

## AFLP와 RAPD 방법을 이용한 꼬리진달래 (*Rhododendron micranthum*) 수집종의 유전적 변이 분석

김진홍, 이주경, 김남희, 이명숙, 이재선<sup>1)</sup>, 박철호, 김남수\*

강원대학교 농업생명과학대학 생명공학부, <sup>1)</sup>강원대학교 산림과학대학 산림자원학부

### Genetic Variation of *Rhododendron micranthum* Based on AFLP and RAPD Analysis

Jin-Hong Kim, Ju-Kyong Lee, Nam-Hee Kim, Myung-Sook Lee,  
Jae-Seon Yi<sup>1)</sup>, Cheol-Ho Park and Nam-Soo Kim\*

Division of Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences,  
Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea

<sup>1)</sup>Division of Forest Resources, College of Forest Sciences, Kangwon National University,  
Chuncheon, 200-701, Korea

#### ABSTRACT

*Rhododendron micranthum* is an endangered species in Korea. In order to develop the strategy of gene diversity conservation, estimation of the amount of genetic diversity, the genetic variation and relationship in the native populations of *Rh. micranthum* was performed on the basis of AFLP and RAPD analysis. Analysis of 56 accessions derived from 6 populations of *Rh. micranthum* with four AFLP primer combinations and ten RAPD primers detected a total of 33 polymorphic AFLP fragments and 15 polymorphic RAPD fragments, respectively. By UPGMA cluster analysis with molecular markers, the 56 accessions were grouped into three major clusters at 73.3% genetic similarity; group I consists of most accessions of populations I, II, IV, V and VI, group II consists of 7 accessions of population III, and group III consists of only two accessions of population IV. The geographic locations of the most accessions derived from six populations were not related to their position in the UPGMA cluster analysis, except for several accessions of populations III and IV. The genetic similarity of among six populations measured by AFLP and RAPD markers ranged from 0.66 to 0.99. Among them, population VI showed the highest GS with means of 0.87, while population I showed the lowest GS with means of 0.78. This result will be useful for designing the strategy of conservation in the native populations of *Rh. micranthum*.

**Key words :** AFLP, genetic relationship, genetic variation, RAPD, *Rhododendron micranthum*.

---

\* 교신저자 : E-mail : kimnamsu@kangwon.ac.kr

## 서언

꼬리진달래(*Rhododendron micranthum*)는 진달래과(*Ericaceae*)의 진달래속(*Rhododendron*)에 속하는 상록관목으로 주로 한국, 중국, 만주 등에 분포하며 우리나라에서는 경상북도의 영주, 울진 및 충청북도 단양, 청풍 그리고 강원도의 일부 지역 등에 자생하고 있으나, 그 개체수가 점점 줄어들어 최근에 희귀·멸종위기 식물로 환경부에서 고시한 식물 중에 하나다. 꼬리진달래는 자생지의 생육 환경으로 보아서 내음성(耐陰性)이 강한 것으로 생각되는데, 우리나라의 조경식물들 중에서 상록성이고 내음성이 강한 수종이 그리 흔하지 않은 점을 고려할 때 꼬리진달래는 조경 수목으로 이용할 가치가 높다고 한다(이 등, 1990). 우리나라에 자생하고 있는 진달래과 식물의 연구는 러시아인 Maximawicz(1870)가 철쭉(*Rhododendron schlippenbachii*)을 신식물(新植物)로 발표한 것이 처음이었으며, 그 이후 中井(1917)에 의하여 7속 22종 9변종이 보고됨으로써 그 전모가 밝혀졌는데 지금까지 꼬리진달래의 유전변이에 관한 연구논문은 거의 없는 실정이다(이 등, 1990).

최근 분자생물학 및 분자유전학의 발전은 집단유전학 분야에 커다란 영향을 미치고 있는데, 분자생물학적 수준에서 DNA 분자마커를 이용한 식물유전학 연구는 식물의 유전적 특성을 본질적으로 반영할 뿐만 아니라, 생물체의 보편적 특성으로서 전 식물에 대하여 개발 및 적용이 가능하고, 이론적으로 거의 무한대의 마커를 확보하여 식물간의 유전적 다양성 및 유연관계를 분석할 수 있다는 장점을 가지고 있다(Wagner, 1992; 권 등, 2003). 최근에 많이 이용되고 있는 분자생물학적 분석법 중 AFLP(amplified fragment length polymorphism) 분석법은 PCR에 기초한 DNA 다형성 분석법으로 적용이 쉽고, 결과가 안정적이라는 장점 때문에(Vos *et al.*, 1995), 국내·외적으로 많은 작물 및 식물 종들에서 유전적 다양성 및 유연관계를 밝히는데 이용되고 있다(윤 등, 2002; Choi *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; 권 등, 2003). 또한 Williams 등(1990)에 의해서 개발된 RAPD(random amplified polymorphic DNA) 분석법도 PCR을 이용

한 분석 방법으로 실험 방법이 간편하고, 적은 양의 DNA가 필요하다는 장점 때문에 식물의 집단유전학 및 계통분류학적 연구에 많이 이용되고 있다(이 등, 1997; 김과 현, 2000; 최 등, 2000; 이 등, 2002; 김 등, 2002).

집단유전학의 주된 목표는 진화적 메커니즘을 이해하는데 있고(Hartl and Clark, 1989), 또한 유전자원 보존 전략 수립을 위한 기초 지식의 제공과 유전적 개량을 위한 주요 형질의 유전양식을 이해하는데 중요한 정보를 제공한다(Brown, 1978; Paterson *et al.*, 1991; Lynch and Milligan, 1994; 이 등, 1997). 최근 산업화 및 도시화 등으로 인한 자연환경의 파괴로 긴 세월동안 진화과정과 다양한 분화과정을 거치면서 형성된 생물자원의 다양성이 위기에 몰리고 있는 상황에서 전 세계적으로 생물자원의 다양성을 체계적으로 보존하기 위한 관심이 급증하고 있다. 일반적으로 유전자원의 보존 방법은 크게 현지내 보존(*in situ* conservation)과 현지의 보존(*ex situ* conservation)으로 나눌 수 있는데, 현지내 보존의 경우는 유전자 급원을 적절하게 보존하기 위한 넓은 면적의 유전자원 보존림이 필요하다. 반면에 현지의 보존의 경우는 종자나 화분을 보관하는 유전자 은행(Genebank), 모수의 clone을 보존하는 clone bank, 수목원 및 육종 집단의 조성과 같은 방법으로 광범위한 수집을 통하여 유전자원을 최대한 확보하는 과정이 필요한데, 특히 목본식물의 경우는 개체의 크기가 크고 세대기간이 길기 때문에 육종집단의 조성에는 상당한 시간을 요하므로, 효율적인 육종집단을 조성하기 위해서는 해당 수종에 대한 정확한 유전변이 및 집단의 유전적 구조에 대한 정확한 정보의 축적이 필요하다(Brown, 1978; Paterson *et al.*, 1991; 김과 현, 2000; 최 등, 2000).

따라서 본 연구는 생물자원의 유전적 다양성을 보존하기 위한 연구의 첫 단계로 분자생물학적 분석법인 AFLP 및 RAPD 분석법을 이용하여 강원지역에 자생하는 꼬리진달래의 수집 계통들에 대한 유전적 다양성 및 유전적 구조를 밝힘으로써, 생물자원의 현지의 보존을 통한 유전자원의 보존원 조성에 유용한 정보를 제공하고자 하였다.

Table 1. The list of *Rhododendron micranthum* accessions and their sampling sites in this study

Accession no.	Location	Population
1	Gangwon-do Samcheok-shi geundeok-myeon	I
2	"	"
3	"	"
4	Gangwon-do Yeongwol-gun yeongwol-eup	II
5	"	"
6	"	"
7	"	"
8	"	"
9	"	"
10	"	"
11	"	"
12	"	"
13	"	"
14	"	"
15	"	"
16	"	"
17	"	"
18	"	"
19	"	"
20	"	"
21	"	"
22	"	"
23	"	"
24	Gangwon-do Taebaek-shi gyeoisan-dong	III
25	"	"
26	"	"
27	"	"
28	"	"
29	"	"
30	"	"
31	Gyongsangbuk-do Bonghwa-gun	IV
32	"	"
33	"	"
34	"	"
35	"	"
36	"	"
37	"	"
38	"	"
39	Gangwon-do Taebaek-shi yeonhwa-dong	V
40	"	"
41	"	"
42	"	"
43	"	"
44	"	"
45	"	"
46	"	"
47	"	"
48	"	"
49	Gangwon-do Yeongwol-gun chungdong-myeon	VI
50	"	"
51	"	"
52	"	"
53	"	"
54	"	"
55	"	"
56	"	"

**재료 및 방법**

**공시재료 및 genomic DNA 추출**

강원도 및 경상북도의 일부 지역에 자생하고 있는 꼬리진달래의 유전적 다양성 분석을 위해서 2003년 3월부터 9월까지 모두 6지역을 방문하여 총 56계통에 대한 식물체의 잎을 채취하였다(Table 1). 그리고 채취한 꼬리진달래 잎에서의 genomic DNA 추출은 Plant DNAzol® Reagent(Invitrogen, Inc)를 사용하여 추출하였다.

**RAPD 분석**

Williams 등(1990)의 방법을 기본으로 하여 UBC(University of British Columbia, Canada) Random Primer 300-400번 대의 총 100개의 primer를 분석에 이용하였다. PCR 조건은 Biometra® UNO II thermal cycler를 이용하여 3분간 초기 변성 시킨 후 94℃에서 60초, 37℃에서 60초, 72℃에서 2분을 1회로 하여 최종 35회 반복시킨 후 반응을 종료하였다. 반응결과를 확인하기 위하여 1.5% agarose gel에서 전기영동 하였으며, 전기영동 후 UV box에서 증폭된 DNA 단편의 양상을 확인하였다.

**AFLP 분석**

꼬리진달래 genomic DNA 2 µg에 제한효소인

*EcoR* I(Promega)을 20 unit를 사용하여 37℃에서 12시간 처리를 통해 genomic DNA를 완전히 절단하였다. *Mse*I 처리는 *EcoR* I 처리와 동일하게 수행하였다. Adaptor ligation은 5 unit의 T4 DNA ligase (Promega)와 10 µM의 *EcoR* I / *Mse* I adaptor를 첨가한 후 22℃에서 12시간 동안 ligation 시켰다. Ligation된 DNA는 pre-amplification을 하기 위한 재료로 사용하였으며, Pre-amplification PCR 조건은 Biometra® UNO II thermal cycler를 이용하여 94℃/30초, 60℃/1분, 72℃/1분을 1 cycle로 최종 20회 반복하고 반응을 종료하였다. Pre-amplification PCR 산물을 1 : 50으로 희석하여 selective amplification을 수행하였는데, PCR 조건은 최초 94℃에서 30초, 65℃에서 30초, 72℃에서 1분을 첫 cycle로 시작하여 다음 cycle부터는 annealing 온도를 1℃씩 감소시키면서 11 cycle을 반복한 후 마지막으로 94℃에서 30초, 56℃에서 30초, 72℃에서 1분을 23회 반복하여 반응을 종료하였다. 증폭된 반응물은 6% denaturing polyacrylamide gel [acrylamide:bisacrylamide(19:1), 7.5 M Urea, 1 X TBE(0.89 M Tris-HCl pH 8.3, 0.89 M boric acid, 0.02 M EDTA pH8.0)]에서 전기영동한 후 silver staining으로 결과를 확인하였다.

**통계분석**

RAPD 및 AFLP 반응에서 증폭된 band의 유무에

Table 2. The oligonucleotide RAPD primers used for this study

Primer	Nucleotide sequence (5' to 3')	GC content (%)	No. of observed band (B)	No. of polymorphic band (A)	Polymorphism (A/B × 100) (%)
UBC 314	ACT TCC TCC A	50	6	1	16.7
UBC 320	CCG GCA TAG A	60	6	2	33.3
UBC 331	GCC TAG TCA C	60	3	1	33.3
UBC 333	GAA TGC GAC G	60	4	2	50.0
UBC 335	TGG ACC ACC C	70	6	3	50.0
UBC 337	TCC CGA ACC G	70	4	1	25.0
UBC 357	AGG CCA AAT G	50	5	1	20.0
UBC 360	CTC TCC AGG C	70	5	1	20.0
UBC 362	CCG CCT TAC A	60	5	1	20.0
UBC 363	ATG ACG TTG A	40	4	2	50.0
Total (average)			48 (4.8)	15 (1.5)	31.3

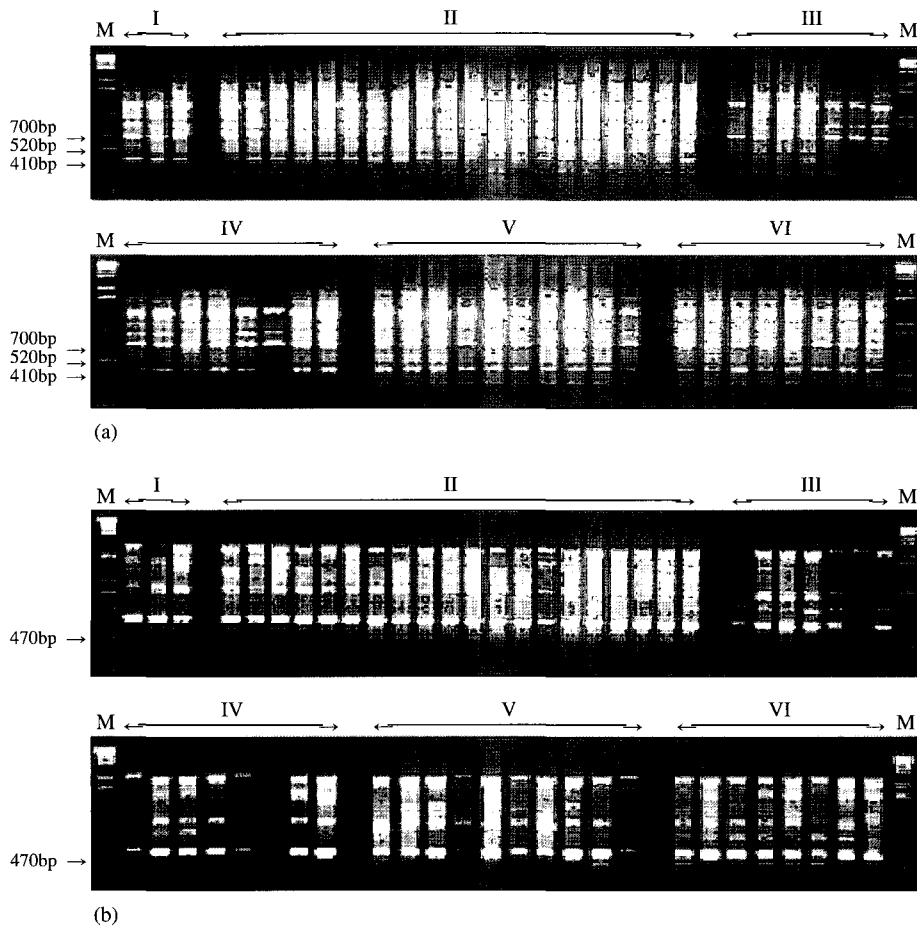


Fig. 1. RAPD profiles of 56 *Rh. micranthum* accessions generated by primer 335(a) and 333(b). The numbers are designating population number of six different collection sites shown in Table 1.

따라 증폭된 단편이 존재할 때 1로, 없을 때는 0으로 기록하였다. 계통들 간의 유전적 유연관계 및 유전적 다양성 분석은 Nei and Li(1979)의 계산방식에 의하여 분석하였는데, 계산법은 두개의 genotype X와 Y에 대하여 유전적 유사성(Genetic Similarity, GS):  $S_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ 로 계산하였으며, 그리고 dendrogram분석은 NTSYS-pc program(Rohlf, 1989)를 사용하여 UPGMA(Unweighted Pair Group Method using arithmetic averages)의 분석 방법으로 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### RAPD 다형성

꼬리진달래 56계통의 genomic DNA에 대하여 다형화 band를 나타내는 primer 10개를 선발하였다. 분석에 이용된 10개의 primer들에 대한 염기서열, GC 함량, 증폭된 band의 수, 다형화 band의 수 그리고 다형성 빈도는 Table 2에 나타내었다. 증폭된 DNA band의 크기는 사용된 primer에 따라 다소 차이는 있었지만 전체적으로 100에서 2,500 bp사이에 분포하였으며, 또한 이중에서 다형화를 나타내는 band들은 주로 200에서 1,000 bp사이에서 많이 관찰되었다

Table 3. Number of AFLP fragments generated with four primer pairs in *Rh. micranthum* accessions

Primer combinations	No. of fragments	No. of polymorphic bands	Polymorphism (%)
E-CG+M-CAA	21	14	66.7
E-CA+M-GGT	16	8	50.0
E-CA+M-CTG	13	5	38.5
E-AG+M-CAC	12	6	50.0
Total (average)	62 (15.5)	33 (8.3)	53.2

(Fig. 1). 그 결과 PCR반응에 사용된 10개의 primer에서 총 48개의 band가 관찰되었으며, 이 중에서 다형화를 나타내는 band의 수는 15개(31.3%)로, 1개의 primer당 평균 1.5개의 다형화 band가 관찰되었다. 이와 같이 본 연구에서는 평균 31.3%의 다형성을 보였는데, 국내에 자생하는 수목들에 대한 RAPD 분석 결과와 비교할 때 차나무에서 84.5%(오와 흥, 1995), 무궁화에서 86.8%(Lee *et al.*, 1996)의 다형성보다는 훨씬 낮았지만 구기자에서 29.1%(박 등, 2000)의 다형성과는 비슷한 결과를 얻었다. 따라서 본 연구에서 얻은 다형화 band들은 꼬리진달래의 유전적 변이 분석에 유효한 것으로 생각되었다. 그 예로 분석에 이용된 10개의 primer들 중에서 primer 335번의 경우 1.5% agarose gel상에서 410 bp, 520 bp 그리고 700 bp 크기에서 다형화 band가 3개(50.0%) 관찰되었는데, 이 중 410 bp에서 관찰된 다형화 band는 V번 지역 모든 계통과 III번 지역의 3계통에서는 관찰되지 않았지만 I번, II번 그리고 IV번 지역의 계통들에서 관찰됨으로써 V, III 지역과 I, II 그리고 IV번 지역의 계통들을 구분할 수 있는 특이적 band였고, 700 bp에서 관찰된 band의 경우는 III번과 IV번 지역의 계통들에서만 관찰되었으므로 이 지역의 계통들을 다른 지역의 계통들과 구분할 수 있는 특이적인 band였다 (Fig. 1a). 또한 UBC primer 333번의 경우 470 bp에서 관찰된 다형화 band는 III번과 IV번 지역의 계통들에서만 관찰됨으로써 이 지역의 계통들을 다른 지역의 계통들과 구분할 수 있는 특이적인 band였다(Fig. 1b).

한편 primer의 염기 구성은 DNA 증폭 길이에 많은 영향을 미친다고 하며, GC 함량이 높을수록 DNA

증폭에 유리하다고 하였다(Williams *et al.*, 1990). 본 연구에서도 56계통들에서 다형성을 나타낸 10개의 primer들 중에서 GC 함량은 primer 363번을 제외하고는 모두 50% 이상으로 분포하였다. 일반적으로 DNA의 다형화 현상은 식물에 따라 다르고(Welsh *et al.*, 1991), 또한 template DNA내의 염기구성(Innis *et al.*, 1990)과 PCR 조건에 따라 달라질 수 있다고는 하지만, 본 연구의 결과에서 보는바와 같이 아마도 primer의 염기구성이 DNA 증폭 및 다형성에 어느 정도는 영향을 주는 것으로 생각되었다. 따라서 RAPD 분석 실험에서 분석용 primer를 선택할 경우 GC 함량에 대한 염기구성도 고려하는 것이 어느 정도 필요할 것으로 생각되었다.

**AFLP 다형성**

본 연구에서 AFLP 분석에 이용된 primer 조합의 구성은 *EcoR* I 은 2염기, *Mse* I 은 3염기의 조합으로 총 4개의 primer조합을 분석에 사용하였다(Table 3). 그 결과 4개의 primer 조합들에서 발견된 DNA band 수는 모두 62개가 관찰되었으며, 그 중에서 33개(53.2%)가 다형화 band를 나타냈다. 그리고 각 primer 조합들에서 발견된 band들의 수는 12개(E-CG+M-CAC)에서 21개(E-CG+M-CAA)의 범위로 나타났고, 또한 각 primer 조합들에서 발견된 다형화 band들의 수는 E-CA+M-CTG 조합에서 5개(38.5%)로 가장 적게 나타났으며, 반면에 E-CG+M-CAA 조합에서 14개(66.7%)로 가장 많이 나타났다. 따라서 본 연구에서는 1개의 primer 조합당 평균 15.5개의 band가 관찰되었고, 그 중에서 8.3개의 다형화 band들이 관찰되었다(Table 3, Fig. 2).

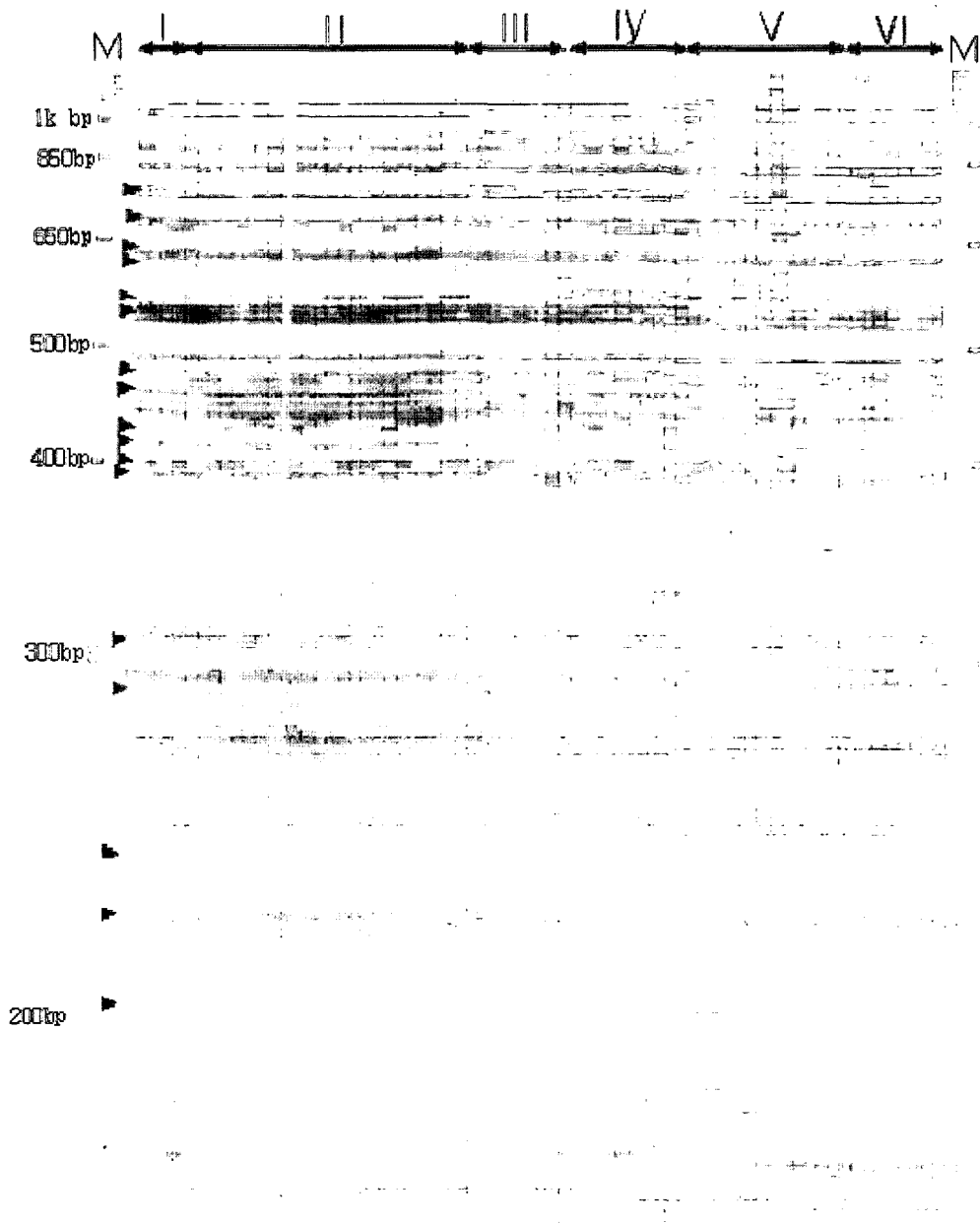


Fig. 2. An AFLP profile with a primer pair E-CG+M-CAA. The numbers are designating population number of six different collection sites shown in Table 1.

이와 같은 결과는 기존의 AFLP 분석에서 보고된 primer 조합 당 증폭된 band 수(약 50-100개)보다 비교적 적게 관찰되었는데, 그 이유는 본 연구에서의 경우 증폭된 band들에 대한 정확한 자료 분석을 위하여 비교적 선명하고 확실한 band들만을 사용하기

위해 주로 200에서 800 bp사이의 band들에 대해서만 분석에 이용하였고, 또한 희미하거나 명확하지 않은 band들은 자료 분석에서 제외시켰기 때문에 primer 조합 당 증폭된 band들의 수는 비교적 적게 관찰되었다.

Table 4. Genetic variation and polymorphisms produced from RAPD and AFLP markers in 6 populations of *Rhododendron micranthum*

Population	No. of accession analyzed	No. of polymorphic / total band	Percent of polymorphism (%)	GS AVG (min-max)
I	3	27/76	36	0.78 (0.78-0.79)
II	20	34/75	45	0.86 (0.77-0.99)
III	7	28/68	41	0.80 (0.69-0.99)
IV	8	33/73	45	0.79 (0.66-0.94)
V	10	31/74	42	0.86 (0.77-0.96)
VI	8	23/70	33	0.87 (0.78-0.99)
Total	56	176/436	40	0.85 (0.66-0.99)

**집단 및 계통내에서의 유전적 다양성 및 유연관계**

수집된 꼬리진달래 56계통에 대하여 증폭된 RAPD 및 AFLP의 다형화 band들을 이용하여 UPGMA 방법에 따라 dendrogram을 작성하였다(Fig. 3). 그 결과 유전적 유사성 73.3% 수준에서 크게 3개의 그룹으로 분리되었는데, 첫 번째 그룹에는 강원도 및 경북지역에서 수집된 대부분의 계통들이 포함되어 있었으며, 두 번째 그룹에는 III번 지역에서 수집된 7계통 모두가 포함되어 있었고, 그리고 세 번째 그룹에는 경북 봉화에서 수집된 IV지역의 계통들 중 2계통(35, 36)이 포함되어 있었다. 그리고 또한 강원도 및 경북 지역에서 수집된 대부분의 계통들, 즉 가장 많은 계통을 포함하고 있는 첫 번째 그룹의 경우는 유전적 유사성 76.1% 수준에서 다시 2개의 그룹으로 분리되어 졌는데, 첫 번째 sub-group에는 I번 지역의 2계통(1, 2), IV번 지역의 3계통(31, 32, 37), V번 지역의 46번과 48번 계통을 제외한 8계통들 그리고 VI번 지역의 모든 계통들을 포함하고 있었으며, 그리고 두 번째 sub-group에는 I번 지역의 1계통(3), II번 지역의 모든 계통, IV번 지역의 3계통(33, 38, 34) 그리고 V번 지역의 2계통(48, 46)을 포함하고 있었다. 이상과 같은 분석 결과에 의하면, 비록 꼬리진달래의 계통들이 강원 및 경북 지역에 비교적 넓게 분포하고 있음에도 불구하고, III번 지역에서 수집된 모든 계통들과 IV번 지역의 2계통(35, 36)을 제외하면 DNA 수준에서 대부분의 수집 계통들은 지리적 분포에 따른 집단간 또는 집단내에서의 명확한 유전

적 유연관계를 보이지 않았다.

한편 본 연구는 수집된 꼬리진달래의 계통들에 대한 수집 지역별 집단들 사이에서의 유전적 다양성을 이해하기 위하여, RAPD 및 AFLP 분석 결과를 기초로 하여 유전적 변이성(다형성 빈도와 GS값)을 비교 분석을 하였다(Table 4). 이 결과에 의하면, 비록 분석에 이용된 수집 지역의 집단들 사이의 계통수는 다르지만, 다형성 빈도는 II지역과 IV지역의 계통들에서 각각 45%로 가장 높게 관찰되었으며, 반면에 VI지역의 계통들에서 33%로 가장 낮게 관찰되었다. 56계통들 사이에서의 유전적 유사성은 0.66에서 0.99로 다양하게 관찰되었는데, 6개의 집단들 중에서의 유전적 유사성은 VI지역의 계통들이 평균 0.87로 가장 높게 나타났고, 반면에 I지역에서 수집된 계통들은 평균 0.78을 나타내어 가장 낮은 유전적 유사성을 나타내었다. 이상과 같은 결과에 의하면, 6개의 수집 지역별 다양성 분석에서는 VI지역에서 수집된 계통들이 가장 낮은 유전적 변이성을 지니고 있는 것으로 밝혀졌고, 반면에 I지역에서 수집된 계통들의 경우는 유전적 유사성이 평균 0.78을 나타내었으므로 다른 지역에서 수집된 계통들보다는 비교적 높은 유전적 변이성을 지니고 있는 것으로 밝혀졌다. 이와 같은 결과는 비록 꼬리진달래의 계통들이 강원 및 경북 지역에 비교적 넓게 분포하고 있음에도 불구하고, III번과 IV번 지역에서 수집된 일부 계통들을 제외하면 DNA 수준에서 대부분의 계통들은 수집지역에 따른 유전적 유연관계를 명확히 나타



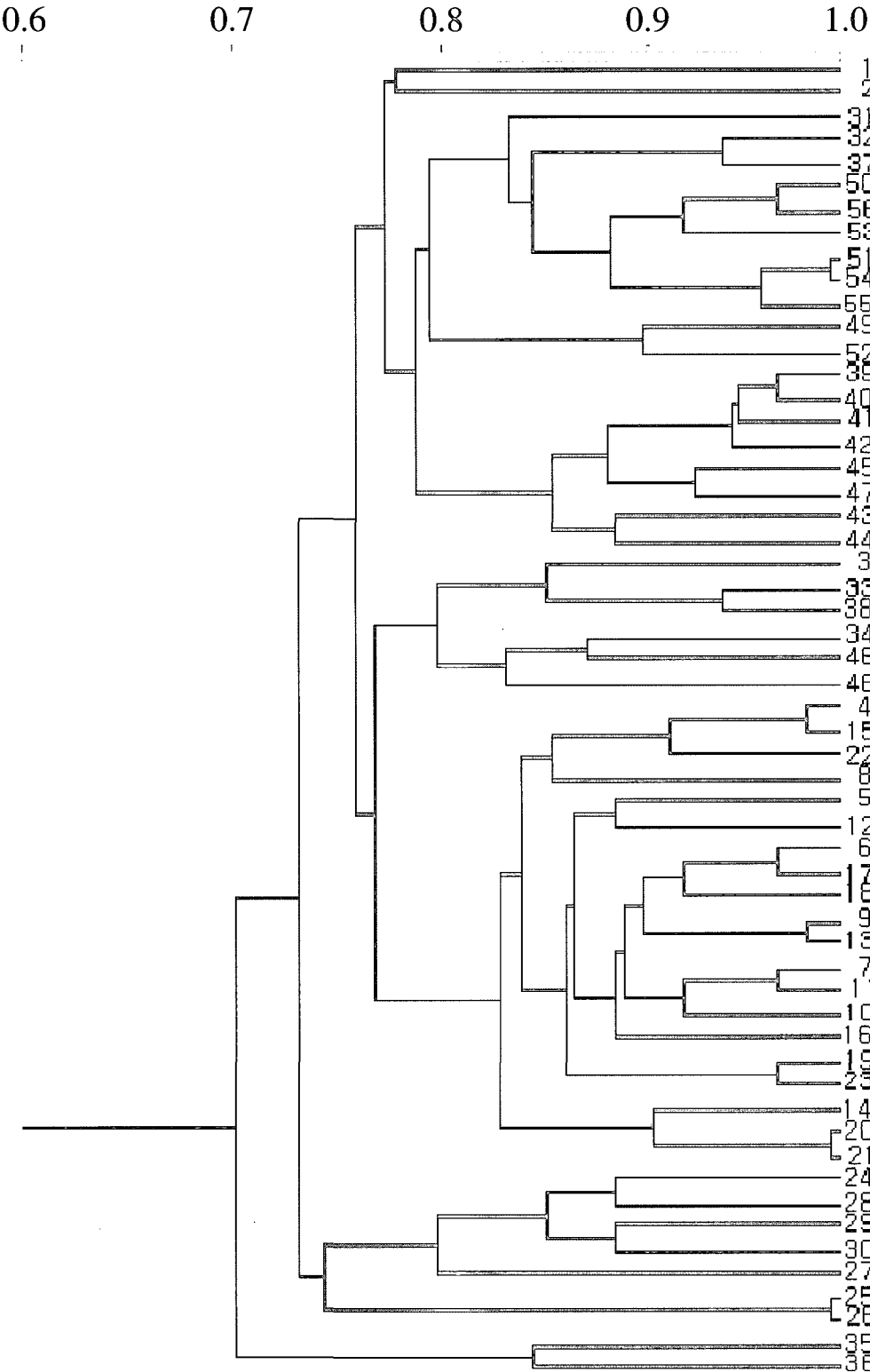


Fig. 3. UPGMA dendrogram based on the AFLP and RAPD markers. The accession number was showed in Table 1.

내지 못하였으며, 또한 수집 지역간의 유전적 다양성도 현저한 차이를 나타내지 못하였다.

일반적으로 목본식물은 다른 식물종에 비하여 다양한 유전적 변이를 보유하고 있는데, 이는 대면적의 연속적인 분포를 갖고 타가 수정에 의해 주로 번식이 이루어지며, 종자나 화분의 이동이 장거리에 걸쳐서 이루어지고 장수하는 목본식물의 생태적 특성 때문인 것으로 알려져 있고(Hamrick and Godt, 1989), 또한 유전적 다양성은 지리적 분포범위와 교배양식, 번식체계, 종자 비산 양상, 생활사, 그리고 천이 계열 상의 위치 등에 따라 각기 다르게 나타난다고 보고 되고 있다(Conkle, 1992). 이와 같이 목본식물의 생태적 특성과 교배양식을 고려할 때, 목본식물에서의 유전적 다양성은 집단간 차이에 의하기 보다는 대부분이 집단내의 개체간 차이에 의하여 생긴다고 하였는데(Hamrick and Godt, 1989; 이 등, 1997), 본 연구의 결과에서도 꼬리진달래 수집 계통들에서의 유전적 유연관계는 대부분의 계통들이 수집지역에 따른 지리적 경향을 명확히 나타내지 못하였으며, 또한 수집 지역간의 유전적 다양성도 현저한 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 종합하면, 강원 및 경북의 6지역에서 수집된 꼬리진달래의 56계통들에 대한 유전적 다양성 및 유연관계 분석에서는 Ⅲ번 지역의 모든 계통들과 Ⅳ번 지역의 일부 계통들이 다른 지역에서 수집된 대부분의 계통들과 유전적으로 명확하게 식별되었으며, 또한 수집 집단들 사이에서의 유전적 다양성은 Ⅰ번 지역의 계통들에서 비교적 가장 높게 관찰되었지만, 수집 지역간에는 현저한 차이를 나타내지 못하였다. 따라서 본 연구에서 최종 목표로 하고 있는 꼬리진달래의 현지외 보존을 통한 유전자원의 보존원 조성을 효율적으로 수행하기 위해서는 본 연구에서 밝혀진 결과에 기초하여 꼬리진달래의 유전자원 수집은 Ⅲ번 지역과 Ⅳ번 지역을 중심으로 각 지역별로 균등하고 가급적 광범위하게 수집하는 것이 가장 효과적일 것으로 생각되었다. 앞으로 보다 정확한 결론을 얻기 위해서는 현재 분석에 이용된 개체수보다 훨씬 많은 개체를 다양한 지역으로부터 수집할 필요성이 있으며, 또한 보다 다양한 분자

마커를 선택하여 분석에 이용한다면, 꼬리진달래의 현지의 보존을 통한 유전자원의 수집 및 보존 전략에 보다 정확한 정보를 제공할 것으로 기대한다.

## 적 요

본 연구는 자생식물 유전자원의 체계적 보존 및 관리를 위한 유전자원 수집과 보존 전략에 유용한 정보를 제공할 목적으로 강원 및 경북 지역에 자생하고 있는 꼬리진달래의 수집 계통들에 대하여 분자마커를 이용한 유전적 다형성 및 유연관계 분석을 수행하였다. RAPD 분석에 이용된 10개의 primer에서 총 48개의 band가 관찰되었으며 이 중에서 15개(31.3%)가 다형화 band였고, 1개의 primer당 평균 1.5개의 다형화 band가 관찰되었다. 반면에 AFLP 분석에서는 4개의 primer 조합으로부터 총 62개의 band가 관찰되었으며 이 중에서 33개(53.2%)가 다형화 band였고, 1개의 primer조합당 평균 8.3개의 다형화 band가 관찰되었다. RAPD 및 AFLP band들을 이용한 UPGMA방법에 따라 작성된 dendrogram작성에서는 유전적 유사성 73.3% 수준에서 크게 3개의 그룹으로 분리되었는데, 첫 번째 그룹에는 강원도 및 경북지역에서 수집된 대부분의 계통들이, 두 번째 그룹에는 Ⅲ번 지역에서 수집된 7계통 모두가 포함되어 있었고 그리고 세 번째 그룹에는 경북 봉화에서 수집된 Ⅳ지역의 계통들 중 2계통(35, 36)이 각각 포함되었다. 따라서 Ⅲ번 지역과 Ⅳ번 지역의 일부 계통들을 제외하면 DNA 수준에서 꼬리진달래 대부분의 계통들은 수집 지역에 따른 유전적 유연관계를 명확히 나타내지 못하였다. RAPD 및 AFLP 분석 결과를 기초로 한 수집된 집단들 사이에서의 다형성 빈도는 Ⅱ지역과 Ⅳ지역의 계통들에서 각각 45%로 가장 높게 관찰되었고, 반면에 Ⅶ지역의 계통들이 33%로 가장 낮게 관찰되었다. 그리고 집단들 사이의 유전적 유사성은 Ⅶ지역의 계통들이 평균 0.87로 가장 높게 나타났고, 반면에 Ⅰ지역의 계통들은 평균 0.78을 나타내어 가장 낮게 나타났다. 본 연구의 결과에 의하면, 비록 Ⅲ번 지역과 Ⅳ번 지역

에서 수집된 일부 계통들은 다른 지역에서 수집된 대부분의 계통들과는 유전적으로 명확하게 구별되었지만, 수집 지역의 집단들 사이에서의 유전적 다양성은 현저한 차이를 나타내지 못하였으므로, 꼬리진달래의 현지외 보존을 통한 유전자원 보존원 조성을 효율적으로 수행하기 위해서는 유전자원 수집은 III번 지역과 IV번 지역을 중심으로 각 지역별로 균등하고 가급적 광범위하게 수집하는 것이 가장 효과적일 것으로 판단되었다.

## 사사

본 연구는 환경부 지원 2002년도 차세대 핵심환경기술개발사업에 의하여 수행된 연구결과의 일부임.

## 인용문헌

- Brown A.H.D. 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. Appl. Genet.* 52:145-157.
- Choi I.Y, J.K. Lee, H.J. Goo, J.H. Park, N-S Kim, C-H Park and K.J. Chang. 2002. Genetic diversity and relationships among *Dioscorea alata* L., and Related *Dioscorea* species revealed by AFLP analysis. *Korean J. Genetics* 24(3):305-312.
- Conkle M.T. 1992. Genetic diversity -seeing the forest through the trees. *New Forests.* 6: 5-22.
- Hamrick J.L. and M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources* (Brown AHD, Clegg MI, Kahler AL, Weir BS eds). Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, MA. pp. 43-63.
- Hartl D.L. and A.G. Clark. 1989. *Principles of population genetics.* 2nd edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 682.
- Innis M.A. and D.H. Gelfand. 1990. Optimization of PCR protocols, a guide to methods and applications (Innis, M.A et al., eds). Academic Press, Inc San Diego. pp. 3-12.
- Lee J.K., M. Nitta, N-S Kim, C.H. Park, K.M. Yoon, Y-B Shin and O. Ohnishi. 2002. Genetic diversity of *Perilla* and related weedy types in Korea determined by AFLP analyses. *Crop Science* 42:2161-2166.
- Lee S.H., C.H. Kim, W.S. Song and I.S. Nou. 1996. Phylogenetic relationship and genetic variation among varieties of *Hibiscus syriacus* based on RAPD analysis. *Korean J. Breed.* 28:445-456.
- Lynch M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3:91-99.
- Maximawicz C.J. 1870. *Bulletin de l' academie imperiale des Sciences de St. Petersburg Tome XV.*
- Nei M. and W.H. Li 1979. Mathematical model for studying genetic variation interms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Sci. USA.* 76:5269-5273.
- Paterson A.H., S. Damon, J.D. Hewitt, D. Zamir, H.D. Rabinowith, S.E. Lincoln, E.S. Lander and S.D. Tanksley. 1991. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato : comparison across species, germerations and environments. *Genetics* 127:181-197.
- Rohlf F.J. 1989. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.50. Exeter Publications, New York.
- Vos P., R. Hogers, M. Bleaker, M. Reijanes , T. Van der Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kupier and M Zabeau. 1995. AFLP: A new technicque for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Wagner D.B. 1992. Nuclear, chloroplast and mitochondrial DNA polymorphism as biochemical markers in population genetic analyses of forest trees *New Forests.* 6: 373-390.
- Welsh J., Honeycutt R.J., McClelland M. and Sobal

- B.W.S. 1991. Parentage determination in maize hybrids using the arbitrariness primed polymerase chain reaction (AP-PCR). *Theor. Appl. Genet.* 82: 473-476.
- Williams J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- 中井猛之進. 1917. 朝鮮森林. 植物編, 第三卷, pp.7-33.
- 권영선, 문지영, 권용삼, 박대영, 윤화모, 송인호, 이승인. 2003. AFLP 분석을 이용한 무와 배추의 품종식별. *한국육종학회지.* 35:319-328.
- 김동갑, 박경량, 김주환. 2002. RAPD분석에 의한 미선나무속의 분류학적 연구. *한국 자원식물학회지.* 15:26-35.
- 김인식, 현정오. 2000. RAPD 분석에 의한 구상나무 천연집단의 유전적 다양성. *한국육종학회지.* 32:12-18.
- 박종상, 이봉춘, 성창근, 이기원, 라상욱, 최강주. 2000. RAPD방법을 이용한 구기자 품종의 유전적 유사도 분석. *한국육종학회지.* 32:117-121.
- 윤문섭, 백형진, 정종욱, 마경호, 이정란, 김행훈, 김창영. 2002. 한국의 남한강 및 북한강유역의 야생 *Vigna*속 유전자원의 유연관계. *한국육종학회지* 34:195-200.
- 이병룡, 이기의, 유근창. 1990. 꼬리진달래의 조경수 목화를 위한 기초연구 (Ⅱ)-광합성을 중심으로. *한국원예학회지.* 31:400-404.
- 이석우, 김용율, 현정오, 김진수. 1997. 동위효소 및 RAPD 분석에 의한 소나무 천연집단의 유전변이 비교. *한국육종학회지.* 29:72-83.
- 이용호, 최주호, 정대수. 2002. RAPD를 이용한 짚신나물(*Agrimonia pilosa* L.) 수집종 유연관계 분석. *한국자원식물학회지.* 15:250-259.
- 오미정, 홍병희. 1995. 한국 자생 차나무의 RAPD-Marker에 의한 유연관계. *한국육종학회지.* 27:140-147.
- 최태봉, 현정오, 이재호, 최형순, 어수형, 이돈구. 2000. RAPD 표지자를 이용한 국내 자생 황칠나무 천연집단의 유전변이 및 보전전략. *한국육종학회지.* 32:344-355.
- (접수일 2004. 4. 23)  
(수락일 2004. 5. 15)