

RAPD markers에 의한 상사화속 식물의 유연관계

태경환 · 김용현 · 신영화¹ · 강신호² · 김주환 · 고성철^{1*}

대전대학교 생명과학과, 한남대학교 생명과학과¹, 세명대학교 자연약재과학과²

상사화속 15분류군을 대상으로 중간 유연관계를 조사하기 위하여 RAPD 분석이 수행되었고, PCR 과정을 통해 증폭된 RAPD 절편들은 300bp에서 1,700bp 사이의 구간에서 관찰되었다. 5개의 oligoprimers를 이용한 효소증합반응에서 57개의 유효한 RAPD marker를 확인하였고, 비유사도 지수 행렬을 도출하여 UPGMA phenogram을 작성하였다. 분석결과 분류군들은 전체적으로 3개의 유집군을 형성하였는데 첫 번째 유집군에는 *L. chinensis* var. *sinuolata*, *L. sanguinea* var. *koreana*, *L. uyoensis*, *L. flavescens*, *L. radiata* var. *pumila*, *L. radiata*, *L. squamigera*, *L. chejuensis*, *L. aurea*와 *L. guangxiensis*의 10분류군이, 두 번째 유집군에는 *L. haywardii*, *L. sprengeri*, *L. rosea*, *L. straminea* 및 *L. houdyshii*의 5분류군이, 세 번째 유집군에는 비교군인 수선화와 문주란이 각각 포함되었다. RAPD 분석결과는 배수성과 핵형 등의 세포분류학적 형질들과 비교하여 볼 때 *Lycoris*속내 종간의 유연관계를 파악하는데 매우 유용한 실험적 방법임을 보여주었다.

주요어: RAPD, 배수성, 상사화속, 유연관계, 핵형

수선화과(Amaryllidaceae)에 속하는 상사화속(*Lycoris* Herb.)은 동아시아를 분포중심지로 약 30여종이 분포하고 있다(Kurita and Hsu, 1998). 꽃의 형태가 아름다워 유럽 등지에서 원예가들 사이에 인위적 잡종까지 생산해내는 등 garden flower로서 중요한 경제적 자원식물임과 동시에 알츠하이머의 질병치료약 성분으로 인경을 이용하고 있다.

상사화속에 대한 그간의 연구는 분포지역의 영향을 받아 주로 중국, 일본 및 한국의 분류학자들을 중심으로 형태학적 연구(Hsu *et al.*, 1994; Tae and Ko, 1995, 1996a; Kim, 2004)와 세포학적 연구(Kurita, 1978, 1987a, b; Tae and Ko, 1996b; Zhang *et al.*, 1999; Qin *et al.*, 2004)가 집중적으로 이루어져 왔고, 계통분류학적 접근이 시도되어 왔다. 형태학적으로는 화피의 형태와 색, 잎의 생장시기 및 폭의 크기 등이 가장 중요한 형질로 취급되고 있으나 (Creech, 1952; Hayward, 1957; Traub, 1957, 1958; Tae and Ko, 1995; Kim, 2004), 본 속의

*교신저자: 전화 042-629-8752, 전송 042-629-8751, kscaaa@hamam.ac.kr
접수: 2007년 9월 4일/완료 2008년 1월 28일

특성상 줄기가 존재하지 않고 각 기관에서 나타나는 형질은 비교적 다양하지 못한 편이다. 세포학적으로는 핵형분석을 통한 염색체 형태를 근거로 계통학적 관점에서 종의 진화에 대해 다양한 추측이 이루어지고 있으나 학자들간의 관점이 서로 대립적 양상을 보이는 등 속내에서는 흥미로운 접근분야중의 하나이다(Kurita, 1987a, b; Sivarajan, 1991; Tae and Ko, 1996b; Kurita and Hsu, 1998). 이외에도 화분학적 형질(Lee and Kim, 1987; Ren *et al.*, 1995; Tae and Ko, 1996c), 해부학적 형질(Tae and Ko, 1996d) 및 유집분석과 분계적 분석을 시도한 수리분류학적 접근(Tae and Ko, 1997a) 등이 연구되어 진 바 있다. 최근에 들어서는 유전자 수준에서 접근하는 다양한 분자유전학적 연구들이 시도되고 있는데 Tae and Ko (1997b)에 의해 한국산 6분류군을 대상으로 종간 및 종내 지역별 개체군을 대상으로 RAPD 분석을 수행한 바 있으며, Chung (1999a, b)은 백양꽃 1종(*L. sanguinea* var. *koreana*)과 석산 1종(*L. radiata*)의 각각에 대해 allozyme에 의한 분석을 조사한 바 있고, Lee and Kim(2000)은 Florescent in situ hybridization (FISH)을 이용한 종간 유연관계를 조사하였다. 또한 Lee *et al.* (2001)은 한국특산종인 붉노랑상사화(*L. flavescens*)와 백양꽃 및 진노랑상사화(*L. chinensis* var. *sinuolata*)의 isozyme의 변이로 부터 붉노랑상사화의 기원을, Cui *et al.* (2004)은 중국산 *L. longituba* 1종을 대상으로 미성숙된 꽃으로 부터 expressed sequence tags (ESTs) 분석을 통하여 종내의 유전자 다양성을, Deng *et al.* (2006)은 동일재료인 *L. longituba*의 지역별 개체군들을 대상으로 RAPD를 시도하여 변이의 정도를, Shi *et al.* (2006)은 속내 24분류군에 대해 inter-simple sequence repeat (ISSR) 분석으로 종간 유연관계를 각각 조사한 바 있다. 이처럼 최근에 들어서는 분자수준에서의 접근 방법을 통해 종간 유연관계와 종다양성의 정도를 파악하고 이를 통한 종의 실체를 파악하는데 많은 연구들이 진행되고 있으나 연구의 필요에 따라 대상 분류군이 다르거나 분류군 수가 제한적으로 이루어져 왔다.

따라서 본 연구는 국내외에서 채집된 상사화속 15분류군을 대상으로 RAPD 분석을 수행하여 종간 유연관계를 규명하고, 이를 기존의 연구결과들과 비교하여 유연관계 파악을 위한 형질의 유용성을 파악하고자 하였다.

재 료 및 방 법

재료: 본 실험에 사용된 재료는 총 17분류군으로 국내에 분포하는 상사화속 7분류군들과 비교군 2분류군 그리고 외국산 8분류군(칠리포수목원 및 중국)을 대상으로 직접 채집하여 사용하였다(Table 1). 사용된 재료는 증거표본으로 제작되어 한남대학교 자연사박물관(HNU) 및 대전대학교 생명과학과 식물표본실(TUT)에 보관되었다.

DNA 추출: 잎을 액체질소를 사용 동결시킨 뒤 막자사발로 파쇄하였고, CTAB method

Table 1. Taxa and collection data of *Lycoris* which were used in this study.

Taxa	Localities & Sources	Symb.
<i>L. aurea</i> (L'Herit.) Herb.	Cheollipo Arb. 89-0081. TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LAU
<i>L. chejuensis</i> K. Tae et S. Ko	Jeju-do, Andeok valley HNU 017467 (Aug. 13, 1993)	LJ
<i>L. chinensis</i> Traub. var. <i>sinuolata</i> K. Tae et S. Ko	Naejangsan, HNU 017452 (Aug. 1, 1993)	LCS
<i>L. uyoensis</i> M. Kim	Uy-do, Chollabuk-do TUT (Apr. 9, 2006. Tae, K.H.)	LUY
<i>L. flavescens</i> M. Kim et S. Lee	Baekyangsan, HNU 008100 (Sep. 11, 1986)	LF
<i>L. haywardii</i> Traub	Cheollipo Arb. 96-146 USA, James, Waddick TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LHA
<i>L. houdyshelii</i> Traub	Cheollipo Arb. 96-0148 USA, James, Waddick TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LHO
<i>L. guangxiensis</i> Y. Xu et G. J. Fan	Quxin, Sichuan, China TUT (Lee J. G., Aug. 10, 2002)	LGU
<i>L. radiata</i> (L'Herit.) Herb. var. <i>pumila</i> Grey	Cheollipo Arb. 96-0191 USA, James, Waddick TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LRP
<i>L. radiata</i> (L'Herit.) Herb.	Seonunsan, HNU 008099 (Sep. 20, 1987)	LR
<i>L. rosea</i> Traub et Moldenke	Cheollipo Arb. 96-0152 USA, James, Waddick TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LRO
<i>L. sanguinea</i> Maxim. var. <i>koreana</i> (Nakai) Koyama	Baekyangsan, HNU 008096 (Sep. 7, 1986)	LSK
<i>L. sprengeri</i> Comes ex Baker	Cheollipo Arb. 96-189 UK Harry Hay TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LSP
<i>L. squamigera</i> Maxim.	Sangju-si, HNU 017453 (Aug. 1, 1992)	LS
<i>L. straminea</i> Lindley	Cheollipo Arb. 77-1207 TUT (June 23, 2003. Tae, K.H. and J.H. Kim)	LST
<i>Narcissus tazetta</i> L. var. <i>chinensis</i> Roem.	TUT (Jeju-do, May 5, 1998. Tae, K.H.)	NAR
<i>Crinum asiaticum</i> L. var. <i>japonicum</i> Bak.	TUT (Jeju-do, May 5, 1998. Tae, K.H.)	CRJ

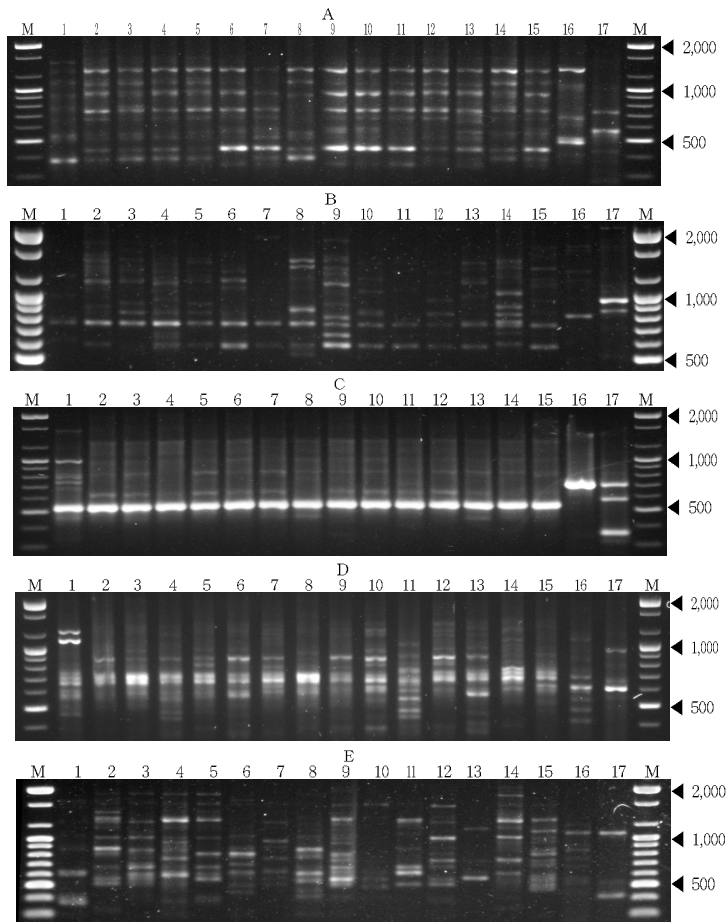


Fig. 1. RAPD electrophoresis photograph. A, primer No. 101; B, primer No. 106; C, primer No. 149; D, primer No. 156; E, primer No. 190; M, molecular maker; 1, *L. aurea*; 2, *L. chejuensis*; 3, *L. chinensis* var. *sinuolata*; 4, *L. uydoensis*; 5, *L. flavescens*; 6, *L. haywardii*; 7, *L. houdyshelii*; 8, *L. shaanxiensis*; 9, *L. radiata* var. *pumila*; 10, *L. radiata*; 11, *L. rosea*; 12, *L. sanguinea* var. *koreana*; 13, *L. sprengeri*; 14, *L. squamigera*; 15, *L. straminea*; 16, *Narcissus tazetta* var. *chinensis*; 17, *Crinum asiaticum* var. *japonicum*)

Table 2. The codes and sequences of primer analysed, total number of bands and fragment size which were used in *Lycoris*.

Primer	Sequence (5'→3')	Total no. of bands	Fragment size range(bp)
101	GCG GCT GGA G	10	300 - 1,400
106	CGT CTG CCC G	11	500 - 1,500
149	AGC AGC GTG G	11	300 - 1,500
156	GCC TGG TTG C	12	300 - 1,300
190	AGA ATC CGC C	13	400 - 1,700
Total		57	
Mean/primer		11.4	

(Doyle and Doyle, 1987)를 변형한 방법으로 진행하였다. 약 1.0 g의 분말을 0.5% 2-β-mercaptoethanol이 첨가된 15 ml의 extraction buffer (2% CTAB; 100 mM Tris, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 500 mM NaCl)에 넣은 후 65°C에서 20분간 incubation하며, 조직 내 phenol 화합물, 탄닌 등 불순물 제거를 위해 extraction buffer에 2% PVP-40을 첨가하였다. Incubation 후 SEVAC용액(chloroform:Isoamyl alcohol = 24:1) 7.5 ml를 첨가하여, 3,200 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이 부피의 2/3 되는 isopropanol을 첨가한 후, -20°C에서 12시간 보관하였고 15,000 rpm으로 50분간 원심분리하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA pellet은 70% ethanol로 세척 후 TE buffer(1 M Tris, 0.5 M EDTA, pH 8.0)에 용해하였으며, GeneClean kit (Bio 101 Inc., CA)를 이용, DNA를 정제하였다.

PCR: PCR 반응은 총 25 μl 부피로 10-50 ng DNA, 1 unit *Taq* DNA Polymerase (Bioneer), 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.001% gelatin, 0.5 μM primer 및 200 μM의 각 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 등이 포함됐다. Primer는 NAPS (University of British Columbia)에서 제작된 100개의(no. 100-200) 10-mer oligo primer를 사용하였다. PCR 조건은 94°C에서 2분간 pre-denaturation, 94°C에서 1분, 44°C에서 2분, 72°C에서 2분으로 구성된 amplifying cycle을 35회 반복하였고, 72°C에서 7분 동안 extension으로 구성된 3단계의 과정을 거쳐 DNA를 증폭하였다. 이때 각각의 primer에 대한 상기의 PCR 과정을 통한 screening을 실시, 선택된 primer별로 3회 이상의 반복실험을 수행하여 재현성이 뚜렷한 것만을 primer로 결정하였다. PCR을 통하여 합성된 DNA product는 EtBr이 포함된 1.5% agarose gel로 전기영동하여 UV-illuminator상에서 band의 존재유무를 확인하였다(Fig. 1).

유연관계 분석: RAPD 결과 각각의 band를 하나의 형질로 취급하여 유, 무에 따라 각기 1과 0으로 표시하고, 전체 OTU에 대한 자료행렬을 작성하였으며, PAUP*4.0 (Swofford, 2001, version 4.08b)을 이용 Nei (1972)의 유전적 거리지수를 다소 변형한 Nei-Li의 거리지수를 이

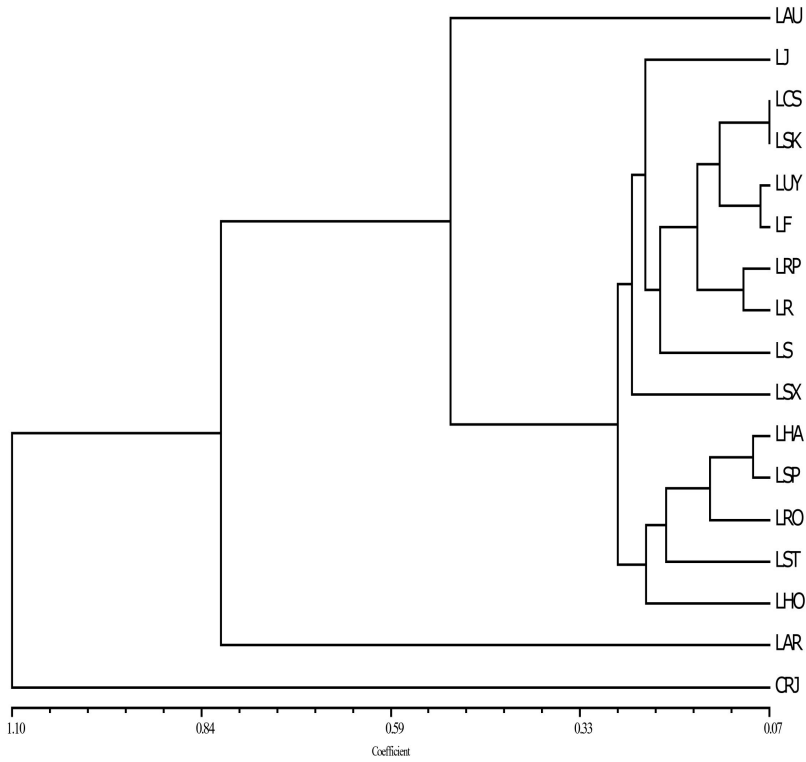


Fig. 2. A phenogram by UPGMA clustering method on *Lycoris* based on RAPD analysis.

용하여 비유사도(상사도)지수행렬을 도출하였고(Table 3), 도출된 자료행렬을 근거하여 UPGMA방법에 의한 phenogram를 작성하였다(Fig. 2).

결과 및 고찰

국내에 분포하는 상사화속 7분류군, 국외 8분류군 및 비교군 2분류군의 총 17분류군을 대상으로 RAPD 분석을 수행하였다(Fig. 1). 자료분석에 유용한 것으로 밝혀진 57개의 scorable

Table 3. Genetic dissimilarity matrix calculated by Nei(1972)'s genetic coefficient based on RAPDs analysis of *Lycoris*.

	LAU	LJ	LCS	LUY	LF	LHA	LHO	LGU	LRP	LR	LRO	LSK	LSP	LS	LST	NAR	CRJ
LAU	-																
LJ	0.057	-															
LCS	0.050	0.027	-														
LUY	0.037	0.045	0.024	-													
LF	0.037	0.032	0.014	0.014	-												
LHA	0.040	0.055	0.042	0.048	0.042	-											
LHO	0.042	0.068	0.058	0.051	0.058	0.040	-										
LGU	0.032	0.040	0.041	0.041	0.035	0.065	0.062	-									
LRP	0.044	0.052	0.030	0.030	0.025	0.032	0.058	0.048	-								
LR	0.046	0.047	0.026	0.036	0.026	0.038	0.053	0.056	0.018	-							
LRO	0.040	0.049	0.042	0.042	0.042	0.026	0.033	0.052	0.050	0.045	-						
LSK	0.049	0.031	0.012	0.033	0.022	0.035	0.057	0.046	0.034	0.019	0.035	-					
LSP	0.040	0.048	0.042	0.048	0.030	0.015	0.047	0.065	0.026	0.027	0.026	0.035	-				
LS	0.045	0.053	0.041	0.030	0.030	0.056	0.053	0.042	0.031	0.037	0.065	0.052	0.056	-			
LST	0.042	0.044	0.038	0.044	0.038	0.029	0.043	0.060	0.034	0.041	0.048	0.043	0.029	0.040	-		
NAR	0.113	0.169	0.146	0.120	0.132	0.134	0.159	0.155	0.155	0.135	0.166	0.123	0.148	0.171	0.152	-	
CRJ	0.162	0.225	0.183	0.226	0.203	0.190	0.186	0.228	0.192	0.168	0.194	0.193	0.190	0.196	0.216	0.208	-

RAPD markers를 최종분석에 이용하였고(Table 2), 비유사도 지수행렬을 도출(Table 3)하여 UPGMA phenogram을 작성하였다(Fig. 2). 비교군으로는 수선화과 내에서 속간 유사성이 크다고 판단되는 *Narcissus*속의 수선화(*Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* Roem. 와 *Crinum*속의 문주란(*Crinum asiaticum* L. var. *japonicum* Bak.)을 선택하여(Table 1) *Lycoris*속 분류군들과의 유연관계를 분석하였다.

분석결과 분류군들은 전체적으로 3개의 clades를 형성하였는데 첫 번째 유집군에는 *L. chinensis* var. *sinuolata* (LCS), *L. sanguinea* var. *koreana* (LSK), *L. uydoensis* (LUY), *L. flavescens* (LF), *L. radiata* var. *pumila* (LRP), *L. radiata* (LR), *L. squamigera* (LS), *L. chejuensis* (LJ), *L. aurea* (LAU)와 *L. guangxiensis* (LJU)의 10분류군이 포함되었으며, 한 국산 재료인 7분류군이 모두 포함되었다. 두 번째 유집군에는 *L. haywardii* (LHA), *L. sprengeri* (LSP), *L. rosea* (LRO), *L. straminea* (LST) 및 *L. houdyshii* (LHO)의 5분류군이, 세 번째 유집군에는 비교군인 수선화(NAR)와 문주란(CRJ)이 포함되었다(Fig. 2).

한편 phenogram상(Fig. 2)에서 보면 첫 번째 유집군은 2배수성 식물인 *L. chinensis* var. *sinuolata* (LCS)와 *L. sanguinea* var. *koreana* (LSK)가 그리고 *L. uydoensis* (LUY)와 *L. flavescens* (LF)가 먼저 유집되고 이들 유집군과 2배수성 식물인 *L. radiata* var. *pumila* (LRP)와 3배수성인 *L. radiata* (LR)가 유집된 후 3배수성 식물인 *L. squamigera* (LS), *L.*

chejuensis (LJ)와 순차적으로 유집된 후 *L. aurea* (LAU)와 *L. guangxiensis* (LGU)의 유집군과 함께 묶여 하나의 clade를 형성하고 있다. 한편 Kurita and Hsu(1998)는 한국특산식물인 *L. flavescens*의 핵형($2n=19=3M+4T+sm+11A$)을 분석한 결과 한국산 분류군인 *L. chinensis* var. *sinuolata*($2n=16=6M+8T+2sm$)와 *L. sanguinea* var. *koreana*($2n=22=22A$)의 잡종일 것으로 추측한 바 있으며, FISH를 이용하여 상기 3분류군에 대한 rDNA signals 수를 분석한 Lee and Kim(2000)의 경우도 이를 지지하고 있다. 본 연구결과(Fig. 2)에서 보면 *L. chinensis* var. *sinuolata*와 *L. sanguinea* var. *koreana*의 유집군이 *L. uydoensis*와 *L. flavescens*와 유집되는 것을 볼 수 있는데 이러한 결과는 기존의 연구결과들을 뒷받침해주는 것으로 볼 수 있다. 또한 *L. flavescens*와 함께 유집된 *L. uydoensis*는 Kim (1996)에 의해 *L. flavescens*의 변종으로 취급된 바 있고(*L. flavescens* var. *uydoensis* M. Kim), $2n=19$ 의 동일한 염색체수를 갖으며, 두 종 모두 한국특산임과 동시에 열매를 맺지 못하는 불임상태를 보이고, 서해안 지역에 한정적으로 분포하는 측면 등으로 볼 때 유연관계가 매우 가까운 식물이며, 이는 본 연구결과와 잘 일치하는 것이다. 두 번째 유집군의 경우 역시 2배수성 식물인 *L. haywardii* (LHA)와 *L. sprengeri* (LSP)가 먼저 유집되었고 이들 유집군은 다시 2배수성인 *L. rosea* (LRO), *L. straminea* (LST)와 순차적으로 유집된 후 최종적으로 3배수성 식물인 *L. houdyshii* (LHO)와 유집되었다. Shi *et al.*(2006)은 ISSR makers를 이용하여 상사화속 분류군들을 분석하였고 이를 핵형의 type (M+T, ST, M+T+ST, M+SM+T+ST)을 응용한 결과 각각 유집되는 분류군들이 핵형과 밀접한 관계를 갖고 있으며, 이런 근거를 통해 잡종의 기원을 추정하기도 하였다. 본 연구의 재료와 일치되는 분류군들의 유집형태를 보면 *L. haywardii*, *L. sprengeri*, *L. radiata*, *L. radiata* var. *pumila* 및 *L. rosea*가 하나의 clade를 형성하는데 이들은 모두 공통적으로 ST 핵형을 가지며, *L. straminea* 와 *L. houdyshii*는 M+T+ST핵형을 공통적으로 갖는다. *L. flavescens*, *L. sanguinea* var. *sanguinea*와 *L. sanguinea* var. *kiushiana*가 하나의 clade를 형성하는데 이들은 핵형상 ST와 M+SM+T+ST로 서로 다른 핵형을 갖고, 다른 clade들과 최종적으로 유집되는 점에서 약간의 차이점을 보이나 이는 취급된 분류군에 따른 유집형태의 변화로 판단된다. 그간 상사화속(*Lycoris*) 식물들을 분류하는데 있어 Koyama (1959)와 Caldwell (1962)은 전통적으로 화피형태, 수술의 돌출여부, 화기 및 잎의 생장시기 등을 중요한 분류형질로 취급하여 왔고, Traub (1957, 1958)는 화피의 배열상태가 방사대칭인지 좌우대칭인지 그리고 잎의 주맥을 따라 존재하는 흰색 띠의 존재유무에 따라 분류군들을 *Symmanthus*아속과 *Lycoris*아속으로 속을 분류한 바 있다. 본 연구에서 취급된 분류군을 중심으로 분류해 보면 *Symmanthus*아속에는 *L. squamigera*, *L. haywardii*, *L. sprengeri*, *L. sanguinea*의 4분류군이 포함되고, *Lycoris*아속에는 *L. radiata*, *L. rosea*, *L. straminea*, *L. houdyshii*, *L. chinensis*, *L. aurea*의 6분류군이 포함되나 본 연구결과와 비교해 보면 첫 번째 유집군에 *L. chinensis*, *L. sanguinea*, *L. radiata*, *L. squamigera* 및 *L. aurea*, 두 번째 유집군에 *L. haywardii*, *L. sprengeri*, *L. rosea*, *L. straminea* 및 *L. houdyshii*가 포함되어 있어 형태형질을 기준으로 한 Traub (1957, 1958)의 속내 아속 분류체계를 지지하지는 않았다. 한편 Tae and Ko (1997b)는 본 속에 해당하는 한국산 6분류군에

대하여 각 지역별 개체군을 대상으로 RAPD 분석을 수행한 바 있으나 본 연구와 비교해 볼 때 종수에 있어서 서로 차이가 나고 종내 개체군이 포함되어 있는 과거의 연구결과와 비교하는 것은 무리라 생각되어지며, 또한 Roh *et al.* (2002)은 미국, 중국, 일본 및 한국으로부터 수집된 상사화속 식물의 표본 80점을 이용하여 RAPD 분석을 수행하여 UPGMA 분석을 수행하였다. 그러나 부분적으로 *L. radiata* var. *radiata*와 *L. radiata* var. *pumila*가 유집되거나, *L. chejuensis*가 *L. chinensis*와 *L. flavescens*와 유집되는 등 본 연구결과와 첫 번째 유집군내에서 일치하는 점은 있으나 취급된 분류군의 수가 다르고, 3개의 그룹별로 나누어 분석함으로써 종수와 분석방법에 있어 본 연구결과와 차이를 보이기 때문에 비교분석하는 것은 무리라 판단된다. 상기한 결과와 같이 RAPD 분석은 *Lycoris*속내의 중간 유연관계를 파악하는데 있어서 배수성과 핵형 등의 세포분류학적 형질들과 관련하여 볼 때 매우 유용한 분석방법이었다. 그러나 형태학적 형질에 의한 분류체계 및 분류형질들과는 부분적으로는 일치하나 전반적으로 잘 일치하지 않는 결과를 보여 주어 향후 이에 대한 추가적인 조사가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2007년도 한남대학교 학술연구비조성비(연구번호: 2007A092) 및 환경부 차세대 핵심환경기술개발사업(과제번호 052-041-026; 052-072-041)의 지원에 의하여 연구되었음.

인 용 문 헌

- Bose, S. 1958. Cytological investigations in *Lycoris*. 2. Cytological similarities between *Lycoris aurea* and *L. traubii*. *Plant Life* 14: 33-37.
- . 1960. Cytological investigation in the genus *Lycoris*. 4. Chromosome number and karyotypes in *Lycoris aurea*, *L. sperryi*, *L. albiflora* and *L. elisiae*. *Plant Life* 16: 72-82.
- . 1963. Cytological studies in *Lycoris* VII. Chromosome number and arypotype from ovular tissues in *L. aurea* and *L. squamigera*. *Sci. Cult.* 29: 557-558.
- Caldwell, S. 1962. Lycorises—a progress report. *Amer. Hort. Mag.* 2: 61-93.
- Chung, M. G. 1999a. Allozyme diversity in the endangered herb *Lycoris sanguinea* var. *koreana* (Amaryllidaceae). *Ann. Bot. Fennici* 36: 1-7.
- . 1999b. Notes on allozyme variation in *Lycoris radiata* (Amaryllidaceae) from Korea. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40: 227-230.

- Creech, J. L. 1952. The genus *Lycoris* in the Mid-Atlantic States. Nat. Hort. Mag. 31: 67-173.
- Cui, Y., X. Zhang, Y. Zhou, H. Yu, L. Tao, L. Zhang, J. Zhou, Q. Zhuge, Y. Cai and M. Huang. 2004. Identification and expression analysis of EST-based genes in the bud of *Lycoris longituba*. Geno. Prot. Bioinfo. 1: 43-46.
- Deng, C. L., J. Zhou, W. J. Gao, F. C. Sun, R. Y. Qin and L. D. Lu. 2006. Assessment of genetic diversity of *Lycoris longituba* (Amaryllidaceae) detected by RAPDs. Genetics 3: 205-207.
- Hayward, W. 1957. *Lycoris traubii*. sp. nov. Pl. Life 13: 40.
- Hsu, P. S., S. Kurita, Z. Z. Yu and J. Z. Lin. 1994. Synopsis of the genus *Lycoris* (Amaryllidaceae). SIDA 2: 301-331.
- Inariyama, S. 1951. Cytological studies in the genus *Lycoris* (I). Sci. Rep. T.B.D. sect. B. 6: 74-100.
- . 1953. Cytological studies in the genus *Lycoris*. Rep. Kihara Inst. Biol. Res. 6: 5-10.
- Kim, M. Y. 1996. *Lycoris flavescens* var. *uydoensis* M. Kim: A new variety of *Lycoris* (Amaryllidaceae) from Korea. Korean J. Pl. Taxon. 4: 263-269.
- . 2004. A taxonomic review of Korean *Lycoris* (Amaryllidaceae). Korean J. Pl. Taxon. 1: 9-26 (in Korean).
- Khaleel, T. F. 1978. IOPB chromosome number reports LXI. Taxon 27: 375-392.
- Koyama, M. 1967. Chromosome pairing in genus *Lycoris*. Ann. Rep. Doshisa Women's Coll. 18: 411-418.
- Koyama, T. 1959. The Japanese species of *Lycoris*. Baileya. 7: 1-6.
- Kurita, S. 1978. Chromosome evolution in *Lycoris*. Proc. Jap. Soc. Pl. Tax. 4: 8-9.
- . 1987a. Variation and evolution on the karyotype of *Lycoris*, Amaryllidaceae II. Karyotype analysis of ten taxa among which seven are native in China. Cytologia 52: 19-40.
- . 1987b. Variation and evolution in the karyotype of *Lycoris*, Amaryllidaceae IV. Intraspecific variation in the karyotype of *Lycoris radiata* (L'Herit.) Herb. and the origin of this triploid species. Cytologia 52: 137-149.
- and P. S. Hsu. 1998. Cytological patterns in the Sino-Japanese flora hybrid complexes in *Lycoris*, Amaryllidaceae. Univ. Mus., Univ. Tokyo, Bull. 37: 171-180.
- Lee, B. S. and M. Y. Kim. 2000. Chromosomal localization of rDNA genes in the Korean endemic *Lycoris flavescens* M. Kim et S. Lee and its related species (Amaryllidaceae). Korean J. Genetics 1: 11-17.
- Lee, S. T. and M. Y. Kim. 1987. Palynological study of some *Lycoris* species (Amaryllidaceae).

- Korean J. Pl. Taxon. 17: 147-154 (in Korean).
- Lee, N. S., M. Kim, B. S. Lee and K. R. Park. 2001. Isozyme evidence for the allotriploid origin of *Lycoris flavescens* (Amaryllidaceae). *Plant Syst. Evol.* 227: 227-234.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- Nishikawa, K., Y. Fukuta and H. Endo. 1979. Consideration of the chromosome evolution on the basis of nuclear DNA content and total chromosome length in *Lycoris*. *Jap. J. Genet.* 54: 387-396.
- Qin, W. H., S. B. Zhou and H. Y. Wang. 2004. A new chromosome number and karyotype in *Lycoris radiata* in Anhui province. *Guihaia* 1: 29-32.
- Ren, X. F., S. B. Zhou, Y. Zheng and X. H. Guo. 1995. Studies on the pollen morphology of the genus *Lycoris* in China. *Acta Bot. Yunn.* 2: 182-186 (in Chinese).
- Roh, M. S., S. Kurita, X. Y. Zhao and J. K. Suh. 2002. Identification and classification of the genus *Lycoris* using molecular makers. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 2: 120-132.
- Shi, S., Y. X. Qiu, L. Wu, C. X. Fu. 2006. Interspecific relationships of *Lycoris* (Amaryllidaceae) inferred from inter-simple sequence repeat data. *Sci. Hort.* 3: 285-291.
- Sivarajan, V. V. 1991. Introduction to the principles of plant taxonomy. Oxford & IBH Publ. Co., Delhi.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP-Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Ver. 4.0b8. Academic Press, Sunderland, MA.
- Tae, K. H. and S. C. Ko, 1995. A taxonomic study of the genus *Lycoris* (Amaryllidaceae) based on morphological characters. *Korean J. Pl. Taxon.* 4: 237-254 (in Korean).
- _____ and _____. 1996a. A taxonomic study on the genus *Lycoris* (Amaryllidaceae). *Korean J. Pl. Taxon.* 1: 19-35.
- _____ and _____. 1996b. Cytological evolution in the genus *Lycoris* (Amaryllidaceae). *J. Pl. Biol.* 3: 209-214.
- _____ and _____. 1996c. A taxonomic study of the palynological characters in the genus *Lycoris*. *J. Sci. Res. Inst. Han Nam Univ.* 26: 203-212 (in Korean).
- _____ and _____. 1996d. A taxonomic study of anatomical characters on the genus *Lycoris* in Korea. *J. Sci. Res. Inst. Han Nam Univ.* 26: 203-212 (in Korean).
- _____ and _____. 1997a. Cluster and cladistic analyses on some selected taxa of *Lycoris*. *Korean J. Pl. Taxon.* 1: 1-10 (in Korean).
- _____ and _____. 1997b. Relationship of the Korean *Lycoris* (Amaryllidaceae) using the RAPDs analysis. *Korean J. Pl. Taxon.* 3: 349-358.
- Tae, K. H., S. C. Ko and Y. S. Kim. 1987. A cytotoxic study on the genus *Lycoris*

- in Korea. Korean. J. Pl. Taxon. 17: 135-145 (in Korean).
- Traub, H. P. 1957. *Lycoris haywardii*, *L. houdyshelii* and *L. caldwelii*. Pl. Life 13: 42-48.
- _____. 1958. Two new *Lycoris* species. Pl. Life 14: 42-44.
- Yoshida, M. 1972. Karyological studies on the genus *Lycoris* I. Sand. Dunc. Res. 18: 20-36.
- Zhang, D. C., Y. G. Sun and J. Z. Shao. 1999. The discovery of triploid *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker from Anhui, China. Acta Phyto. Sin. 1: 35-39.

Relationship of *Lycoris* (Amaryllidaceae) Based on RAPD Markers

Kyoung-Hwan Tae, Yong Hyun Kim, Young-Hwa Shin¹,
Shin-Ho Kang², Joo-Hwan Kim and Sung-Chul Ko^{1,*}

Department of Life Science, Daejeon University, Daejeon 300-716; ¹Department of Biological Sciences, Hannam University, Daejeon 306-791; ²Department of Natural Medicine Resources, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea

Phylogenetic relationships were examined for 17 taxa of *Lycoris* by RAPD analysis. The length of the amplified DNA fragments ranged from 300 bp to 1,700 bp. 57 scorable RAPD markers were observed from PCR reactions with five random oligoprimers. The analysis by UPGMA separated the examined taxa of *Lycoris* into three clusters. First group was comprised of ten taxa of *L. chinensis* var. *sinuolata*, *L. sanguinea* var. *koreana*, *L. uydoensis*, *L. flavescens*, *L. radiata* var. *pumila*, *L. radiata*, *L. squamigera*, *L. chejuensis*, *L. aurea* and *L. guangxiensis*, second group of *L. haywardii*, *L. sprengeri*, *L. rosea*, *L. straminea* and *L. houdyshii*, third group of outgroup of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* and *Crinum asiaticum* var. *japonicum*. From the viewpoint of cytological characters such as polyploidy and karyotype, the RAPD analysis was very useful to show the relationship among the intraspecific taxa of *Lycoris*.

Key words: karyotype, *Lycoris*, polyploidy, RAPD, relationship

*Corresponding author: Phone +82-42-629-8752, FAX +82-42-629-8751, kscaaa@hammam.ac.kr
Received: 4 September 2007/Accepted: 28 January 2008