

RAPD에 의한 층층나무의 유전적 다양성과 집단구조

문성기* · 허만규¹

경성대학교 생물학과, ¹동의대학교 분자생물학과

Received November 30, 2007 / Accepted February 22, 2008

Genetic Diversity and Population Structure of *Cornus controversa* Hemsley Using RAPD. Sung Gi Moon* and Man Kyu Huh¹. Department of Biology, Kyungsoong University, Busan 608-736, ¹Department of Molecular Biology, Dong-eui University, Busan 614-714 - *Cornus controversa* is a long-lived woody species mostly distributed in East Asia. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to investigate the genetic diversity and population structure of Korean populations of this species. A high level of genetic variation was found in seven populations of *C. controversa*. The mean genetic diversity (H) was 0.222 across populations, varying from 0.200 to 0.238. Eighty of the 93 loci (86.0%) showed detectable polymorphism in at least one population. Total genetic diversity values (H_T) varied between 0.192 and 0.231, giving an average overall polymorphic loci of 0.212. The interlocus variation of genetic diversity within populations (H_S) was high (0.167). Mean of genetic diversity in *C. controversa* was higher than average values for species with similar life history traits. The sexual reproduction, perennial habitat, and longevity are proposed as possible factors contributing to high genetic diversity. On a per locus basis, the proportion of total genetic variation due to differences among populations (G_{ST}) ranged from 0.169 to 0.278 with a mean of 0.216, indicating that about 21.6% of the total genetic variation was among populations. An indirect estimate of the number of migrants per generation ($Nm=1.893$) indicated that gene flow was extensive among Korean populations of *C. controversa*.

Key words : *Cornus controversa*, random amplified polymorphic DNA, genetic diversity, population structure

서 론

층층나무속(*Cornus*) 식물은 전 세계적으로 약 40여 종이 북반구의 온대와 난대지방에 분포하고, 일부는 열대와 아열대 지방에 분포한다[17]. 층층나무속 식물의 특성으로는 교목, 관목, 또는 초본과 같은 아관목으로 잎은 낙엽 또는 상록성으로 마주나거나 어긋나며 꽃은 양성, 단성, 방사상칭으로 화상이 대롱모양을 이루고 씨방은 1~4실, 각 실에 1개의 밑씨가 있다[5]. 또한 이들 식물의 암술대는 1개, 밑 부분에 화반이 있고 끝이 꼬리모양이거나 2~4개로 갈라지며, 열매는 핵과로 1개의 씨가 있고, 씨에는 다량의 배젖과 작은 배가 있다[9,17].

우리나라에 분포하는 층층나무속 식물은 총 7종으로 알려져 있다[12,14,19]. 층층나무(*Cornus controversa* Hemsley)는 울릉도, 제주도를 포함하여 전국 산지의 물가나 골짜기에서 자라는 낙엽교목으로 국외로는 일본, 대만, 중국에서 히말라야까지 분포한다. 이 층층나무는 수고는 18~20 m의 교목수종으로 해발 1400 m 이내의 산록과 계곡에서 분포하는 2차 천이 수종이다[4,16]. 잎은 호생하며 넓은 난형 또는 타원상

난형이고 꽃은 5월에 피며 백색이고, 꽃잎은 넓은 피침형이다. 열매는 둥글며 지름 6~7 mm로서 9월에 흑색으로 익는다. 층층나무는 관상수 및 목재에 쓰이며, 수피와 잎은 강장 등에 약으로 쓴다.

층층나무속 식물의 국외 연구로는 Fan과 Xiang [6]의 화학적, 세포학적 및 분자생물학적 방법(cpDNA와 26S rDNA)에 의한 분자계통을 통한 종간 유연관계를 규명하였으며, Xiang 등[23]이 cpDNA를 통한 층층나무속의 계통발생적 유연관계를 연구하였다.

층층나무속 식물의 국내 연구로는 Kang [12]의 기재적 연구 등이 있고, Park [19]가 형태학적, 해부학적 분류와 잎의 형태적인 형질의 특성을 수리 분류학적 방법을 통해 유연관계를 다룬 바 있고, Jang 등[11]에 의한 알로자임을 통한 유전변이와 집단구조를 분석한 바 있다. 이상과 같이 다양한 방법으로 층층나무과에 대한 연구가 수행되고 있지만, 아직까지 층층나무속 식물에 대한 분류학적 위치는 명확하게 확립되지 않고 있으며, 현재 사용되고 있는 본 속의 분류체계가 학자의 견해에 따라 1속 또는 3속으로 각각 사용되고 있어 분류체계에 혼란이 야기되고 있다. 한편 층층나무의 집단 유전학적 연구는 거의 이루어진 바 없다.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD)는 임의 유전자의 증폭을 이용한 것으로 분류학적 연구에 널리 쓰이고 있다[3,20]. 특히 RAPD 분석은 밀접하게 관련된 종들 사이에

*Corresponding author

Tel : +82-51-620-4641, Fax : +82-51-620-4603

E-mail : skmun@ks.ac.kr

유전적 유연관계를 규명하는데 매우 효과적인 것으로 보고 되었다[1,12]. RAPD 분석의 장점은 빠르고 정확하며 안전하게 할 수 있고 적은 DNA만으로도 많은 양의 유전적 마크를 손쉽게 얻을 수 있다[2,10].

본 연구의 목적은 우리나라에서 자생하고 있는 층층나무 7개 집단에 대해 RAPD marker를 이용하여 집단들 간의 유연 관계와 유전적 다양성을 체계적으로 분석해 보고자 하였다.

재료 및 방법

재료와 Genomic DNA 추출

한국에 자생하는 층층나무 7집단을 각 집단 당 20개체로 부터 잎을 채집하였다(Table 1). 수령 3년 이상의 식물체에서 신선한 잎(1.2 g)을 사용하여 DNA 추출에 이용하였다. 집단 간 분석을 위하여 한 개체 당 하나의 잎에서 각각 DNA를 추출하여 집단간 차이를 비교하는데 사용하였다. 같은 층층나무속의 다른 종인 산수유(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc)를 대조군으로 사용하였다.

RAPD 분석

각 식물체로부터 DNA를 추출하기 위하여 DNA 추출 시약(Plant DNA Zol Reagent: Life Technologies, Grand Island, New York, USA)를 사용하였는데 지침서에 의거하여 추출하였다. 신선한 생체 잎을 약 1.2 g를 계량한 다음 액체질소에 넣고 잘 마쇄하였다. DNA Zol을 튜브에 넣고 조직 용해를 위해 교반시켰다. 이소아밀 알코올(isoamyl alcohol) 과 클로로포름(chloroform)의 혼합 용액을 넣어 섞고 원심분리를 실시하여 DNA를 침전시켰다. 이후 DNA 침전반응, 세척과정, 용해 반응 등을 실시하였다. 건조시킨 후 TE 100 ul에 용해하였다. 3일간 냉장보관한 후 DNA정량을 체크하였다. 이 때 DNA양이 많아 농도가 높은 시료는 TE buffer로 희석하였으며, 낮은 시료는 원심분리로 침전시켜 농도를 조정하여 전체 시료의 DNA가 균질하게 조정하였다.

RAPD primer는 Operon Technologies (Alameda, Co.)로부터 구입하였다. 각 개체에서 DNA를 분석하기 위하여, 10개의 서열을 가진 20개씩의 시발체(kit C, OPC01 to 20)와

Table 1. Numeric codes and population locations of *C. controversa*

Codes	Locations
CON-1	Giri-san, Sancheong-gun, Gyeongsangnam-do
CON-2	Baekun-san, Gwangyang-si, Jeollanam-do
CON-3	Juwang-san, Cheongsong-gun, Gyeongsangbuk-do
CON-4	Seonun-san, Geochang-gun, Jeollabuk-do
CON-5	Gyeryong-san, Geonju-si, Cheungcheonnam-do
CON-6	Odae-san, Pangchang-gun, Gangwan-do
CON-7	Seorak-san, Yangyang-gun, Gangwan-do

kit D (OPD01 to 20)를 사용하였다. 그 중 예비 실험을 통해 RAPD band가 잘 나타나는 13개 RAPD primer를 선정하여 본 실험에 적용하였다(Table 2).

DNA증폭 반응들은 25 µl의 reaction buffer를 함유하는 0.6 ml tubes에 주입하였다. 즉 10 mM Tris-Hcl, pH 8.8, 50 mM MgCl₂, 100 µM 각각의 dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 0.2 mM primer, 2.1 units Taq DNA polymerase, 25 ng genomic DNA이다. 증폭된 반응물질들은 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 분리하였다. 이때 절편들의 상대적 크기를 비교하기 위해 100 bp ladder DNA marker (Pharmacia)를 같이 loading시켰다. 이 젤을 ethidium bromide로 30분간 염색하여 밴드를 현상하였다. 증류수로 세척 후 Alpha Image TM (Alpha Innotech Co, USA)을 사용하여 밴드 양상을 분석하였다. 두 번의 실험을 통해 일치되고 명확한 결과만 본 분석에 사용하였다.

데이터 분석

각 다형성 RAPD 밴드는 유무에 따라 존재 시 1, 부재 시 0으로 이진법 처리하였다. 여러 유전학적 표준 척도는 컴퓨터 프로그램 POPGENE ver. 1.31 [24]를 사용하여 측정하였다. 즉, 다형현상을 나타내는 유전자좌위(polymorphic loci)의 퍼센트(P_p), 유전자좌위당 대립유전자의 수(A), 유전자좌위당 유효한 대립유전자의 수(A_e), Nei[18]의 유전자 다양성(H), 샤논의 정보지수(Shannon's I)[15] 등으로 분석하였다.

유전자형 사이의 유전자 유사성(GS)의 평가는 한 개체로부터 증폭된 단편이 다른 개체에 역시 존재하는 밴드의 빈도에 기반을 두어 산출하였다.

집단들내 그리고 집단들 사이 유전적 다양성의 분포의 값을 계산하기 위해 유전자 다양성 공식(H_T , H_S , G_{ST})을 사용하

Table 2. List of decamer oligonucleotides utilized as primers, their sequences, and associated polymorphic fragments amplified in *C. controversa*

No. of primer	Sequence (5'→3')	No. of fragments
OPC01	TTCGAGCCAG	4
OPC03	GGGGGTCTTT	6
OPC07	GTCCCGACGA	8
OPC10	TGTCTGGGTG	9
OPC012	TGTCATCCCC	5
OPC017	TTCCCCCAG	6
OPC018	TGAGTGGGTG	8
OPD02	CGACCCAACC	8
OPD04	TCTGGTGAGG	7
OPD05	TGAGCGGACA	9
OPD11	AGCGCCATTG	8
OPD14	CTTCCCCAAG	5
OPD20	ACCCGGTCAC	10
Total	-	93

였다. 집단들 사이에 세대당 이주하는 유전자 이동(N_m)은 $N_m=0.5(1/G_{ST}-1)$ 로 계산하였다.

군집 분석

계통분석의 분지는 PHYLIP version 3.57 [7]의 NEIGHBOR 프로그램을 사용하였는데 이는 유전적 거리에 기초를 둔 neighbor-joining (NJ)방법에 의해 구성하였다.

결 과

비록 한국내 층층나무 식물 집단은 작고 서로 격리되어 있지만 중 수준에서 높은 다양성을 보였다. 조사한 층층나무 속 7집단에서 다양한 유전적 변이가 발견되었다. Fig. 1은 그 중 OPD05의 결과로 편의상 집단 당 20개체 중 한 개체씩만 사용한 결과를 나타낸 것이다. 집단 수준에서 13개 프라이머에서 프라이머 당 4에서 10개의 단편들이 탐지되어 총 93개 유전자좌위가 관찰되었다. 이 중에서 적어도 한 집단이상에서 다형현상을 보인 유전자좌위는 80개로 약 86.0%였다. 나머지 13개 좌위는 단형현상을 보였다. 집단별로는 평균 56.2%의 다형현상을 보였고, 고창의 선운산집단이 61.3%로 가장 높은 다형현상을 나타내었다(Table 3). 반면에 강원도 오대산집단이 50.5%로 가장 낮았다.

유전자좌위 당 평균 유전자 수(A)는 평균이 1.562이었는데, 가장 낮은 집단은 오대산으로 1.505였다. 반면, 가장 높은 집단은 선운산집단으로 1.613이었다. 대립 유전자 좌위 당 유효한 유전자의 수(A_E)는 1.395였다. 유전적 다양도는 경상북도 주왕산집단이 0.238로 가장 높았으며, 오대산집단이 0.200으로 가장 낮았다. Shannon의 정보지수는 7집단 평균이 0.323이었다.

전체 유전적 다양도(H_T)는 0.212였으며, 집단내 전체 유전적 다양도(H_S)는 0.167이었다(Table 4). 각 집단간 분화정도를

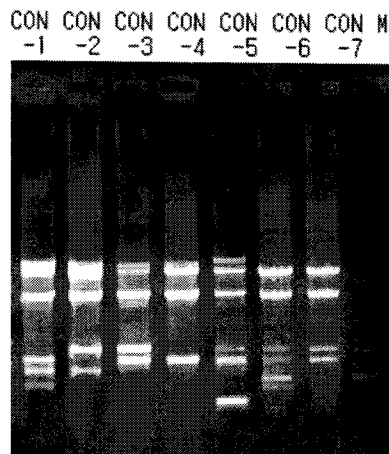


Fig. 1. A portion of RAPD patterns in seven populations of *C. controversa* using primer OPD05. M: Marker.

Table 3. Measures of genetic variation for *C. controversa*. The number of polymorphic loci (N_p), percentage of polymorphism (P_p), mean number of alleles per locus (A), effective number of alleles per locus (A_E), gene diversity (H), and Shannon's information index (I)

Populations	N_p	P_p	A	A_E	H	I
CON-1	51	54.8	1.548	1.389	0.218	0.319
CON-2	54	58.1	1.581	1.419	0.233	0.338
CON-3	56	60.2	1.602	1.427	0.238	0.347
CON-4	57	61.3	1.613	1.417	0.236	0.347
CON-5	52	55.9	1.559	1.382	0.216	0.317
CON-6	47	50.5	1.505	1.358	0.200	0.292
CON-7	49	52.7	1.527	1.375	0.208	0.304
Mean	52.29	56.2	1.562	1.395	0.222	0.323

Table 4. Estimates of genetic diversity of *C. controversa*. Total genetic diversity (H_T), genetic diversity within populations (H_S), proportion of total genetic diversity partitioned among populations (G_{ST}), and gene flow (N_m)

Populations	H_T (SD)	H_S (SD)	G_{ST}	N_m
CON-1	0.207 (0.041)	0.156 (0.026)	0.244	1.547
CON-2	0.217 (0.042)	0.170 (0.030)	0.220	1.776
CON-3	0.227 (0.041)	0.176 (0.029)	0.225	1.721
CON-4	0.231 (0.041)	0.194 (0.033)	0.160	2.619
CON-5	0.210 (0.041)	0.164 (0.029)	0.216	1.820
CON-6	0.192 (0.042)	0.160 (0.032)	0.169	2.466
CON-7	0.202 (0.044)	0.146 (0.027)	0.278	1.302
Mean	0.212	0.167	0.216	1.893
Total	0.316 (0.029)	0.221 (0.023)	0.300	1.166

나타내는 집단간 분화정도(G_{ST})는 0.216이었다. G_{ST} 에 기초한 세대당 이주하는 gene flow 값(N_m)은 한국 내 일곱 집단사에서 $N_m=1.893$ 이었다.

집단간 유전적 동질성은 0.748에서 0.944로 나타났다(Table 5). 유사도는 집단간 유전적 유사도는 백운산집단과 선운산집단이 가장 근연한 0.057이었으며 지리산집단과 오대산집단이 가장 먼 0.290이었다. 이는 군집분석에서도 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 2).

고 찰

층층나무는 다른 유사한 생활사를 가진 식물종에 비해 유전적 다양성이 보통 수준으로 유지되고 있다. 예를 들면 층층나무의 유전적 다양도(H)는 0.222로 나타났다(Table 3). 이는 온대지역 식물의 0.146, 쌍자엽식물 종의 평균(0.136), 유성생식을 주로 영위하는 종의 평균(0.151), 광범위 분포하는 종(0.177)보다 높았다[8]. 다형현상 빈도(P_p)는 평균 52.3%로 이 값은 온대지역 식물의 48.5%, 쌍자엽식물 종의 평균(44.8%), 유성생식을 주로 영위하는 종의 평균(51.6%)보다 높

Table 5. Genetic identity (upper diagonal) of *C. controversa* and genetic distances (low diagonal) based on RAPD analysis

Populations	CON-1	CON-2	CON-3	CON-4	CON-5	CON-6	CON-7
CON-1	-	0.866	0.855	0.821	0.840	0.748	0.761
CON-2	0.144	-	0.904	0.898	0.871	0.801	0.793
CON-3	0.157	0.101	-	0.944	0.919	0.823	0.810
CON-4	0.197	0.108	0.057	-	0.936	0.868	0.846
CON-5	0.174	0.139	0.084	0.066	-	0.903	0.875
CON-6	0.290	0.222	0.195	0.142	0.102	-	0.938
CON-7	0.273	0.232	0.211	0.167	0.134	0.064	-

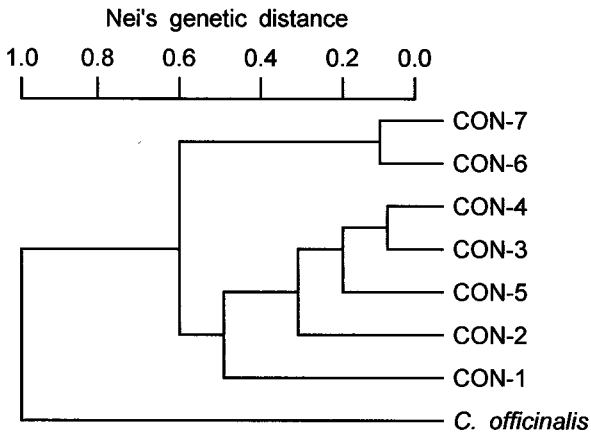


Fig. 2. A phenogram showing the relationships among seven populations of *C. controversa* and the outgroup (*C. officinalis*) based on data of genetic distance obtained by RAPD.

으나, 광범위 분포하는 종(64.7%)보다는 낮다. 한편 Jang 등 (2003)의 allozyme에 의한 결과와 비교하면 Pp는 48.1%, H는 0.124, A는 1.56, A_E는 1.192로 전반적으로 본 연구 결과보다 낮았다. 이는 동일종에 대해 RAPD에 의한 결과가 비중립성 마커인 allozyme에 의한 결과보다 높다는 일반적 결과와 일치한다[2].

한편 층층나무에서 유전적 다양성이 높은 것은 생물학적 일반 특성과 일치한다. 층층나무속 식물이 여러 나라에 분포하는 종이 있는 반면 한국내 종은 주로 동아시아에 국지 분포하므로 세계적으로 넓게 분포하는 종에 비해 서로 유전자를 덜 교환하고, 한편 좁은 분포를 가진 종에 비해 높은 다양도를 가진다는 일반적 견해에 부합하는 것이다. 그럼에도 불구하고 층층나무가 보통 수준 또는 그 이상의 유전적 변이를 나타내는 것은 생물적 특성에 기인한다고 사료된다. 즉, 층층나무는 유성생식과 무성생식을 동시에 영위할 수 있으므로 여러 불리한 환경조건에도 자손을 생성할 수 있기 때문이다. 즉, 매개수분자가 적을 경우는 영양번식을 할 수 있고, 산사태나 뿌리 절단시 영양번식으로도 번식이 가능하기 때문

이다.

집단들 사이의 유전적 분화는 꽃가루와 씨의 분산을 매개로 하는 자연 선택, 유전자 이동, 유전자 교류가 중요한 개념이다. 본 연구 결과의 가장 현저한 특징은 집단들 사이에 기록된 유전자 분화의 정도는 다른 다년생 종들에서 얻는 결과들과 비교할 때 비교적 높은 수준이었다. 예를 들어, allozyme 분석에 기초를 둔 결과이지만 유전적 변이의 고찰에 따르면 다가수분이 현저한 다년생 식물 중에서 유전적 분화는 집단간 사이에 평균 10% 이하로 나타났다[8]. 그런데, 층층나무는 전체 변이의 약 21.6%가 집단 사이의 차이에 기인한다(G_{ST} = 0.216). 이는 집단의 크기가 작아 대군락을 이루는 곳이 전혀 없었고 한국내 층층나무 식물 집단이 서로 격리되어 있는 것이 그 원인의 하나로 사료된다. 유전적 분화의 높은 정도는 집단 사이의 유전자 이동이 낮다는 것을 암시한다. 이들 식물의 유전자 교류는 역시 씨와 꽃가루의 분산에 관한 정보에 의해 식물 안에서 설명될 수 있다. 예를 들면, 열매 성숙의 기간은 늦은 10월에서 이른 11월이고, 성숙된 열매는 곤충과 바람에 의해 수송된다. 이때에는 곤충들이 차가운 기후나 겨울잠으로 인해 거의 사라진다. 따라서 적어도 수분은 곤충보다는 바람에 의존할 것으로 판단되므로 집단이 격리되어 있어 효율적인 수분이 기대되지 않을 것으로 판단된다. 대신에 종자는 작고 가벼워 바람에 의해 장거리 이동이 가능할 것으로 판단된다. Nm값이 1.0 이하이면 유전적 부동 효과가 전반적으로 크게 작용하는 것으로 알려져 있다[21,22]. 따라서 본 연구 결과 1.893은 유전적 부동을 상쇄 시키기에 충분한 값이다. 따라서 한국 내 이 종의 집단은 유전적 부동이 크게 작용하는 것으로 볼 수 없다. 그보다는 층층나무 집단의 크기가 작은 것이 그 원인으로 들 수 있다.

또한 실험 집단 사이에 서식지 고도에서도 차이가 있어 수직으로 이동하는 곤충류들에게는 수분을 기대하기 어려울 것으로 보인다. 그런 까닭에 대부분의 집단이 같은 큰 지역 내 작은 분집단이 거의 없지만 있다고 할지라도 분집단들간 고립이 발생할 것으로 사료된다. 유전자 이동은 집단들 사이에 크게 높지 않기 때문에 유전적 분화는 지역적 선택의 결과일지도 모른다. 유전자 변이와 지역적 선택은 집단들 사이에 유전 변이의 분포를 식별 가능하게 하는 요인이다.

RAPD 마커에 기초한 계통수 내에는 집단들의 위치와 지리적 위치가 거의 완전하게 일치하지 않지만 유사한 양상을 나타내었다(Fig. 2). 또한 유전적 다양도를 보면 남쪽지방에 있는 집단이 중부지방에 있는 집단보다 약간 높다. 그러나 명확한 상관관계를 위해 보다 많은 집단과 개체를 분석하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 또한 더 많은 프라이머를 사용하거나 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 같은 분자마커를 사용하거나 ITS (nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences)같은 빠른 진화를 보이는 분자시계로 보다 심도 있게 분석하면 보다

나은 결과가 기대된다. 결론적으로, 분석한 한국 내 7개 집단 은 사용한 13개 primer로 모두 잘 구분되었다. 따라서 RAPD 마커는 한국 층층나무 집단을 구분하기에 매우 효과적이라고 볼 수 있으며 한 종내 여러 집단뿐만 아니라 층층나무속 내 여러 종에게도 적용하는데 기초 자료로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 경성대학교 2005년도 연구과제로 수행되었습니다.

References

1. Abo-elwafa, A. K. and M. T. Shimada. 1995. Intra- and inter-specific variations in *Lens* revealed by RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* **90**, 335-340.
2. Bartish, I. V., L. P. Garkava, K. Rumpunen and H. Nybom. 2000. Phylogenetic relationships and differentiation among and within populations of *Chaenomeles* Lindl. (Rosaceae) estimated with RAPDs and isozymes. *Theor. Appl. Genet.* **101**, 554-563.
3. Beebe, S., P. W. Skroch, J. Tohme, M. C. Duque, F. Pedraza and J. Nienhuis. 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop. Sci.* **40**, 264-273.
4. Cornelissen, J. H. C. 1993. Seedlings growth and morphology of the deciduous tree *Cornus controversa* in simulated forest gap light environments in subtropical China. *Plant Species Biology* **8**, 21-27.
5. Cronquist, A. 1981. *An Intergreted System of Classification of Plants*. Columbia University Press, New York.
6. Fan, C. and Q. Y. Xiang. 2001. Phylogenetic relationships within *Cornus* (Cornaceae) based on 26S rDNA sequences. *Am. J. Bot.* **88**, 1131-1138.
7. Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5s. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle, WA.
8. Hamrick, J. L. and M. J. W. Godt. 1989. Allozyme Diversity in Plant Species, pp. 304-319, In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kahler and B. S. Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
9. Hutchinson, J. 1959. *The Families of Flowering Plants*. Vol. **1**, Clarendon Press, Oxford.
10. Iruela, M., J. Rubio, J. I. Cubero, J. Gil and T. Mill. 2002. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* **104**, 643-651.
11. Jang, S. S., S. W. Lee, C. S. Kim, Y. M. Kim and H. E. Kim. 2003. Genetic diversity and structure of national populations of *Cornus controversa* in South Korea. *J. Korean For. Soc.* **92**, 42-51.
12. Kang, P. S. 2006. Taxonomic Reexamination on the Genus *Cornus* in Korea. MS, Thesis, University of Hannam.
13. Koverza, O. V., Z. G. Kokaeva, F. A. Konovalov and S. A. Gostimsky. 2005. Identification and mapping of polymorphic RAPD markers of pea (*Pisum sativum* L.) genome. *Russian J. Genetics* **41**, 262-268.
14. Lee, Y. N., 1997, *Flora of Korea*. Kyo-Hak Publishing Co., Seoul, Korea.
15. Lewontin, R. C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.* **61**, 381-398.
16. Masaki, T., H. Tanaka, M. Shibata and T. Nakashizuka. 1994. The seed bank dynamics of *Cornus controversa* and their role in regeneration. *Seed Science Research* **8**, 53-63.
17. Merrit, L. F. 1950. *GRAY'S Manual of Botany*. pp. 1105-1106, Harvard University.
18. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **701**, 3321-3323.
19. Park, U. H. 1999. The Taxonomical Study of the Korean *Cornaceae*. MS, Thesis, University of Gyeongsang.
20. Qian, W., S. Ge and D. Y. Hong. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* **102**, 440-449.
21. Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**, 787-792.
22. Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.* **15**, 313-354.
23. Xiang, Q. Y., D. E. Soltis and P. S. Soltis. 1998. Phylogenetic relationships of *Cornaceae* and close relatives inferred from *matK* and *rbcL* sequences. *Am. J. Bot.* **85**, 285-297.
24. Yeh, F. C., R. C. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE version 1.31, Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis, Edmonton, Canada.