

## 핵형분석과 FISH 기술을 이용한 솔비나무와 다릅나무의 세포유전학적 연구

김수영\* · 김찬수<sup>1</sup>

국립생물자원관 생물자원총괄과, <sup>1</sup>국립산림과학원 난대산림연구소

### Cytogenetic Study of *Maackia amurensis* Rupr. & Maxim. and *M. fauriei* (Levl.) Takeda Using Karyotyping Analysis and the FISH Technique

Soo-Young Kim\* and Chan-Soo Kim<sup>1</sup>

Biological Resources Coordination Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 404-708, Korea

<sup>1</sup>Warm-Temperate Forest Research Center, Korea Forest Research Institute, Seogwipo, 697-050, Korea

**적 요:** 국내에 자생하는 *Maackia*속 2종(솔비나무, 다릅나무)의 염색체수 및 핵형을 분석하고 5S와 45S rDNAs를 이용한 bicolor FISH를 수행하였다. 솔비나무와 다릅나무의 체세포 염색체수는 동일하게  $2n=2x=18$ 로 관찰되었고, 염색체의 길이는 3.58~5.82  $\mu\text{m}$ 이었다. 솔비나무의 염색체 조성은 2쌍의 중부 염색체(염색체 1과 7번), 4쌍의 차중부 염색체(염색체 4, 6, 8, 9번), 그리고 3쌍의 차단부 염색체(염색체 2, 3, 5번)로 확인되었다. 다릅나무의 염색체는 4번이 차단부 염색체, 7번이 차중부 염색체로 솔비나무와 차이를 보였으나 다른 염색체의 동원체 위치는 유사하게 관찰되었다. 5S와 45S rDNA를 이용한 FISH 결과, 45S rDNA 유전자는 솔비나무와 다릅나무에서 각각 1쌍으로 관찰되었고 2번 염색체의 2차 협착 부위에서 확인되었다. 5S rDNA 유전자를 이용한 플리지도 작성에서는 두 종 사이를 구별할 수 있는 결과를 확인할 수 있었다. 솔비나무의 경우 염색체 7번과 8번의 동원체 부위에서 2쌍이 각각 관찰되었고, 다릅나무에서는 염색체 7번과 8번뿐만 아니라 3번과 4번 염색체에서도 관찰되어 모두 4쌍으로 확인되었다. 따라서, 5S rDNA 유전자를 이용한 FISH방법을 통해 세포학적으로 두 종을 구분할 수 있었다.

**주요어:** *Maackia*, 염색체, 핵형분석, rDNAs, bicolor FISH

**ABSTRACT:** Chromosome analysis using karyotyping and bicolor FISH were carried out for two *Maackia* species (*M. fauriei* and *M. amurensis*) found in Korea. The somatic metaphase chromosome number was  $2n=2x=18$  in both, and the size of these chromosomes ranged from 3.58 to 5.82  $\mu\text{m}$ . The chromosome complements consisted of two pairs of metacentric (chromosomes 1 and 7), four pairs of submetacentrics (chromosomes 4, 6, 8 and 9) and three pairs of subtelocentrics (chromosomes 2, 3 and 5) in *M. fauriei* but, chromosomes 4 (subtelocentric) and 7 (submetacentric) of *M. amurensis* have different morphology. Using bicolor FISH, a pair of 45S rDNA loci were observed for both *M. fauriei* and *M. amurensis*, but the number and site of the 5S rDNA signal were different in the two species. *M. fauriei* has two pairs of 5S signals on chromosomes 7 and 8 but, *M. amurensis* has four pairs on chromosomes 3, 4, 7 and 7. Hence, the 5S rDNA is a useful FISH for *Maackia* species.

**Keywords:** *Maackia*, chromosome, karyotyping analysis, rDNAs, bicolor FISH

*Maackia* Rupr. & Maxim. (subfamily Papilionoideae, Fabaceae) 은 Ruprecht와 Maximowicz (1856)에 의해서 1855년 Maack가 러시아의 아무르지역에서 채집한 다릅나무(*M. amurensis*

Rupr. & Maxim.) 표본을 기준표본으로 하여 기재되었다. 본 속은 목본으로 구성되어 있으며 한국을 비롯한 러시아, 일본, 중국, 타이완 등 아시아의 온대와 아열대에 분포하고 있다. *Maackia*속에는 전 세계적으로 11종이 알려져 있는데 그 중 러시아에 *M. amurensis* 1종이 극동러시아의 아

\*Author for correspondence: sy7540@me.go.kr

무르강, 우수리강, Hanka호의 연안에 분포하고 있으며 (Kolbek et al. 2003), 중국에는 주로 동부지역에 분포하는데 동부지방에 다릅나무, Guangdong 지방에 *M. australis* (Dunn) Takeda, Zhejiang, Jiangsi, Guangdong 지방에 *M. chekiangensis* S.S. Chien, 동중부지방에 *M. hulpehensis* Takeda와 *M. tenuifolia* (Hemsl.) Hand.-Mazz., Shaanxi 지방에 *M. hwashanensis* W.T. Wang, Hubei에 *M. honanensis* L.H. Bailey, Hongkong (Lantau Island)에 *M. ellipticocarpa* Merr. 등 8종이 분포하고 있다(Li et al., 1998; Kolbek et al., 2003; Tropicos.org, 2009). 그리고 일본에는 Hokkaido, Honshu, Shikoku, Kyushu에 다릅나무, Honshu, Kyushu, Shikoku, Ryukyus에 *M. tashiroi* (Yatabe) Makino 등 2종이 분포하고 (Ohashi, 2001), 타이완에 *M. taiwanensis* Hoshi & Ohashi 1종이 분포하는 것으로 알려져 있다(Boufford et al., 2003).

우리나라에는 제주도를 제외한 전도에 분포하는 다릅나무와 제주도에만 분포하는 솔비나무(*M. fauriei* (Levl.) Takeda), 2종이 분포하고 있다(Choi, 2007). 이 두 분류군은 다릅나무가 소엽의 길이 5~8 cm이며 7~11개인데 비하여 솔비나무는 소엽의 길이 3~6 cm이며 9~17개라는 점에서 구분된다(Lee, 2003). 그런데 그 중 러시아, 중국, 한국, 일본 등 분포지역이 넓은 다릅나무는 종 내 변이가 매우 다양하여 아종 또는 변종 등 종하 분류계급에서 분리 필요성이 제기되고 있는가 하면(Levings, 2006), *M. floribunda*를 본 종에 통합하는 견해까지 제시되고 있는 실정이다(Ohashi, 2001). 또한 솔비나무는 *M. floribunda*와 유사하지만 *M. floribunda*는 소엽에 털이 있는데 비하여 털이 없으며 꽃의 길이에 있어서도 *M. floribunda*는 6~7 mm인데 비하여 1 cm 이상으로 크다는 점 등 형태학적 측면에서 차이가 밝혀지고 있으나(Levings, 2006), 솔비나무를 *M. floribunda*에 통합하는 견해를 따르는 경우도 있다(Lee, 1996a, 1996b).

이와 같이 우리나라에 분포하고 있는 솔비나무와 다릅나무에 대한 분류학적 연구가 아직도 많이 이루어지지 않은 점에 비추어 볼 때 앞으로 이들 분류군들에 대하여 세포학적 연구를 포함하여 다양한 정보의 축적이 필요한 실정이라고 할 수 있다.

*Maackia*속에 관한 염색체 연구는 미흡한 실정이며 11종 가운데 4종에서만 염색체 수가 보고 되었다. 다릅나무의 경우 국내에서는 염색체 수가 보고된 바 없고, 국외에서  $n=9$ 로 보고되었다(Goldblatt, 1981; Goldblatt and Davides, 1977; Probatova and Sokolovskaya, 1981; Volkova et al., 1994; Yeh et al., 1986). 또한 재배되고 있는 *M. hupehensis* (as *M. chinensis*)의 염색체 수도  $n=9$ 로 보고되었다(Goldblatt, 1981). 두 종의 염색체 수와는 달리 *M. tashiroi*에서는 염색체 수가  $n=10$ 으로 보고되었으며(Yeh et al., 1986), 우리나라 고유종이면서 제주에 한정 분포하는 솔비나무의 경우도  $2n=2x=20$ 으로 보고된 바 있다(Lee and Kim, 2008).

최근 국내 자생식물을 대상으로 FISH (fluorescence *in*

*situ* hybridization)방법을 사용하여 ribosomal DNA 염기서열을 근거로 하는 분자세포유전학적 연구가 활발히 진행되고 있으며(Koo et al., 2003; Kim et al., 2004; Kim et al., 2005; Kim et al., 2006a, b, c), 아직 연구가 되지 않은 식물들에 대한 염색체 정보가 수록된 염색체자료집이 발간되었다(Lee and Kim, 2007; Lee and Kim, 2008). 염색체수나 핵형분석 그리고 특정 염기서열을 이용한 FISH방법을 통한 세포학적 결과들이 우리나라의 임목유전자원에 대한 중요한 자료로 활용될 수 있으나, 목본식물에 대한 세포학적 연구의 어려움으로 많은 연구가 진행되지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 제주도 고유종인 솔비나무가 포함된 *Maackia*속 2종의 염색체수 및 핵형학적 차이를 조사하고 FISH 방법을 통해 물리지도(physical mapping)를 작성하여 분자 세포학적인 차이를 분석하여 분류학의 주요형질로 활용할 수 있는 방법을 제시할 수 있도록 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

본 연구에 사용한 솔비나무는 제주도 한라산에 자생하고 있는 개체(난대산림연구소 종자은행 no. 8739, 확정표본 WTFRC8583), 다릅나무는 국립산림과학원 산림자원육성부 수목원(경기도 수원 소재)에 식재되어 있는 개체(난대산림연구소 종자은행 no. 10744, 확정표본 WTFRC10997)의 종자를 온실에 파종하여 발아된 지 2~3주 정도의 생장이 왕성한 유식물에서 근단을 채취하여 사용하였다.

### 체세포 염색체 관찰 및 핵형분석

채취된 근단은 중기 염색체상을 얻기 위하여 증류수(4°C)에 넣어 24시간 동안 저온처리한 다음, Farmer's solution (glacial acetic acid: ethanol = 1 : 3, v/v)에 담가 4°C에 보관하면서 재료로 이용하였다. 염색체 관찰을 위해 고정된 근단을 1N HCl (60°C)에서 5분간 연화한 다음, 증류수로 수세하고 Feulgen 용액에서 염색한 후, 1% aceto-carmine을 이용하여 압착법으로 프레파라트를 만들어 염색체를 관찰하였다. 양호한 분열상은 촬영하여 핵형분석에 사용하였다. 핵형분석은 Levan 등(1964)의 방법에 따라 염색체의 동원체를 중심으로 하여, 단완(short arm, S)과 장완(long arm, L)의 길이를 이용한 arm-ratio (L/S)를 비교하여, 그 비가 1.0~1.7일 경우 중부염색체(M, metacentric), 1.7~3.0일 경우 차중부염색체(SM, submetacentric), 3.0~7.0일 경우 차단부염색체(ST, subtelocentric), 7.0 이상일 경우 단부염색체(T, telocentric)로 구분하여 분석하였으며 염색체의 배열은 긴 것으로부터 짧은 순으로 하여 고유 번호를 부여하였다.

### FISH 슬라이드 제작

FISH 실험을 위한 슬라이드를 제작하기 위해 고정된 근단

을 증류수로 수세한 후 효소 혼합용액(2% cellulase Onozuka R-10, 1.5% macerozyme R-10, 1% pectolyase Y-23, 0.5 mM EDTA, pH 4.2)에 담가 30분간 처리(37°C) 후, Farmer's solution 을 이용하여 가는 핀셋으로 슬라이드글라스 위에서 염색체를 전개한 뒤 상온에서 2~3일간 건조시켰다. 위상차현미경 하에서 분열상이 양호한 슬라이드를 선별하여 FISH 실험에 사용하였다.

**탐침의 준비와 bicolor FISH**

FISH를 위한 탐침으로는 digoxigenin-11-dUTP로 표지된 5S rDNA와 biotin-16-dUTP로 표지된 45S rDNA를 이용하였으며 bicolor FISH는 Kim 등(2006a)의 방법을 변용하여 사용하였다.

건조된 슬라이드상의 염색체 변성을 위하여 70% formamide/2x SSC 용액에 1분간 처리하고, 70% 에탄올(-20°C)에서 급냉 후, 95%와 99% 에탄올에서 각각 5분씩 탈수하여 상온에서 30분 정도 건조시켰다. 탐침 혼합액(biotin-16-dUTP와 digoxigenin-11-dUTP로 각각 표지된 100 ng의 probe DNA, 50% formamide, 2x SSC, 10% dextran sulfate, 10 ng ssDNA)은 90°C에서 10분간 변성시킨 후, 급냉시켜 준비하였다. 건조된 슬라이드상에 20 µl의 탐침 혼합액을 가한 다음, 커버글라스를 덮고 paper bond로 봉하여, 37°C에서 16시간 이상 혼성화(hybridization) 하였다. 혼성화 시킨 슬라이드는 42°C의 2x SSC, 50% formamide/2x SSC, 2x SSC, 4x SSC 용액에서 각각 5분씩 수세하였다. 탐침의 비특이적인 결합을 막기 위해 염색체 슬라이드에 blocking reagent가 포함된 TNB용액에 1%의 avidin-FITC (fluorescein isothiocyanate)와 ant-digoxigenin rhodamine이 포함된 100 µl의 혼합액을 가한 다음 37°C에서 50분 동안 반응시켜 biotin과 digoxigenin으로 표지된 DNA 탐침을 동시에 검출하였다. 4x SSC/0.2% tween-20 완충액으로 37°C에서 5분씩 3번 수세 후, 1 µg/ml DAPI (4,6-diamidine-2-phenylindole dihydrochloride)용액을 포함한 Vectashield (Vector Lab.) 15 ml를 도포하여 커버를 덮은 후 cooled CCD 카메라(Cool SNAP, Photometrics)와 형광현미경을 이용하여 signals를 관찰하고 사진을 촬영하였다. 확인된 signal들은 Meta Imaging Series, TM-4.6 (Universal Imaging Corporation) 소프트웨어를 사용하여 합성하였다.

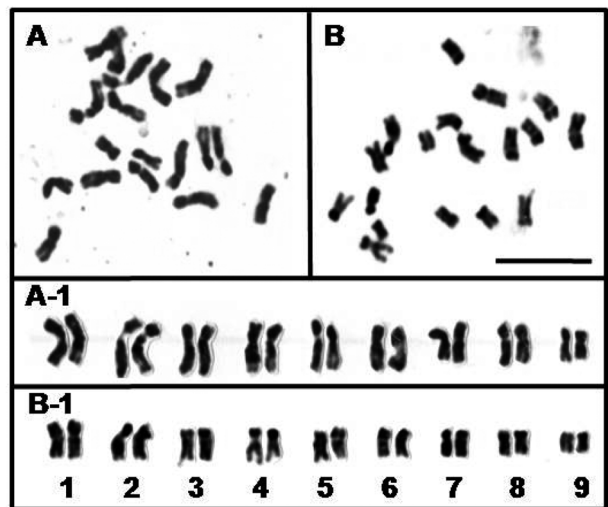
**결과 및 고찰**

**핵형분석**

제주도 고유종인 솔비나무와 내륙에 자생하는 닥나무의 체세포 염색체수는 2n = 2x = 18로 기본 염색체수가 x = 9이며 이배체(diploid) 식물이다(Fig. 1A and B). 염색체의 크기는 3.58~5.82 µm이었으며 arm-ratio는 1.03~3.95이었다. 동일한 조건으로 전처리를 하더라도 염색체의 응축 정도의 차이로 솔비나무의 염색체 크기가 닥나무에 비

해 항상 크게 관찰되었다. 솔비나무의 핵형조성은 arm-ratio에 따라 2쌍의 중부염색체(염색체 1번과 7번)와 4쌍의 차중부염색체(염색체 4, 6, 8, 9번) 그리고 3쌍의 차단부염색체(염색체 2, 3, 5)로 각각 구분 되었다(Fig. 1. A-1). 닥나무의 핵형분석 결과는 솔비나무와 거의 유사하였으나 염색체 4번과 7번에서 약간의 핵형학적인 차이를 보였다. 닥나무의 염색체 조성은 1쌍의 중부염색체(염색체 1번)와 4쌍의 차중부염색체(염색체 6, 7, 8, 9번) 그리고 4쌍의 차단부염색체(염색체 2, 3, 4, 5)로 관찰되었다(Fig. 1. B-1). 인형성 부위(NOR, nucleolus organizer region)를 지니고 있는 염색체는 일반 염색법으로도 관찰이 가능하였는데, 솔비나무의 2번 염색체에서 뚜렷하게 관찰되었다.

전 세계적으로 분포하는 11종의 *Maackia*속 식물 가운데 4종에 대한 염색체 수가 보고되었다. *Maackia*속의 염색체수는 n = 9와 10으로 보고되었는데, n = 9로 보고된 종은 국내 뿐만 아니라 중국, 일본, 러시아 등 주변국가에도 자생하고 있는 닥나무(Goldblatt, 1981; Goldblatt and Davidse, 1977; Probatova and Sokolovskaya, 1981; Volkova et al., 1994; Yeh et al., 1986)와 중국에 분포하는 *M. hulpehensis*이다(Goldblatt, 1981). 국내에서는 닥나무에 대한 염색체수는 보고된 바 없고, 제주도 고유종인 솔비나무의 염색체수와 핵형분석에 대한 결과가 보고된 바 있다(Lee and Kim, 2008). 염색체수가 n = 10으로 보고 된 종은 *M. tashiroi*였으며(Yeh et al., 1986), 한국 고유종인 솔비나무에서도 2n = 20으로 체세포 염색체수가 보고되었으나(Lee and Kim, 2008), 본 연구를 통해 닥나무와 동일하게 2n = 18로 관찰되었다. 솔비나무에서 satellite가 단완에서 분리되어 크기가 작은 체세포 염색체로 혼돈하여 2n = 20으로 보고된 바 있으나 본 연구에서 2n = 18로 정정하는 바이다. 따라서 국내에 분포하는 *Maackia*속 2종의 체세포 염색체 수는 2n = 18로 동일하게 관찰되었다.



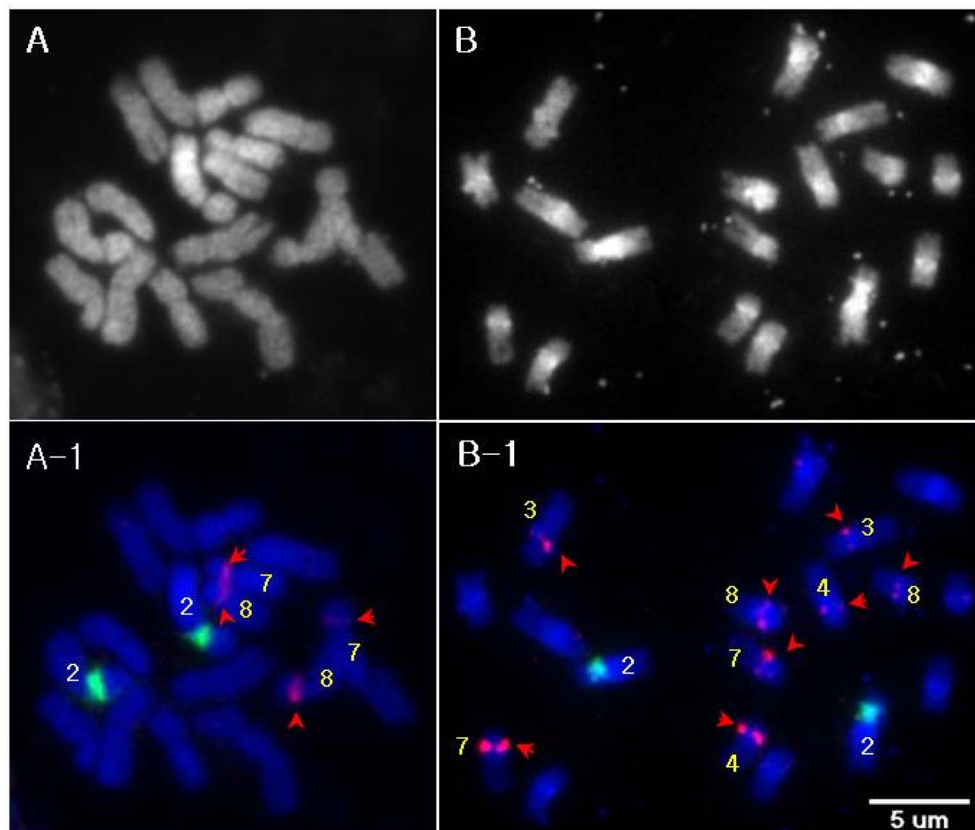
**Fig. 1.** Somatic metaphase chromosome complements (2n = 2x = 18) and karyotypes in *Maackia* species. A and A-1, *M. fauriei*; B and B-1, *M. amurensis*. Bar, 5 µm.

### Bicolor FISH

국내에 자생하는 2종의 *Maackia*속 식물의 핵형분석 결과 4번과 7번 염색체의 형태학적 차이를 제외하고는 인형성 염색체의 위치와 다른 핵형학적인 큰 차이는 관찰할 수 없었다. 따라서 5S와 45S rDNA 유전자를 탐침으로 솔비나무와 다릅나무의 체세포 염색체상에서 각각의 물리지도 작성을 위해 bicolor FISH를 수행하였다. Cooled CCD 카메라를 이용하여 슬라이드상에 전개된 염색체상을 monochrome 이미지로 관찰하여 염색체수( $2n=18$ ) 및 형태를 정확히 관찰하였다(Fig. 2A and B). Digoxigenin-11-dUTP와 biotin-16-dUTP로 각각 표지된 5S와 45S rDNA를 탐침(probe)을 이용한 FISH 결과, 45S rDNA 유전자의 수와 위치는 솔비나무와 다릅나무에서 1쌍으로 관찰되었고 2번 염색체의 2차 협착 부위에 확인되었다. 5S rDNA 유전자를 이용한 물리지도 작성에서는 두 종 사이를 구별할 수 있는 결과를 확인할 수 있었다. 솔비나무의 경우 염색체 7번과 8번의 동원체 부위에서 2쌍이 각각 관찰되었고, 다릅나무에서는 염색체 7번과 8번뿐만 아니라 3번과 4번 염색체에서도 관찰되어 모두 4쌍으로 확인되었다. 따라서 5S rDNA 유전자를 이용한 FISH방법을 통해 세포학적

으로 두 종을 구분할 수 있었다.

5S와 45S rDNA는 리보솜의 구성 성분으로 5S rDNA의 경우 120bp의 conserved coding sequence를 포함한 200-500bp의 반복적인 배열을 하고 있으며, 하나의 loci에서 rDNA 복제수의 변화가 심하여 수의 변이와 위치 분포가 식물 종간의 관계와 진화에 유용하게 사용되고 있다(Mukai et al., 1991; Maluszynska and Heslop-Harrison, 1993; Castilho and Heslop-Harrison, 1995). 45S rDNA 유전자는 모든 식물 종의 염색체 상에서 1쌍 이상이 존재하고(Maluszynska and Heslop-Harrison, 1991), 인형성 부위를 포함하고 있는 부수체 염색체에서 관찰되며(Leitch and Heslop-Harrison, 1992), 5S rDNA와 동일한 위치에서 나타나지 않는다. 따라서 일반 염색법으로 핵형분석이 어렵거나 동일한 속내에서의 종간의 차이를 구분할 수 있는 유용한 유전자로 사용된다. 최근에는 국내에서도 이러한 rDNAs를 이용하여 종간의 차이를 구분하고 식물의 계통연구와 염색체지도 작성 그리고 분자세포생물학 분야 등 여러 식물 분야에 전반적으로 FISH기술이 이용되고 있다(Lee et al., 2005; Kim et al., 2006b, c). 황기속(*Astragalus*) 식물 3종에서 특산식물인 제주황기와 야생 황기를 대상으로 하여 5S rDNA 유전자의



**Fig. 2.** Bicolor FISH pattern of the metaphase chromosomes of *Maackia* species using 5S and 45S rDNA probes. Monochrome image of chromosomes preparation. A, *M. fauriei*; B, *M. amurensis*. Bicolor FISH using both 5S (red) and 45S (green) rDNA genes. A-1: *M. fauriei*, B-1: *M. amurensis*. Bar, 5  $\mu$ m.

수적인 차이로 두 종을 구분할 수 있었고(Kim et al., 2006b), 마디풀속(*Rumex*) 8종에 대한 물리지도 작성결과 동일한 속내에서 5S rDNA와 45S rDNA유전자의 각 종에 따른 수적인 차이로 세포학적 특성이 분류형질을 뒷받침 할 수 있다는 가능성이 보고된 바 있다(Kim et al., 2006a). 일반적인 염색법으로 체세포를 관찰할 경우 염색체의 형태적인 특징만을 보여주는데 반해 FISH기법과 같은 분자세포유전학적 방법은 다양한 반복서열을 탐침으로 하여 형광염색을 이용하기 때문에 모양과 크기가 유사한 염색체를 구분하기에 용이하고, 계통 구조를 연구하는데 있어 매우 유용한 기술이라 할 수 있다(Fukui et al., 1994).

본 연구에서 수행된 핵형분석 및 rDNA를 이용한 물리지도 작성은 제주도 고유종인 솔비나무와 님나무에 자생하는 님나무의 계통구조를 이해하고, 유전자의 물리적 위치를 탐색하는 기초 연구로써 목본식물의 세포학적 연구의 어려움을 다소 해결할 수 있을 것이라 사료되며 동일한 속내에서 유사 종들간의 유연관계를 분석하기 위한 세포학적 자료로서의 활용도가 높을 것이라 판단된다. 님나무는 종 내 변이가 매우 심하여 아종 또는 변종 등 종하 분류계급에서 분리 필요성을 제기하는 경우가 있고(Levings, 2006), *M. floribunda*를 본 종에 통합하는 견해도 제시된 바 있다(Ohashi, 2001). 그런데 국내에서도 솔비나무를 *M. floribunda* (Miq.) Takeda로 인용하면서 혼란을 야기하는 경우가 있으나(Lee, 1996), 이는 솔비나무와는 다른 일본의 규슈 남부지방에 분포하는 또 다른 종이다. 솔비나무는 U. Fauriei가 1907년 8월 제주도 한라산에서 채집한 표본(U. Fauriei no. 1692)을 근거로 1909년 H. Lév.가 *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis* 7권에 *Cladrastis fauriei* H. Lév.로 발표한 제주 고유종이며, *Maackia floribunda* (Miq.) Takeda는 Miquel이 1867년 *Annales Museum Botanicum Lugduno-Batavi* 3권에 *Buergeria floribunda* Miq.로 발표한 별 개의 종이다. 이 두 종에 대해서 1913년 Takeda가 *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 8권 37호에 *Maackia*속으로 통합하면서 각각 학명이 변경된 것이다(Takeda, 1913; Levings, 2006).

솔비나무와 *M. floribunda*의 형태학적 차이로서 Levings (2006)는 솔비나무가 소엽이 무모이고 13-15매이며, 동아의 가장 바깥 인편이 무모인데 비하여 *M. floribunda*는 소엽이 털이 있고 9-15매이며 동아의 가장 바깥 인편에 황색의 털이 있는 점에서 다르며, 화기형질로서는 솔비나무가 꽃의 길이가 10 mm 이상이고, 소포엽(Bracteole)이 털이 없거나 황색 털이 있으며 삼각상 난형이고 점첨두인데 비하여 *M. floribunda*는 꽃의 길이는 7-8 mm이고 소포엽에 황색의 털이 있으며 삼각상 난형이고 첨두이다. 또한 님나무는 소엽이 무모이고 (7-)9(-11)매이며 동아의 가장 바깥 인편 무모이고, 꽃은 길이 8 mm 이상이고 소포엽은 무모이면서 삼각상 난형이고 예두라는 점이 다르다고 한 바 있다. 이와 같이 형태학적 차이가 있음에도 두 종을 같은

분류군으로 인식하는 경우가 많은 실정이다. 그러므로 *Maackia*속에 대한 형태학적 연구는 물론이고 분류학적 측면에서 비교할 수 있는 세포학적 연구가 필요하다고 판단되었다.

## 사 사

이 논문은 2008년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2008-C00027).

## 인용문헌

- Boufford, D. E., H. Ohashi, T. C. Huang, C. F. Shieh, J. L. Tsai, K. C. Yang, C. I. Peng, C. S. Kuoh and A. Hsiao. 2003. *In Flora of Taiwan* (6). Editorial Committee of the Flora of Taiwan (2nd ed.). National Taiwan Univ. Taiwan. Pp. 15-139.
- Castilho, A. and J. S. Heslop-Harrison. 1995. Physical mapping of 5S and 18S-25S rDNA and repetitive DNA sequences in *Aegilops umbellulata*. *Genome* 38: 91-96.
- Choi, B. H. 2007. Fabaceae Lindl. *In The Genera of Vascular Plants of Korea*. Editorial Committee of the Flora of Korea. Academy Publishing Co. Seoul. Pp. 585-622.
- Fukui, K., N. Ohmido and G. S. Khush. 1994. Variability in rDNA loci in the genus *Oryza* detected through fluorescence *in situ* hybridization. *Theor. Appl. Genet.* 87: 893-899.
- Goldblatt, P. 1981. Chromosome Numbers in Legumes II. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 551-557.
- Goldblatt P. and G. Davides. 1977. Chromosome Numbers in Legumes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64: 121-128.
- Kim, S. Y., H. W. Choi, D. H. Koo, C. S. Kim and J. W. Bang. 2005. Karyotype analysis and physical mapping of rDNAs using McFISH in *Jeffersonia dubia* Benth. *Korean J. Med. Crop Sci.* 13: 48-51.
- Kim, S. Y., H. W. Choi and J. W. Bang. 2004. Physical mapping of rDNAs using McFISH in *Anemarrhena asphodeloides* Bunge. *Korean J. Med. Crop Sci.* 12: 515-518.
- Kim, S. Y., H. W. Choi, D. H. Koo, W. K. Lee, J. K. Lee and J. W. Bang. 2006a. Characterization of eight *Rumex* species by FISH (fluorescence *in situ* hybridization) and 5S rDNA spacer sequences. *Korean J. Genetics* 28: 243-251.
- Kim, S. Y., H. W. Choi, C. S. Kim, J. S. Sung, J. K. Lee and J. W. Bang. 2006b. Cytogenetic analysis of *Astragalus* species. *Korean J. Med. Crop Sci.* 14: 250-254.
- Kim, S. Y., J. W. Bang and J. K. Lee. 2006c. Cytogenetic analysis using mitosis, meiosis chromosomes and bicolor fluorescence *in situ* hybridization of *Bupleurum latissimum* Nakai. *Korean J. Med. Crop Sci.* 14: 354-359.

- Kolbek, J., M. Srutek and E. Box. 2003. Forest Vegetation of Northeast Asia. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Koo, D. H., S. Y. Kim, K. W. Bang, N. S. Seong and J. W. Bang. 2003. Cytogenetic analysis of *Angelica* plants using Feulgen staining and multicolor fluorescence *in situ* hybridization. Korean J. Plant Biotechnology 30: 123-127.
- Lee, J. K. and S. Y. Kim. 2007. Chromosome Index of Plants in Korea 2007. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology.
- Lee, J. K. and S. Y. Kim. 2008. Chromosomes of Endemic Plants in Korea 2008. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology.
- Lee, T. B. 2003. Colored Flora of Korea (I). Hyangmunsa, Seoul (in Korean).
- Lee, W. T. 1996a. Lineamenta Florae Koreae. Academy Publishing Co. Seoul (in Korean).
- Lee, W. T. 1996b. Standard Illustration of Korean Plants. Academy Publishing Co. Seoul (in Korean).
- Lee, W. K., H. W. Choi, D. H. Koo, S. Y. Kim and J. W. Bang. 2005. Molecular cytogenetics of five *Pulsatilla* species to the 5S, 45S rDNA genes by fluorescence *in situ* hybridization. Korean J. Genetics 27: 179-185.
- Leitch, I. J. and J. S. Heslop-Harrison. 1992. Physical mapping of the 18S-5.8S-26S rDNA genes in barley by *in situ* hybridization. Genome 35: 1013-1018.
- Levan, A., K. Frekga and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position in chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Levings, C. K. 2006. A Monograph of the Genus *Maackia*. Master dissertation of Miami Univ.
- Li, P., L. Fu and T. Hong. 1998. Higher Plants of China. Qingdao Publishing House.
- Maluszynska, J. and J. S. Heslop-Harrison. 1991. Localization of tandemly repeated DNA sequences in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 1: 159-166.
- Maluszynska, J. and J. S. Heslop-Harrison. 1993. Physical mapping of rDNA in *Braddica* species. Genome 36: 774-781.
- Tropicos.org. 2009. Missouri Botanical Garden, <<http://www.tropicos.org>>.
- Mukai, Y., T. R. Endo and B. S. Gell. 1991. Physical mapping of the 18S rRNA multigene family in common wheat: identification of a new locus. Chromosoma 100: 71-78.
- Ohashi, H. 2001. *Maackia* Rupr. & Maxim. In Flora of Japan (IIb): Angiospermae; Dicotyledoniae; Archichlamideae (b). Iwatsuki, K., D.E. Boufford & H. Ohba. (Eds.). Kodansha Ltd., Tokyo. Pp. 221-222.
- Probatova N. S. and A. P. Sokolovskaya. 1981. Kariogicheskoe issledovanie sosudistykh rastenij ostrovov Dal'nevostochnogo gosudarstvennogo morskogo sapovednika. Sb. Cvetkaye Rastenija Ostrovov Dalnevostochnogo Morskogo Sapovendnika. Pp. 92-114.
- Ruprecht, F. J. and C. J. Maximowicz. 1856. *Maackia*. Bull. Cl. Phys.-Math. Acad. Imp. Sci. Saint-Petersbourg 15: 128-143.
- Takeda, H. 1913. *Maackia*. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh. 8: 101.
- Volkova, S. A., D. D. Basargin and P. G. Gorovoy. 1994. Chromosome numbers in representatives of some families of the flora of Russian Far East. Botaničesij Žurnal (Moscow & Leningrad) 79: 122-123.
- Yeh, M. S., H. Yuasa and F. Maekawa. 1986. Chromosome numbers in the Leguminosae. Sci. Rep. Res. Inst. Evol. Biol. 3: 57-71.