 넓은 삼각상난형으로 나타났다. 엽축(leaf axis)의 길이는 우상복엽을 구성하는 잎 전체의 길이로 type 1이 89.7mm로 가장 작게 나타났으며 type 2와 3은 비슷하게 나타났다. 엽축에는 아래로 향한 가시가 호생으로 달린다. 엽축의 길이는 개체에 따라 변이가 매우 심하여 분류형질로는 유용성이 없었다.

주성분 분석

덩굴딸기의 3가지 유형에 속하는 20개체에 대한 14개의 공통형질을 통하여 주성분 분석을 실시하였다. 주성분 1-3과 14개의 형질 값은 Table 4와 같다. 이에 이하면 주성분 1-3은 88.61%의 높은 누적 비율을 가지며, 61.40%의 누적비율을 가지는 주성분 1은 꽃잎의 길이(WP)와 폭(LP) 및 비율(LP/WP), 꽃받침의 길이(LCL)와 꽃받침 폭과의 비율(LCL/WCL), 정소엽의 폭(WAL)과 정소엽 길이와의 비(LAL/WAL), 엽축의 길이(LLA), 소엽의 길이(LOL)와 폭(WOL) 등 대부분의 형질에 영향을 받는 것으로 나타났다. 주성분 2는 18.84%의 누적비율을 가지며 화경의 길이(PCL), 꽃받침의 폭(WCL), 정소엽의 길이(LAL)에 영향을 받고, 주성분 3은 8.36%의 누적비율로 소엽의 길이와 폭의 비율(LOL/WOL)에 영향을 받는 것으로 나타났다. 누적비율이 높은 주성분 1과 2를 2차원에 나타내면 Fig. 1과 같다. 이에 따르면 덩굴딸기의 3가지 형태는 유형별로 구별이 가능하였다. 꽃의 크기와 꽃잎의 크기에 의해 구별되는 type 2는 비교적 넓은 변이폭을 보였고, 상대적으로 type 1과 2는 변이 폭이 많지 않았지만 두 집단은 서로 비슷한 위치에 분포하였는데 이는 형질의 연속성 때문으로 판단된다.

화분학적 형질

화분은 단립으로 크기는 소립이며 세가지 type이 유사한 값을 가졌다(Table 5, Fig. 2).

Table 3. Leaf measurements of *Rubus oldhami*

Type	Apical leaflet			Leaflet			Leaf axis(mm)
	Length(mm)	Width(mm)	L/W*	Length(mm)	Width(mm)	L/W	
1	21.6-30.5-41.8**	16.0-20.9-27.2	1.45	14.2-19.7-28.1	9.7-14.2-19.1	1.39	55.9-89.7-133.3
2	21.5-37.1-54.8	17.5-31.0-56.7	1.19	15.1-25.6-43.7	13.0-20.1-30.4	1.28	86.3-95.7-169.2
3	22.4-29.3-45.3	14.0-20.5-32.6	1.44	12.3-17.7-24.9	6.6-11.7-21.8	1.52	56.2-94.9-121.9

*=Length/Width, **=Minimum-Average-Maximum.

Table 4. The first three principal components expressed as correlations between characters and individual components from *Rubus oldhami*

Characters	PRIN1	PRIN2	PRIN3
Length of peduncle (PCL)	0.0904	-.4410*	-.5348
Width of perianth (WP)	0.3155*	-.2223	0.0713
Length of perianth (LP)	0.3116*	-.2316	-.0387
LP/WP	-.2635*	0.2376	-.2926
Width of calyx lobe (WCL)	0.0693	-.4680*	0.5506
Length of calyx lobe (LCL)	0.3207*	-.0848	0.2351
LCL/WCL	0.2919*	0.2742	-.1591
Length of apical leaflet (LAL)	0.2721*	0.2997	0.0197
Width of apical leaflet (WAL)	0.3112*	0.1711	-.0924
LAL/WAL	-.2396*	0.1696	0.2467
Length of leaf axis (LLA)	0.2927*	0.2695	-.0026
Length of leaflet (LOL)	0.2850*	0.2407	0.1779
Width of leaflet (WOL)	0.3138*	0.0946	-.0031
LOL/WOL	-.1970	0.2385	0.3693*
Eigen value	8.5961	2.6383	1.1706
Proportion	0.6140	0.1884	0.0836
Cumulative	0.6140	0.8025	0.8861

화분의 모양은 극축과 적도면의 비율이 1.29-1.31로 아장구형(subporate)에 속하며 극면상은 반각상이다. 발아구는 3개로 약공구형이며 공구 주변부의 바깥쪽 표벽이 비후되어 교각을 형성한다. 표면무늬는 유선상으로 선은 뚜렷하고 비교적 규칙적이며 골이 잘 발달하지만 type 3은 약간 낮게 나타났다. 표면의 선 아래에는 불규칙적인 작은 구멍이 존재한다. 화분에 대한 특징 등은 박 등(2001)의 결과와 일치하였으며, 유형별로는 뚜렷한 차이를 보이지 않아 분류학적

형질로서의 가치는 인정되지 않았다.

RAPD 및 PCR-RFLP분석

RAPD primer선발 및 전기영동 분석 : 덩굴딸기의 3가지 유형별 유연관계 분석을 위한 primer 스크린 결과 12개에서 DNA 증폭 반응을 보였으며, 이중 8개만이 조사된 3가지 유형의 5개체 전체에서 반응을 보였다(Table 6).

일반적으로 random 10-mer primer는 염기서열 중 guanine(G)과 cytosine(C)의 함량

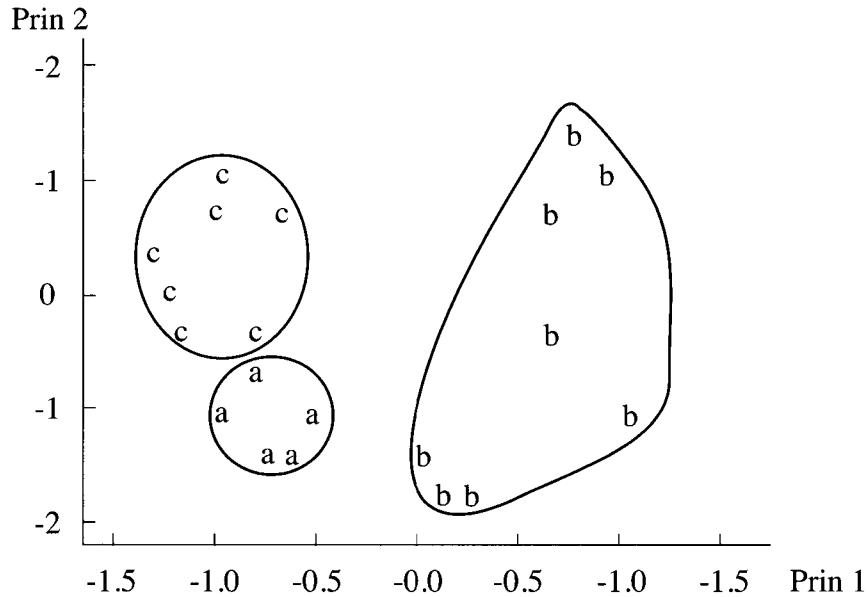


Fig. 1. Plot of the principal component analysis of *Rubus oldhami* three types based on 14 morphometric characters. (a : type 1, b : type 2, c : type 3).

Table 5. Pollen measurements of *Rubus oldhamii*

Type	Polar length(μm)	Equatorial diameter(μm)	P/E ratio
1	15.5-21.8-27.5	12.5-17.1-22.5	1.29
2	18.0-23.5-29.5	14.0-17.7-23.5	1.33
3	20.0-23.8-27.5	15.0-17.9-22.5	1.31

이 PCR 증폭에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데(Fritsch 등, 1993), 본 연구에서도 분류군 전체에서 반응이 일어난 8개의 primer에는 G와 C의 수가 60% 이상 포함되어 있었다. 증폭된 DNA 단편 크기는 0.1-2.0kb 까지 다양하게 나타났으며 주로 0.5-1.5kb 사이에 위치하였고 개체간 동일하거나 서로 다른 밴드 양상을 보였다(Fig. 3). 5개체 전체에서 반응이 일어난 8개의 primer로부터 총 55개의 밴드가 관찰되었으며, 이 중 다형성(polymorphism)을 보이는 밴드는 33개(60%)로 primer 한 개당 평균 4.1개의 다형성 밴드를 보이는 것으로 나타났고, 나머지 22개(40%)는 동일한 밴드패턴을 보였다. Primer별 다형

성 밴드수는 2개(OPA-11, OPC-02, 07, 11)에서 부터 9개(OPC-09)로 다양하였으며, 평균 밴드의 수는 6.9개였다.

PCR-RFLP를 위한 primer선발 및 전기영동 분석:엽록체 DNA 상의 9개 non-coding 지역을 증폭한 결과 3개 primer pair에서 반응을 보였다. 3지역에서 증폭된 약 6.78 kb의 DNA 각각에 대하여 10가지의 제한효소를 처리한 결과 총 8개의 restriction site를 얻었지만 모두 같은 양상을 보여 변이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 4). Demesure et al.(1995)에 의한 엽록체 DNA상의 non-coding region에 대한 universal primer pair를 이용한 RFLP

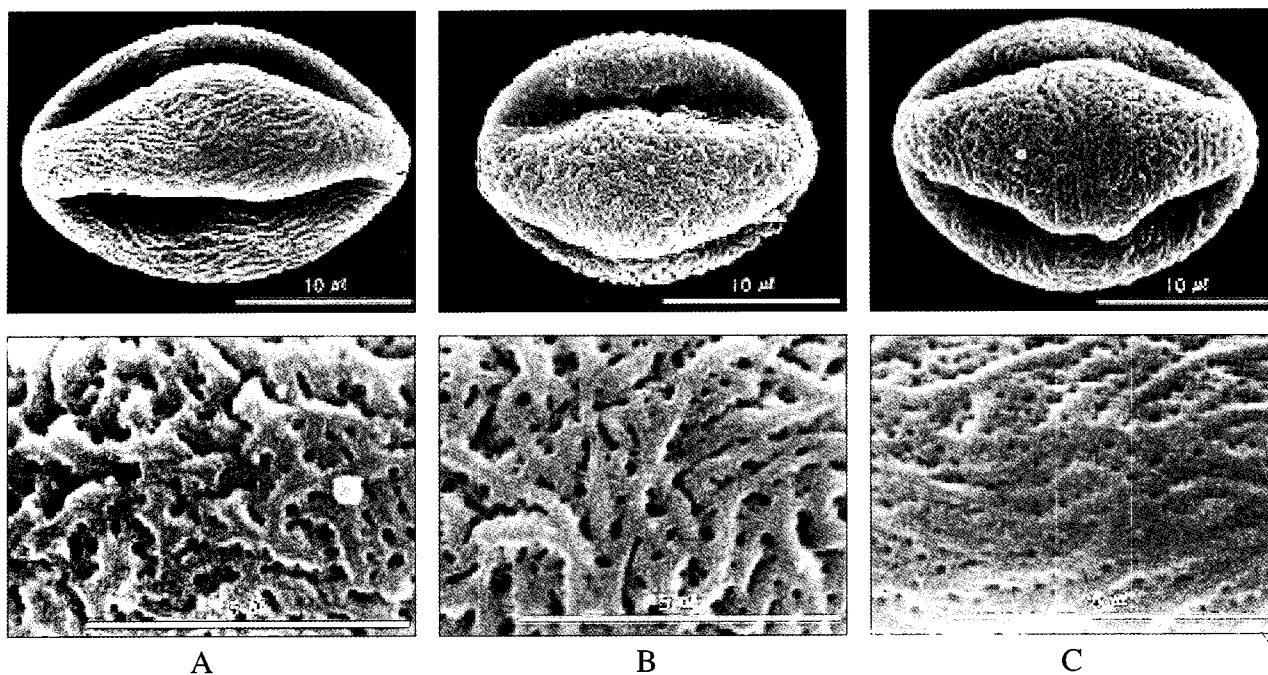


Fig. 2. Shape of pollen grains. (A:type 1, B: type 2, C: type 3).

Table 6. List of PCR primers used for the RAPD analysis

No.	Primer	Sequence (5'→3')
1	OPA-11	CAA TCG CCG T
2	OPC-02	GTG AGG CGT C
3	OPC-07	GTC CCG ACG A
4	OPC-09	CTC ACC GTC C
5	OPC-10	TGT CTG GGT G
6	OPC-11	AAA GCT GCG G
7	OPC-12	TGT CAT CCC C
8	OPC-16	CAC ACT CCA G

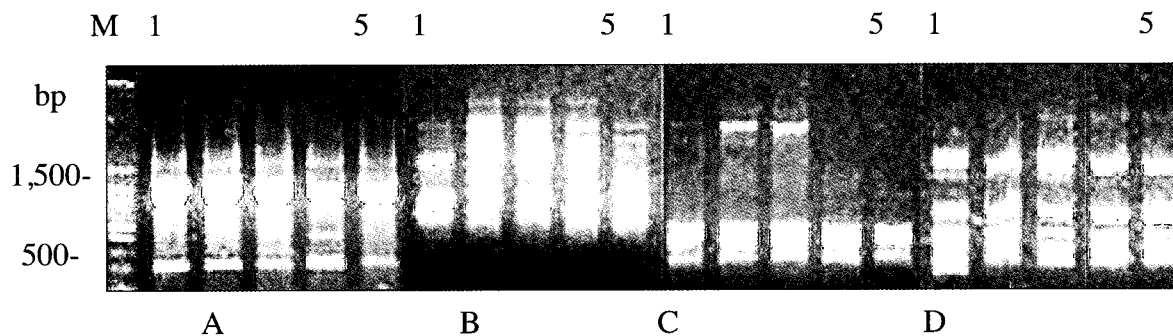


Fig. 3. RAPD profiles by OPC-7(A), 10(B), 11(C), and 16(D) of the analyzed plants (M= Marker, Lane 1=type 1, lane 2-3=type 2, and lane 4-5=type 3).

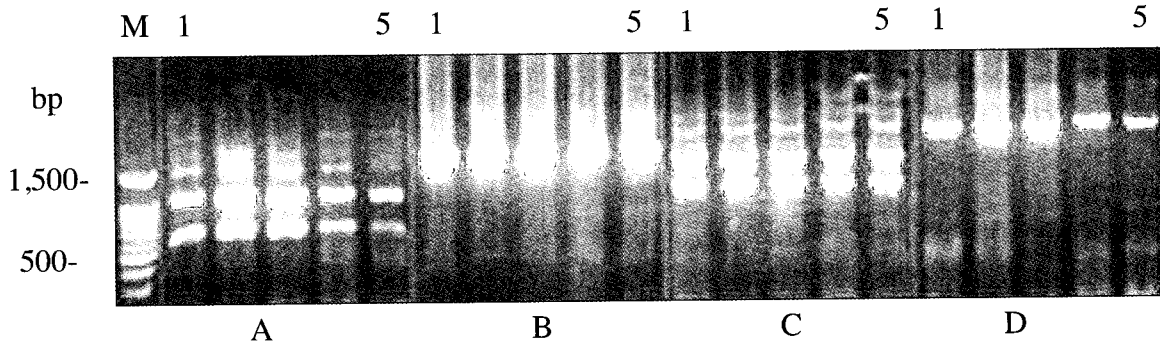


Fig. 4. Electrophoretic patterns of RFLP by *EcoRV*(A), *PstI*(B), *MspI*(C) and *XhoI*(D) from amplified DNA of *trnK*[*tRNA-Lys*(UUU) exon 1]-*trnK*(*tRNA-Lys*(UUU) exon 2](M= Marker, Lane 1=type 1, lane 2-3=type 2, and lane 4-5=type 3).

분석은 속내 계급(Messinger *et al.*, 1999; Potokina *et al.*, 1999; Choi and Wen, 2000)이나 종간 또는 종내 유연관계 분석(Yoo *et al.*, 2001)에 널리 사용되는데 본 연구에서는 변이를 보이는 밴드를 관찰하지 못했다. 이처럼 밴드의 차이가 나타나지 않는 이유는 사용된 제한효소의 종류와도 연관이 있을 것으로 생각되어 좀더 다양한 효소를 처리하거나 두 가지 제한효소를 이용하여 double digestion과정 등을 수행한다면 변이양상을 보이는 polymorphic site를 얻을 수 있을 것으로 예상된다.

유연관계분석 : 유연관계 분석은 다형화밴드가 나타난 RAPD에 의한 결과만을 대상으로 실시하였다. 8개의 primer를 이용하여 얻은 총 55개 밴드를 이용한 유집분석 결과, similarity 값에 의한 phenogram에서 재료로 사용한 5개체는 유사도 값 0.67-0.82의 범위에서 단계통군을 형성하였지만 3가지 유형별로 유집되지는 않았다(Fig. 5). 유사도 0.82정도에서 유집되는 그룹은 겹꽃이 피는 유형(type 1)과 type 3의 한 개체가 유집되어 나타났고 나머지 한 개체는 유사도 0.74 정도에서 자매군을 형성하였다. 한편 type 2의 두 개체는 유사도 0.76 수준에서 유집되었으며, type 1과 3의 군과는 유사도 0.67정도에서 유집되어 유연관계가 멀게

나타났다.

적 요

덩굴딸기의 종내 변이를 알아보기 위하여 꽃의 형질에 의해 유형화 한 3가지 유형에 대하여 외부형태학적 형질 분석, 주성분분석, 화분학적 형질 분석, RAPD 및 PCR-RFLP분석을 실시하였다. 외부형태에서는 꽃잎과 꽃받침의 크기, 정소엽과 소엽의 크기 등이 3개의 유형을 구별하는데 유용한 형질이었지만 줄기, 화경의 길이, 잎의 거치형태, 엽축의 길이, 잎에 털의 분포양상 등은 변이가 없었다. 14가지의 외부형태형질을 이용한 주성분분석에서 3가지 변이형태는 유형별로 구별이 가능하였다. 화분학적 형질에서는 화분입상, 발아구의 수, 표면무늬 등에 있어 매우 유사한 형태로 나타나 구별이 불가능하였다. RAPD분석에서는 20개의 primer 중 8개가 분류군 전체에서 반응을 보였고 이로부터 총 33개(60%)의 다형화 밴드를 얻었으며, 유집분석 결과 type 2는 독립적으로 소그룹을 형성하였지만 다른 두 가지 변이형의 개체들은 서로 중복되어 유집되어 나타났다. PCR-RFLP분석은 엽록체 DNA 중 증폭된 일부 구간을 얻을 수 있었지만 제한효소 처리 결과에서는 다형화 밴드를 전혀

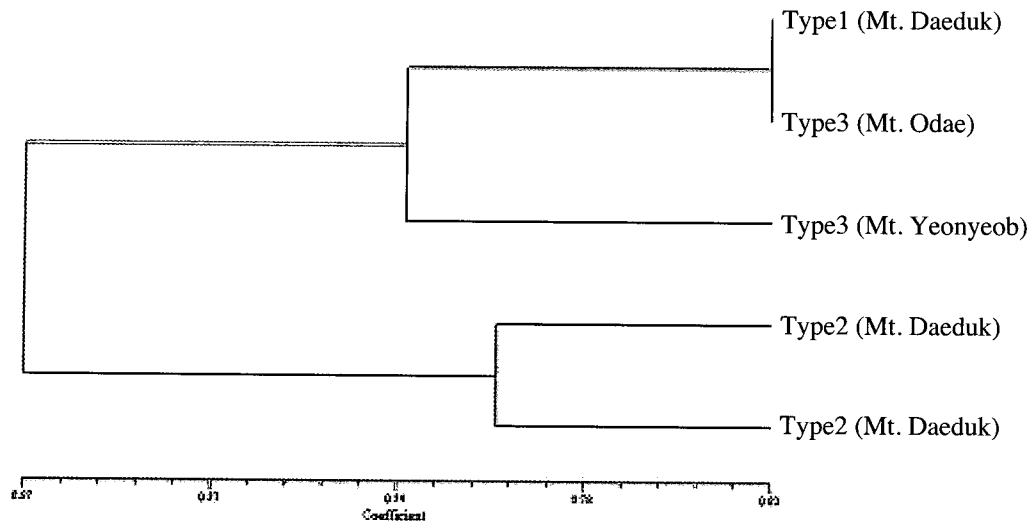


Fig. 5. Phenogram of *Rubus oldhami* based on analysis of PCR amplified fragments produced by eight arbitrary RAPD primers.

찾을 수 없었다. 이상의 결과에서 덩굴딸기의 종내변이 형태는 외부형태형질에 따라 유형별 구분이 가능하였지만 화분학적 형질이나 DNA수준에서는 전혀 뒷받침되지 못하였다. 따라서 type 1과 2는 정상개체와는 꽃의 형질에 차이가 있으나 동일한 자생지에 함께 분포하므로 자연잡종에 의한 일시적인 변이형이거나 생태종으로 보는 것이 타당할 것으로 생각된다.

사사

본 연구는 2005년 강원대학교 부속 환경연구소의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

Choi, H. K. and J. Wen. 2000. A phylogenetic analysis of *Panax* (Araliaceae) : integrating cpDNA restriction site and nrDNA ITS sequence data. *Pl. Syst. Evol.* 224 : 109-120.

Demesure, B., N. Sodji and R. J. Petit. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molec. Ecol.* 4 : 129-131.

Doyle, J. J. and J. S. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19 : 11-15.

Erdtman, G. 1952. *Pollen Morphology and plant Taxonomy. Angiosperms.* Hafner Publ., N. Y. p. 553.

Faegri, K. and J. Iversen. 1964. *Textbook of Pollen Analysis.* Munksgard. Copenhagen. p. 237.

Fritsch, P., M. A. Hanson, C. D. Spore, P. E. Pack, and L. H. Reisberg. 1993. Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related of flowering plants. *Plant Mol. Biol.* 11 : 10-20.

Jones, S. B. and J. Luchsinger. 1986. *Plant systematics.* McGrawhill Co. New York. pp. 217-252.

Kim, K. H. and S. Lee. 1978. Contribution to the pollen morphology and taxonomy of Korean Gymnosperms on the generic level. *Kor. For. Soc.* 40 : 35-42.

Lee, S. T. 1978. Phylogenetic significance of pollen

- morphology. Kor. J. Pl. Tax. 8 : 59-68.
- Messinger, W., K. Hummer and A. Liston. 1999. *Ribes* (Grossulariaceae) phylogeny as indicated by restriction-site polymorphisms of PCR-amplified chloroplast DNA. Pl. Syst. Evol. 217 : 185-195.
- Potokina, E., N. Tomooka, D. A. Vaughan, T. Alexandrova and R. -Q. Xu. 1999. Phylogeny of *Vicia subgenus Vicia* (Fabaceae) based on analysis of RAPDs and RFLP of PCR-amplified chloroplast genes. Genet. Res. Crop Evol. 46 : 149-161.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nuc. Acid Res. 18 : 6531-6535.
- Yoo, K. O., K. J. Malla and J. Wen. 2001. Chloroplast DNA variation of *Panax* (Araliaceae) in Nepal and its taxonomic implications. Brittonia 53 : 447-453.
- 고경식, 전의식. 2003. 한국의 야생식물. 일진사, 서울. p. 300
- 박호용, 김태진, 오현우. 2001. 한국의 화분Ⅱ. 한국생명공학연구원. 정행사, 서울. p. 74
- 이우철. 1996a. 원색한국기준식물도감. 아카데미서적, 서울. p. 177.
- 이우철. 1996b. 한국식물명고. 아카데미서적, 서울. pp. 531-532.
- 이유성. 2002. 현대식물분류학. 도서출판 우성, 서울. pp. 304-339.
- 이창복. 2003. 원색 대한식물도감. 향문사, 서울. p. 539
- (접수일 2005. 2. 21)
(수락일 2005. 4. 20)