

Lycoris 속의 RAPD 분석과 자생지 분포 및 개화특성에 따른 유연관계

차재영² · 정연옥² · 신상민¹ · 강윤경² · 박종근¹ · 박노복*

원광대학교 생명과학부¹, 주시회사 편², 한국농업전문학교 화훼학과

Received August 17, 2006 / Accepted October 30, 2006

Genetic Relationship Among Lycoris Species Using RAPD Analysis, the Native Distribution and Flowering Characteristics. Jae Young Cha², Yen Ok Jung², Sang Min Shin¹, Yun Kyung Kang², Jong Kun Park¹ and Nou Bog Park*. ¹Division of Life Science, Wonkwang University. ²FIIN Co., Ltd., Dept. of Floriculture, Korea National Agricultural College – Ten species of Lycoris was selected for establishment of phylogenetic relationships using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, the native distribution and flowering characteristics. On the basis of the dendrogram constructed with the similarity coefficients, 10 Lycoris species were divided into two clusters. *L. sprengeri* and *L. incanata* were showed very high similarity in the RAPD analysis, same flowering time and flower color as pink. The leaf of *L. squamigera*, *L. sanguinea*, *L. koreana*, *L. sprengeri* and *L. incanata* emerged in spring. The *L. squamigera* and *L. sanguinea* were showed high similarity in same cluster. Also *L. koreana*, *L. sprengeri* and *L. incanata* were showed high similarity in same cluster. The flower of *L. radiata*, *L. radiata var pumila*, *L. albiflora* and *L. traubii* was spider. These species was showed very low similarity in another Lycoris species.

Key words – Lycoris, native distribution, flowering characteristics, RAPD, relationship

서론

Lycoris 속은 동아시아 특산식물로 한국, 일본, 중국에 10여종이 분포한다고 보고되고 있다[2,17]. 화색이 다양하고 꽃과 잎이 각각 다른 시기에 나오는 독특한 생육 특성으로 구미에서는 "Magic lily"라 하며 일찍이 중국과 일본으로부터 도입되어 관상용 화훼식물로 발전되어 새로운 작물로 재배되고 있다[3,14-16]. 상사화는 아시아 지역에 분포하고 있으나, 18세기에 미국에 소개된 이후 많은 경작이 시작되어 구근 꽃으로 이미 잘 알려진 수선화나 백합과 함께 중국, 일본, 미국 등지의 정원에서 많이 키우는 식물이다. 또한 상사화는 여름에 꽃을 피우는 종과 가을에 꽃을 피우는 종이 있으며, 다른 구근 식물이 꽃을 피우지 않을 때 꽃을 피우는 장점이 있다.

상사화는 1821년 인류에 보고된 이후 자연교배가 쉽게 이루어지며, 최근 경작에 의한 교배종 개발이 이루어지고 있다. 세포학적 연구를 통해 상사화의 *L. albiflora*는 *L. traubii*와 *L. radiata var. pumila*의 교배종으로 알려져 있다[4,5]. *L. rose*와 *L. baywardii*는 *L. radiata var. pumila*와 *L. sprengeri* 사이의 교배종이며 *L. squamigera*는 *L. chinesis*와 *L. sprengeri*의 교배종으로 보고되었다[11].

국내에서는 최근 들어 구근류에 대한 선호성이 다양화 되어가는 추세에 따라 재배화를 위한 생육 특성 및 번식법 등

이 부분적으로 연구되었으나 분포 및 형태적 특성에 관한 종합적인 연구는 미흡한 실정이다[6,7,8,9,10,13]. 따라서 본 연구는 *Lycoris* 속의 RAPD 분석법을 이용한 유전자의 유연관계를 분석과 형태적 유연관계를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

식물 재료

국내종인 석산, 개상사화, 백양꽃, 상사화 등은 국내 자생지로부터 연구가 이루어졌고, 기타 종은 네덜란드 국립 구근 연구소와 육종 연구소에서 수집 보관중인 종과 종묘 회사로부터 구입하여 실험 포장에서 재배하였다. 이 개체로부터 얻어진 어린잎과 뿌리를 채취하여 실험 재료로 활용하였다.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 분석

RAPD 분석을 위한 primer는 NCBI의 유전자은행에 등록되어 있는 유전자의 상동성 및 염기 배열을 고려하여 10 mer 정도를 기준으로 100개의 primer를 제작하였다. 또한 이 primer의 제작은 전문 회사인 UBC에 의뢰하여 합성하였다. 식물의 성장이 가장 활발한 시기에 그 식물의 어린잎 0.5 g으로부터 DNA 분리과정에서의 오차를 줄이기 위하여 MRC (Molecular Research Center)사의 DNAzol TMES (plant genomic DNA isolation reagent)를 사용하여 DNA를 분리하였다. 각각의 품종으로부터 얻은 각각 DNA를 정량한 후 50 ng/μl이 되도록 희석하였다. 선별된 primer를 이용하여 각각의 주형을 대상으로 primer (UBS) 200 μM (1 μl), Template 6 ng/μl, Taq pol TaKaRa rTaq 1 U, 2.5 mM dNTP 2 μl를

*Corresponding author

Tel : +82-31-229-5026, Fax : +82-31-229-5230

E-mail : nbpark@kn.ac.kr

첨가하여 Stratagene사의 gradient PCR기를 이용하여 처음 2 cycle은 predenaturation 단계는 93℃에서 4분, denaturation 단계는 93℃에서 30초, annealing 단계는 36℃에서 45초, elongation 단계는 72℃에서 30초 동안 수행한 후, 나머지 43 cycle은 denaturation 단계는 93℃에서 30초, annealing 단계는 36℃에서 45초, elongation 단계는 72℃에서 45초 동안 수행하고 post-elongation 단계를 72℃에서 5분 동안 수행한 후 반응을 멈춘다. 이러한 반응으로 얻어진 증폭된 DNA를 2% TBE gel에서 100 V로 전기 영동한 후 EtBr로 염색한 후 UV에서 관찰한 후 디지털 사진기로 사진을 찍어 분석한다. 분석은 Hewlett packard사의 ScanJet 6100C scanner를 이용하여 확대한 후 명암을 반전시킨 후 기초가 되는 band를 선택하여 그 band의 존재 여부를 표로 만들었다.

RAPD 자료 분석

A는 a라는 종의 band 수, B는 b라는 종의 band 수, AB는 a와 b종의 공통 band 수로 놓아 이들의 상관관계를 $2 \times AB / (A+B)$ 의 공식으로 계산하여 band의 상관관계를 행렬표로 각각의 primer에 대하여 제작하였다. 각각의 행렬표에서 같은 위치에 있는 결과를 합산한 후 primer의 수로 나누어 평균을 값을 얻어 평균 행렬표를 작성하였다. 이를 이용하여 MiniTab 프로그램으로 집단 유연관계에 대한 dendrogram을 그려 분석하였다.

결 과

RAPD 분석에 따른 결과

본 연구에서는 국제적으로 선호도가 높은 *Lycoris* 속을 선별하여 연구에 적용하였으며, 어린잎을 채취하여 Genomic DNA를 분리하고 이를 선별된 primer를 이용한 RAPD 분석을 실시하였다. 각각의 primer를 이용하여 합성된 DNA 조각을 Agarose gel 전기영동을 이용하여 분리하고 같은 위치에

있는 band를 코드화하여 각 *Lycoris*속간의 상관관계를 행렬표로 작성하였다(Table 1). 이 행렬표를 이용하여 MiniTab으로 각 *Lycoris* 속간의 dendrogram을 그려 유연관계를 분석하였다(Fig. 1).

이 분석에 따르면 *L. squamigera*, *L. sanguinea*, *L. aurea*, *L. traubii* 그리고 *L. albiflora*가 큰 군집을 형성하였으며, 이 중 *L. squamigera*와 *L. sanguinea*, *L. aurea*와 *L. traubii*사이에서 각각 71.55 근처에서 상동성을 보였다. 또한 *L. koreana*, *L. sprengeri*, *L. incanata*, *L. radiata*, *L. radiata* 그리고 *L. radiata var. pumila*가 큰 군집을 보였다. 이 중 *L. sprengeri*와 *L. incanata*의 경우는 89 정도의 가장 높은 상동성을 보였으며 *L. koreana*와도 71 정도에서 매우 높은 상동성을 나타냈다. *L. radiata*와 *L. radiata var. pumila*의 경우는 60 정도의 상동성을 나타냈으며 이는 *L. radiata*와의 교잡에서 다른 유전 형질이 도입되면서 거리가 나타나는 것으로 보여진다.

***Lycoris* 속 간의 개화 시기와 유전 형질의 유연관계**

우리나라의 상사화는 북위 37도 이남의 경기도 강화, 강원도 설악산에 분포한다. 석산, 백양꽃, 개상사화, 흰상사화는 제주도 및 남부 해안 지역과 전북 변산 반도 지역까지 분포하고 있다. 상사화는 춘기출엽형으로 잎이 없는 상태에서 7월에 개화되고 화색은 분홍색이었다. 석산은 추기출엽형으로 9월에 개화하고 화색은 적색이었다. 백양꽃은 전남 장성 백양사 주변에 많이 분포하고 춘기출엽형으로 연적색이다. 한국 특산인 개상사화는 춘기출엽형으로 7-8월에 개화하며 화색은 노랑색이다(Table 2). Fig. 1와 Table 2에서 분석된 바에 따르면 *L. squamigera*와 *L. sanguinea*, *L. aurea*는 춘기출엽형이며 같은 군집 안에서 높은 상동성을 보이는 것을 확인하였다. 이 중 *L. aurea*는 화색이 이 군집에서 다르게 보이는 특징을 가지고 있으며, 상동성에서 거리를 보이는 것이 그 특징이다. 또한 *L. sprengeri*와 *L. radiata*는 가장 높은 상동성을 보이면서 춘기출엽형이다. 게다가 같은 중국이 자생지이

Table 1. Similarity matrix of 10 *Lycoris* species using Nei and Li's coefficients: range of value from 0 to 1, with value closer to 1 indicating increasing similarity

Species number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1									
2	0.43	1								
3	0.63	0.33	1							
4	0.57	0.64	0.45	1						
5	0.54	0.51	0.54	0.81	1					
6	0.50	0.65	0.57	0.53	0.53	1				
7	0.49	0.51	0.47	0.48	0.54	0.16	1			
8	0.51	0.43	0.57	0.50	0.62	0.56	0.56	1		
9	0.49	0.39	0.41	0.50	0.42	0.40	0.14	0.64	1	
10	0.54	0.32	0.51	0.47	0.49	0.46	0.37	0.56	0.48	1

1, *L. squamigera*; 2, *L. koreana*; 3, *L. sanguinea*; 4, *L. sprengeri*; 5, *L. incanata*; 6, *L. radiata*; 7, *L. radiata var. pumila*; 8, *L. aurea*; 9, *L. traubii*; 10, *L. albiflora*

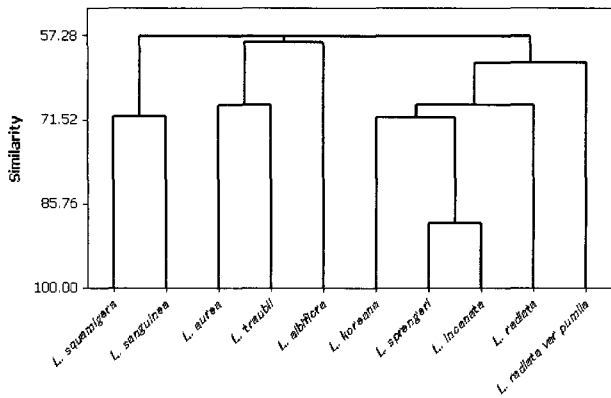


Fig 1. Dendrogram constructed using the UPGMA based on Nei and Li's similarity coefficients illustrating the genetic relationships among *Lycoris* species.

며, 화색 또한 같은 분홍을 가진 것이 외형과 유전형의 유사성을 보여주고 있다.

*L. radiata*와 *L. radiata var pumila*는 화색이 적색으로 같은 화색을 가지고 있으며, 같은 추기출엽형이고 같은 군집에서 가까운 유연관계를 가지고 있음을 Fig. 1에서 확인 할 수 있다.

*L. traubii*와 *L. albiflora*의 경우를 같은 추기출엽형 이기는 하나 화색이 전혀 다름에 따라 유전 유연관계에서 또한 타종에 비해 독립적인 유연관계를 나타내고 있음을 확인하였다.

내한성과 화형에 따른 유연관계

화형이 spider type으로는 석산, *L. radiata var pumila*, *L. albiflora*, *L. traubii*이었다. 화편장은 상사화가 7.0 cm로 가장 크고, *L. aurea* 6.8 cm, *L. sanguinea* 6.5 cm 순이었고 화편폭은 *L. sprengeri*가 2.4 cm 로 가장 길었다(Table 3). 꽃잎이 파상을 형성하는 종으로는 석산, *L. aurea*, *L. traubii*, *L. albiflora*, *L. radiata var pumila* 등 이었다. 파상을 형성하지 않는 종으로는 상사화, 백양꽃, *L. sanguinea*, *L. incanata*, *L. sprengeri* 등 이었다. 화편의 파상 시기는 개화가 이루어지면서 1-2일 사이에 이루어짐을 관찰 할 수 있었다. 전체적으로 꽃의 특성은 trumpet type이 spider type보다 꽃잎의 폭이 넓고 긴 경향이었으며 약간의 향기가 있었다(Table 3). 화형이 spider type의 형태를 가지는 종은 군집 안에서 각 종간의 유연관계에서 떨어진 종으로 유전 형질의 변화에 따른 표현형으로 유추된다.

Table 2. Leaf emergence time, chromosome number and flower color of type of *Lycoris* Species in Asia

Species	Type of leaf emergence time	Chromosome number	Flower color	Native
<i>L. squamigera</i>	Spring type	27	pink	K,J,C
<i>L. koreana</i>	Spring type	22	light red	K.
<i>L. sanguinea</i>	Spring type	22	light red	J.
<i>L. sprengeri</i>	Spring type	22	pink	C.
<i>L. incanata</i>	Spring type	29+1B	pink	C.
<i>L. radiata</i>	Autum type	33(3X)	red	C,J,K
<i>L. radiata</i>	Autum type	22(X)	red	C.
<i>L. aurea</i>	Autum type	12,13,14,16	yellow	C,J,K
<i>L. traubii</i>	Autum type	12,13	golden yellow	C.
<i>L. albiflora</i>	Autum type	17	white	J,C.

* K: Korea, J: Japan, C: China.

Table 3. Flower characteristics of *Lycoris* genus

Species	Flower per stem (ea.)	Mo. of petal	Diameter of flower	petal		Petal type (cm)
				length (cm)	width (cm)	
<i>L. squamigera</i>	6.5	6.0	10.2	7.0	1.7	X
<i>L. koreana</i>	4.1	6.0	6.0	5.2	1.7	X
<i>L. sanguinea</i>	4.6	6.0	6.2	6.5	1.8	X
<i>L. sprengeri</i>	5.3	6.0	7.6	4.8	2.4	X
<i>L. incanata</i>	5.0	6.0	7.0	5.3	1.6	X
<i>L. radiata</i>	6.3	6.0	6.7	4.0	1.0	O
<i>L. radiata</i>	6.0	6.0	6.0	4.2	1.2	O
<i>L. aurea</i>	5.6	6.0	7.8	6.8	1.6	O
<i>L. traubii</i>	6.2	6.0	7.9	6.2	1.6	O
<i>L. albiflora</i>	5.2	6.0	6.3	4.3	1.1	O

X: petal is mo undulate O: petal is undulate

고찰

Rees[12]는 *Lycoris* 속 구근류는 생육 특성이 아프리카 원산의 *Nerine* 속 식물과 유사하다고 하였다. 또한 Bryan[1]은 상사화류와 유사한 *Nerine* 속은 절화류 중에서는 절화수명이 오래가는 특성 때문에 매력있는 화종으로 세계적으로 재배면적이 급증하고 있으나 화종이 단조로운 것을 결점으로 보고하고 있다. 상사화는 꽃을 피우는 시기와 생육 시기가 종에 따라 다양한 특성을 보이고 있으며, 본 연구에서 이러한 생육 과정과 유전적 유연관계를 구체적으로 분석하였다. 예를 들면 Fig. 1와 Table 2에서 분석된 바에 따르면 *L. squamigera*와 *L. sanguinea*, *L. aurea*는 춘기출엽형이며 같은 군집 안에서 높은 상동성을 보이는 것을 확인하였다. 이는 특성과 유전적 유연관계가 매우 밀접하는 것을 의미한다. 새로운 육종을 통한 신품종 개발 시 이 군집 안에서의 교잡을 통한 우수한 품종을 개발 할 수 있을 것이다. 또한 이러한 교잡 시에 내한성과 화형을 고려하여 교잡하면 우수하고 다양한 형태의 신품종을 예측하고 개발할 수 있다. *Lycoris* 속은 화색이 다양하나 절화 수명이 짧은 것이 단점으로 이들 두가지속 식물의 장점들을 개량해 나가면 훌륭한 화훼 구근식물이 될 것이다. 본 연구에서는 *Lycoris* 속의 분포 지역 및 생육 특성, 유전적 유연관계를 분석하고 이에 따른 외형을 비교 분석 하였다. 같은 개화 시기와 다른 특성의 중간교잡을 이용하면 우수한 형질의 개량종을 개발 할 수 있을 것으로 기대하여 이러한 연구 결과는 육종 및 교잡으로 다양한 화종으로 개량하는 기초자료로 활용되기를 기대한다.

요약

본 연구에서는 RAPD 분석 기법과 자생지 분포와 개화특징을 이용한 유연관계를 분석하기 위하여 10종의 *Lycoris* 종을 선별하여 연구를 수행하였다. 10종의 상사화 종은 크게 두 군집으로 분류되었다. *L. sprengeri*와 *L. incanata*은 가장 높은 상동성을 보였으며, 같은 개화 시기와 분홍색의 화색을 가지고 있었다. 춘기출엽형은 *L. squamigera*, *L. sanguinea*, *L. koreana*, *L. sprengeri* 그리고 *L. incanata*이었으며, *L. squamigera*와 *L. sanguinea*는 같은 군집 안에서 높은 상동성을 보였다. 또한 *L. koreana*, *L. sprengeri* 그리고 *L. incanata* 도 군집 안에서 높은 상동성을 보였다. *L. radiata*, *L. radiata var pumila*, *L. albiflora* 그리고 *L. traubii*의 꽃은 spider형이며 이러한 종은 다른 종과의 유연관계가 매우 낮은 상동성을 보였다.

감사의글

본 연구는 2004년도 원광대학교의 교비 지원에 의해서 연구됨. 본 연구는 2006년도 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해서 연구됨.

참고 문헌

1. Bryan, J. E. 1989, Bulbs. Christopher helm London. pp. 264-265. (Amaryllidaceae) *J. Plant. Tax.* pp. 123-139.
2. Caldwell, S. 1968. Anmaryllid-Lycoris report-American plant life. pp. 87-92.
3. Hillstrom, J. E. 1980. *Lycoris*. Garden, Vol. 4. 24-25.
4. Hsu, P. S. and S. F. Huang. 1984. Karyotype analysis in *Lycoris rosea*. Traub & Moldenke. *Acta Phytotax. Sin.* **22**, 46-48.
5. Hsu Ping-Sheng, Siro Kurita, Yu Zhi-Zhou and Lin Jin-Zhen. 1994. Synosis of the Genus *Lycoris*. *Sida* **16(2)**, 301-331.
6. Inariyama, S. 1951. Cytological studies in genes *Lycoris*. *Sci. Rep. T. B. D. Sect. B*, Vol. 7. 2-158.
7. Kim, M. Y and Lee, S. T. 1991. A taxonomical study of the Korea *Lycoris*.
8. Kurita, S. 1980. *Lycoris aurea* versus *L. traubii*. *J. Jap. Bot.* **55**. 287-288.
9. Lee, M. S. 1987. Studies on the floral bud differentiation and meiosis in speies of *Lycoris*. *Kor. J. Breed* **19(2)**, 114-120.
10. Li-Chun-Huang, and Din-Ming Liu. 1989. Clonal multiplication of *Lycoris aurea* by tissue culture. *Scientia Horticultureae* **40**, 145-152.
11. Lin, J. Z., Yu., Z. Z. and XU, B.S. 1990. Hybridization and breeding of *Lycoris*. In: He, S. A. *et al*, Proc. Int. Symp. Bot. Gard. 557-568.
12. Rees, A. R. 1972. The growth of blubs. pp. 12-60. Academic press. London and New York.
13. Tae, K. W. S. C. Ko and Y. S. Kim. 1987. A cytotaxonomic study on genus *Lycoris* in Korea. *Kor. J. Plant Tax.* **17**, 135-145
14. Traubii, H. P. 1958. Two new *Lycoris* Species. *Plant Life* **14**, 44.
15. William, L. H. 1961. Another fine new *Lycoris*. *Plant Life* pp. 125-127.
16. William, M. 1983. *Lycoris* "Cinnabarinum" - A hybrid between *Lycoris sanguinea* and *L. traubii*. *Plant Life* **39**, 95-99.
17. 上海植物. 1975. 上海園林植物園說. 上海科學技術出版社. p. 463