ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science 2017 Vol. 27. No. 1. 89~94 DOI : https://doi.org/10.5352/JLS.2017.27.1.89

- Note -

Genetic Relationship of the *Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla* and *Vitis thunbergii* var. *sinuata* with the Other *Vitis* Plants

Young-Min Bae*

Department of Life Science and Public Health, Changwon University, Changwon, Kyungnam 51140, Korea

Received October 21, 2016 /Revised January 13, 2017 /Accepted January 18, 2017

DNA sequences of the intergenic spacer 1 and intergenic spacer 2 of the nineteen plants belonging *Vitis* genus were collected from the Genbank. DNA sequences of the same regions of *Vitis thunbergii* var. *sinuata* and *Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*, both common plants in Korea, were not available in Genbank. Those two plants were collected, their genomic DNA encoding 18S rRNA, intergenic spacer 1, 5.8S rRNA, intergenic spacer 2 and part of 28S rRNA amplified and DNA sequence determined. DNA sequences of twenty-one plants including two Korean plants were aligned by the Multiple sequence comparison by log-expectation(MUSCLE) algorithm and the alignment was used to calculate neighbor-joining tree and pairwise distance. The results indicate DNA sequences of the two Korean plants are highly homologous with each other, but they are quite distantly related to the other *Vitis* plants. Distant relationship of the two Korean plants with the other *Vitis* plants might be due to independent evolution of those two plants in geographically isolated environment. Those two Korean plants are classified in different genera based on the morphology, one in *Vitis* genus and the other in *Ampelopsis* genus, providing another example of discrepancy between morphological and genetic classification.

Key words : *Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*, intergenic spacer 1, intergenic spacer 2, *Vitis* genus, *Vitis thunbergii* var. *sinuata*

서 론

포도는 전세계적으로 널리 재배되는 과일로서 인체에 유익한 polyphenol 성분을 많이 함유하고 있다. 포도에 함유되어 있는 polyphenol 성분 중에서도 anthocyanin 및 3,5,4′-trihydroxystilbene (*trans*-resveratrol)이 인체에 유용한 성분으로 알려져 있는데, 이러한 성분들은 포도뿐만 아니라 대부분의 포도과(Vitaceae) 식물들이 생성하는 것으로 알려져 있다[8, 9]. Christenhusz 및 Byng에 의하면 갈매나무목(Rhamnales) 포도과(Vitaceae)에는 2016년 현재 14개의 속(genus) 및 910여 종(species)의 식물이 보고되어 있다[4]. 이러한 14개의 속 중 경제적으로 가장 중요한 것은 포도속(*Vitis*)인데, 그 중에서 당도가 높고 맛이 좋아서 가장 널리 재배되고 있는 유럽종 포도(*Vitis vinifera*)는 원래 서부 아시아인 코카서스 및 카스피해 연안이 원산지인 것으로 알려져 있다[13]. 그러나 이러한 유럽종 포도는 우리나라에서는 기후가 맞지 않아서 재배가 되지 않는다. 포도과의 다른 식물들 중에서 우리나라에 자생하고 있는 식물들로는 거지덩굴(*Cayratia japonica*), 왕머루(*Vitis amurensis*), 까마귀머루(*Vitis thunbergii* var. *sinuata*), 새머루(*Vitis flexuosa*), 개머루(*Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*), 가회톱(*Ampelopsis japonica*), 담쟁이덩굴(*Parthenocissus tricuspidata*)의 6종이 알려져 있으며, 북아메리카가 원산지로서 우리나라에 도입된 미국담쟁이덩굴(*Parthenocissus quinquefolia*)도 현재 국내에서 자주 볼 수 있다[10, 13].

본 연구에서는 포도과 포도속 식물들 19종의 intergenic spacer 1 (ITS1) 및 ITS2의 염기서열을 Genbank에서 수집하였다. 그러나 국내에서 흔하게 발견되는 포도과 포도속 식물인 까마귀머루(*Vitis thunbergii* var. *sinuata*)와 포도과 개머루속 식물인 개머루(*Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*)의 염기서열은 발견할 수 없었다. 따라서 까마귀머루와 개머루를 채집하고 그 genomic DNA를 분리하여서 18S rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2 및 28S rDNA의 일부를 증폭하고, 그 염기서열을 분석하였다. 이렇게 얻어진 염기서열을 다른 포도속 식물들의 염기서열과 MUSCLE (Multiple sequence comparison by log-expectation) algorithm으로 서로 비교하여 neighbor-joining tree 및 pairwise distance (p-distance)를 계산해 보았다[6, 15, 16].

재료 및 방법

시료의 수집 및 처리

***Corresponding author**
Tel : +82-55-213-3483, Fax : +82-55-213-3480
E-mail : yominbae@changwon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

포도과 식물 중에서 우리나라의 산야에서 흔하게 발견되는 개머루와 까마귀머루는 경상남도 창원시 의창구 사림동 9번지 소재 창원대학교 교내에서 채취하였다. 채취된 식물의 동정은 원색대한식물도감 검색표를 참고하여 수행되었다[10]. 채취된 식물의 잎은 그늘에서 건조하였다.

Genomic DNA의 분리 및 유전자 증폭

Genomic DNA는 NucleoSpin Plant Ⅱ Kit (Cat. No. 740770, Macherey-Nagel Inc., Bethlehem, PA, USA)를 사용하여 건조된 잎으로부터 추출되었다. Polymerase chain reaction (PCR)을 위해서는 DNA template 200ng, forward primer 2.5 pmol, reverse primer 2.5 pmol, dNTPs mixture 2 μl (10 nM each) 그리고 *Pfu* DNA polymerase 2 μl (6 U)를 포함하는 100 μl의 반응액에서 반응을 진행하였다. *Pfu* DNA polymerase 및 dNTP mixture는 Promega Corp. (Cat. No. M7741 and U1515, Madison, WI, USA)의 제품을 사용하였다. PCR에는 forward primer 5′-TTTAGATCTGGTTGATCCTGCCAGT-3′ 및 reverse primer 5′-TTTCTCGAGTTACTAAGGGAATCCTTGT-3′가 사용되었다. 이때에 사용된 forward primer는 18S rDNA 5′-말단의 conserved region을 target으로 하여 제조되었고, reverse primer는 28S rDNA 5′ 부위를 target으로 하여 제조하였다. 반응조건은 94℃에서 2분간 한 cycle, 그리고 94℃에서 45초, 57℃에서 45초, 72℃에서 5분씩 30 cycle을 진행시킨 후, 최종적으로 72℃에서 10분간 유지시켰다. PCR에는 error가 적게 발생하는 *Pfu* DNA polymerase를 사용함으로써 반응 중에 DNA의 염기서열이 변경되는 것을 최소화하였다.

유전자 증폭 산물의 cloning 및 염기서열 분석

PCR products는 agarose gel electrophoresis로 확인한 후, Gel and PCR purification system (Cat. No. A9282, Promega Corp., Madison, WI, USA)을 사용하여 정제 하였다. 정제된 DNA는 제한효소 *Sma I*으로 절단하고 bacterial alkaline phosphatase로 처리된 pBluscript Ⅱ SK- plasmid와 섞어서 ligation 시키고, *E. coli* DH5α에 transformation 하였다. Transformation된 *E. coli* 세포들을 100 μg/ml의 ampicillin을 함유하는 MacConkey agar (Cat. No. 212123, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 도말하고 37℃에서 배양하였다. 나타난 colony들 중에서 흰색 colony들을 selection하여서 이들로부터 plasmid DNA를 추출한 후에, supercoiled plasmid DNA 및 제한효소 *Pvu*Ⅱ로 절단된 plasmid DNA를 agarose gel electrophoresis로 분석하였다. 예상되는 크기의 plasmid가 확인되면 (주)솔젠트(Daejeon, Korea)에 의뢰 하여 insert DNA들의 염기서열을 분석하였다. DNA sequencing은 BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit를 사용하여 ABI 3730XL DNA analyzer로 분석하였다.

염기서열의 비교 및 유연관계 분석

채취된 식물들의 18S rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2 및 28S rDNA의 일부를 포함하는 DNA의 염기서열을 밝히고, BLAST를 사용해서 개머루와 까마귀머루의 ITS1 및 ITS2와 유사한 염기서열들을 Genbank에서 탐색하였다. 수집된 염기서열은 MUSCLE 3.8을 사용하여 서로 align하고 MEGA6.0을 사용하여 neighbor-joining tree 및 p-distance를 계산해 보았다[6, 15, 16].

결 과

연구 대상 식물

개머루와 까마귀머루의 ITS1 및 ITS2와 유사한 염기서열들을 Genbank에서 탐색한 결과, 포도속 식물들 19종의 ITS1 및 ITS2의 염기서열이 수집되었다(Table 1). 그러나 국내에서 흔하게 발견되는 까마귀머루와 개머루의 염기서열은 발견할 수 없었다. 따라서 국내에 자생하는 개머루와 까마귀머루의 genomic DNA를 분리하여서 18S rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2 및 28S rDNA의 일부를 증폭하고, 얻어진 PCR 산물의 염기서열을 분석하였다. 그 결과, 개머루에서 2,588-bp 그리고 까마귀머루에서 2,589-bp의 염기서열이 확인되었다. 그리고 개머루와 까마귀머루의 DNA 염기서열을 ClustalW 2.1로 비교한 결

Table 1. Accession numbers and sources of the DNA sequences used in this study

Species	Accession number or source
Ampelopsis brevipedunculata var. *heterophylla*	This study
Vitis thunbergii var. *sinuata*	This study
Vitis vinifera	ITS1 AF365988 ITS2 KF454243, 18S rDNA GQ849399
Vitis aestivalis	KT344629
Vitis amurensis	KT344630
Vitis arizonica	KT344631
Vitis betulifolia	KT344633
Vitis chunganensis	KT344634
Vitis cinerea	KT344637
Vitis flexuosa	KT344643
Vitis heyneana	KT344647
Vitis labrusca	KT344648
Vitis lanata	KT344649
Vitis latifolia	KT344651
Vitis luochengensis	KT344652
Vitis menghaiensis	KT344653
Vitis piasezkii	KT344654
Vitis pseudoreticulata	KT344656
Vitis riparia	KT344658
Vitis tiliifolia	KT344660
Vitis vulpina	KT344661

A	*A. brevipedunculata*	ACCGG
	V. thunbergii	ACCGG
	V. vinifera	ACTGG
B	*A. brevipedunculata*	CTTTTGG
	V. thunbergii	CTTTTGG
	V. vinifera	CTCGCGG
C	*A. brevipedunculata*	TATAT
	V. thunbergii	TATAT
	V. vinifera	TACAT

Fig. 1. Alignment of the 18S rDNA sequences of *A. pedunculata* var. *heterophylla*, *V. thunbergii* var. *sinuata* and *Vitis vinifera*. Only part of the alignment is shown. The first positions of the *V. vinifera* DNA is 198 in A, 373 in B and 553 in C of the *V. vinifera* 18S rDNA(accession number GQ849399).

과[3], 18S rDNA 1,806-bp 중에서 오직 한 염기에서만 차이가 관찰되었고, ITS1에서는 두 부분에서 각각 1개씩 서로 다른 염기서열이 발견되었고, 한 부분에서는 한 염기에 해당하는 gap이 발견되었다. 또한 ITS2에서는 두 부분에서 각각 하나씩 서로 다른 염기서열이 발견되었다(data not shown).

18S rDNA 염기서열의 비교 및 분석

개머루와 까마귀머루의 18S rDNA 염기서열을 Genbank에서 수집한 유럽종 포도의 18S rDNA 염기서열과 ClustalW 2.1로 align하였다[3]. 포도의 18S rDNA 염기서열(accession number GQ849399)은 오직 844-bp에 불과하기 때문에 개머루와 까마귀머루의 염기서열 중에서 포도의 염기서열과 중복되는 부분만을 alignment에 사용하였다. 그 결과, Fig. 1에 나타났듯이 포도의 염기서열이 다른 두 한국산 식물들과 전체적으로 세 부분에서 다섯 개의 염기가 다른 것으로 나타났다. 즉, 두 곳에서는 각각 하나의 염기, 그리고 한 곳에서는 연속되는 세 개의 염기에서 차이가 발견되었다(Fig. 1). Vd'acny에 의하면 섬모충류의 경우에 1년에 18S rDNA의 염기가 하나 바뀔 확률을 $1.25\text{-}1.40\times10^{-8}$로 계산하였다[17]. 즉, 염기 하나의 차이가 발생하기 위해서 72-80 million years의 시간이 소요되고, 개머루나 까마귀머루는 포도와 18S rDNA에서 6개의 염기가 다르므로 432-480 million years 전에 개머루나 까마귀머루는 포도와 분리되어 진화했다고 볼 수 있다(Fig. 1).

ITS 염기서열의 비교 및 분석

포도과 21종 식물들의 ITS1과 ITS2 염기서열을 ClustalW 2.1로 align하였으나 유의한 결과를 얻지 못했으므로 MUSCLE 3.8로 align하였다[3, 6]. 그 결과에서 개머루와 까마귀머루의 염기서열들은 서로 높은 상동성을 나타냈으나 나머지 식물들과는 많은 차이를 보였다. 이러한 결과는 MUSCLE 3.8로 얻어진 alignment를 가지고 계산한 neighbor-joining tree 및 p-distance에서 좀 더 명확하게 나타난다(Fig. 2, Table 2). 즉, Fig. 2에 나타나 있듯이 개머루와 까마귀머루는 ITS1 또는 ITS2로 계산한 결과에서 항상 서로 같은 group을 형성하고 있으며 다른 포도속 식물들과는 확연하게 구분되는 것을 알 수 있다(Fig. 2). 또한 다른 식물들의 염기서열을 포도의 염기서열과 서로 1:1로 비교한 결과인 p-distance를 보더라도 개머루와 까마귀머루를 제외한 다른 식물들은 가장 먼 경우에도 ITS1에서

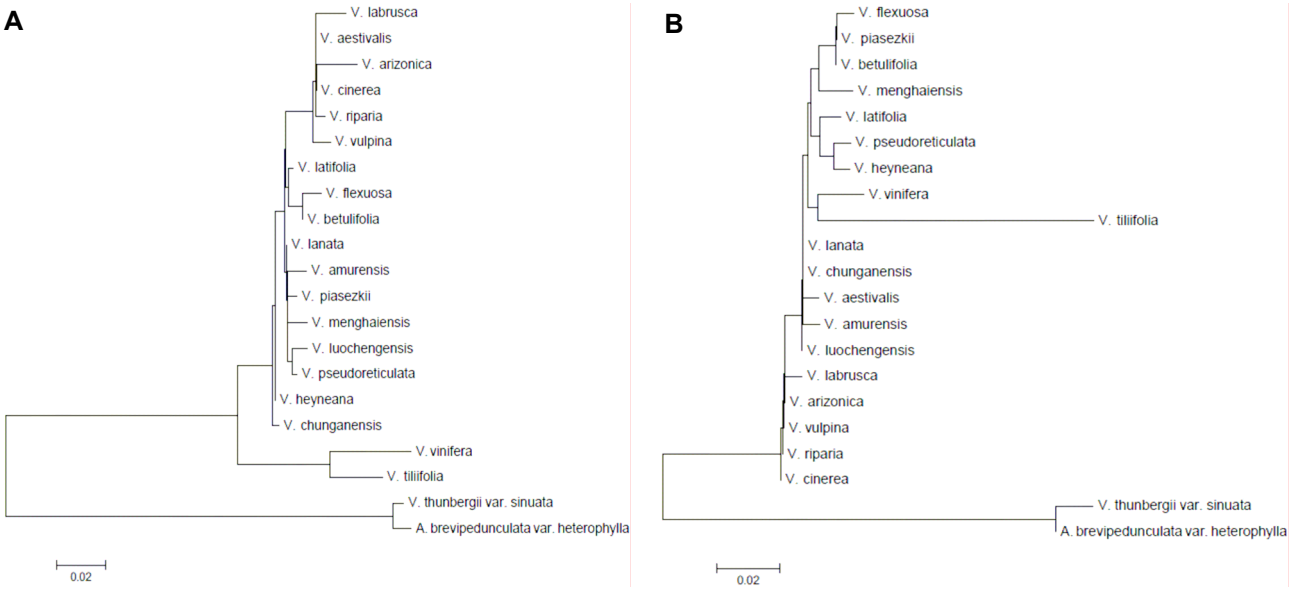

Fig. 2. Neighbor-joining trees of *Vitis* and *Ampelopsis* plants. A, Trees constructed based on ITS1 sequences. B, Trees constructed based on ITS2 sequences.

Table 2. Pairwise distance of ITS1 and ITS2

Species	ITS1	ITS2
Vitis vinifera	-	-
Vitis tiliifolia	0.055	0.102
Vitis heyneana	0.088	0.027
Vitis chunganensis	0.093	0.021
Vitis lanata	0.093	0.021
Vitis amurensis	0.093	0.027
Vitis latifolia	0.097	0.032
Vitis betulifolia	0.098	0.022
Vitis piasezkii	0.098	0.022
Vitis pseudoreticulata	0.098	0.027
Vitis aestivalis	0.102	0.027
Vitis cinerea	0.102	0.027
Vitis vulpina	0.102	0.027
Vitis luochengensis	0.103	0.021
Vitis menghaiensis	0.103	0.027
Vitis flexuosa	0.107	0.027
Vitis riparia	0.107	0.027
Vitis labrusca	0.118	0.033
Vitis arizonica	0.124	0.027
Vitis thunbergii var. *sinuana*	0.328	0.193
Ampelopsis brevipedunculata var. *heterophylla*	0.33	0.18

0.124, 그리고 ITS2에서 0.27인 반면에 개머루와 까마귀머루는 ITS1에서 각각 0.33과 0.328로 나타나고 ITS2에서도 각각 0.18과 0.193으로 나타난다(Table 2). Austrailia 남서부 지역에서 채집된 모기를 분석한 결과를 보면 같은 종끼리는 p-distance가 0.008에서 0.076의 범위이고, 같은 속끼리는 0.055에서 0.169의 범위를 보이고 있다[2]. 이러한 자료와 비교해 보면 한국산 개머루와 까마귀머루는 다른 포도속 식물들과는 같은 속으로 분류되기에는 무리가 있음을 알 수 있다. 이것은 이 두 한국산 식물들이 다른 포도속 식물들과 지리적으로 격리된 환경에서 오랜 시간 동안 독립적으로 진화해 온 결과가 아닌가 하고 생각된다.

고 찰

우리나라의 산야에서 흔하게 발견되는 개머루와 까마귀머루를 포함한 포도과 식물들의 ITS1 및 ITS2의 염기서열을 비교한 결과, 한국산 개머루와 까마귀머루 서로 간에는 높은 상동성을 보이지만 다른 포도속 식물들과는 너무나 큰 차이를 보이고 있다. 대한식물도감 검색표에 의하면 포도과 식물 중에서 줄기의 골 속은 갈색이며 피목이 없고, 세로로 갈라지며 꽃은 원추화서에 달리면 포도속으로 분류되고, 줄기의 골 속은 희고 피목이 있으며 벗겨지지 않고 꽃은 취산화서에 달리며, 술잔처럼 생긴 화반은 씨방을 둘러싸고 덩굴손은 흡반 같지 않으면 개머루속으로 분류된다[10]. 그러나 까마귀머루의 경우에는 이렇게 형태를 기준으로 분류할 경우에는 분명히 포도속으로 분류되지만 본 연구에서와 같이 유전적으로 분류할 때에는 다른 포도속 식물들 보다는 개머루속 개머루와 훨씬 더 가깝게 나타난다. 전통적으로 동물이나 식물들을 분류할 때에 우선적으로 사용되는 기준이 형태인데 최근에 형태에 의한 분류와 유전적 분류간의 큰 차이가 발견되어서 재분류 중인 경우가 많다[1, 11]. 따라서 본 연구에서도 형태를 기준으로 하는 기존의 분류체계와 DNA의 염기서열을 기준으로 하는 유전적 분류체계 간의 괴리를 다시 한 번 확인할 수 있었다.

개머루와 까마귀머루는 동아시아 지역에서는 질병의 치료 목적으로 옛날부터 사용되어 오고 있는데, 개머루의 뿌리는 우리나라에서 간질환의 치료에 오래 전부터 사용되어 왔으며 최근에는 병원성 세균의 증식을 억제하는 효과도 보고되었다[5, 14]. 까마귀머루의 뿌리는 우리나라에서는 감기, 신경통 및 류마티스의 치료용으로 사용되어 왔으며, 대만에서는 전통적으로 설사, 골절 및 뼈의 부상, 황달 및 간염의 치료용으로 사용하여 왔다[8, 12]. 그러므로 우리나라에서 흔하게 볼 수 있는 개머루와 까마귀머루의 여러 가지 대사물질 및 그러한 물질들의 생합성에 관련되는 유전자들에 대한 추가적인 연구가 유용할 것이라고 본다.

포도는 오랜 옛날부터 인류가 재배해 오고 있고 현재에도 전세계의 여러 지역에서 많이 재배되고 있는 중요한 작물이다. 그러나 현재 발효용 또는 건조용으로 사용되는 유럽종 포도(*Vitis vinifera*)는 원래 우리나라에 자생하던 식물이 아니며 이것을 도입해 와도 기후가 맞지 않아서 재배가 되지 않는다[13]. 현재 우리나라에서 재배가 되고 있는 거봉이나 캠벨얼리 같은 품종들은 척박한 환경에서 자라는 미국종 포도와의 교배를 통해서 만들어진 품종들이기 때문에 우리나라에서 재배는 가능하나 품질이 많이 떨어지기 때문에 그 용도가 극히 제한적이다[13]. 우리나라의 자생식물인 개머루와 까마귀머루는 오랜 시간에 걸쳐서 우리나라의 기후에 완벽하게 적응한 포도과 식물이므로 이러한 식물들의 특성을 유럽종 포도에 도입시키는 시도를 통해서 우리나라에서도 재배가 가능한 우수한 신품종 포도를 개발할 수 있을 것이다. 포도속 식물들은 염색체 수에 따라서 2n=40인 *Muscadinia* 아속과 2n=38인 *Euvitis* 아속으로 나뉘는데, 유럽종 포도, 북아메리카 원산인 북미종 포도 그리고 동아시아 지역에 분포하는 왕머루(*Vitis amurensis*)는 모두 *Euvitis* 아속에 속하므로 서로 교배가 가능할 수 있다[13]. 현재 개머루와 까마귀머루의 염색체 수에 대해서는 알려진 것이 없는데, 만일 이 두 식물들도 2n=38이면 유럽종 포도와의 교배 또는 원형질체 융합(protoplast fusion)이 가능할 것이고, 그렇지 않다면 우리나라의 기후에서 살아가는데 필요한 유전자들에 대한 연구를 통해서 유전자 도입도 시도해 볼 수 있을 것이다. 최근에 next generation sequencing (NGS) 기술을 사용하여 포도속 식물들의 transcriptome 분석을 수행한 결과들이 보고되고 있으므로 머지않아 유전자 도입을 통한 포도의 품종 개량도 가능할 수 있다[7, 18].

감사의 글

본 연구는 창원대학교 학술연구조성비(2015)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Bae, Y. M. 2011. Phylogenetic analysis of the former members of Scrophulariaceae. *J. Life Sci.* **21**, 273-278.
2. Batovska, J., Blaket, M. J., Brown, K. and Lynch, S. E. 2016. Molecular identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southeastern Austrailia. *Ecol. Evol.* **6**, 3001-3011.
3. Chenna, R., Sugawara, H., Koike, T., Lopez, R., Gibson, T. J., Higgins, D. G. and Thompson, J. D. 2003. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Res.* **31**, 3497-3500.
4. Christenhusz, M. J. M. and Byng, J. W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa* **261**, 201-217
5. Choi, M. Y. and Rhim, T. J. 2010. Antimicrobial effect of *Ampelopsis brevipedunculata* extracts on food spoilage or foodborne disease microorganism. *Kor. J. Plant Res.* **23**, 430-435.
6. Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* **32**, 1792-1797.
7. Fung, R. W., Gonzalo, M., Fekete, C., Kovacs, L. G., He, Y., Marsh, E., McIntyre, L. M., Schachtman, D. P. and Qiu, W. 2008. Powdery mildew induces defense-oriented reprogramming of the transcriptome in a susceptible but not in a resistant grapevine. *Plant Physiol.* **146**, 236-249.
8. Huang, Y. L., Tsai, W. J., Shen, C. C. and Chen, C. C. 2005. Resveratrol derivatives from the roots of *Vitis thunbergii*. *J. Nat. Prod.* **68**, 217-220.
9. Jeandet, P., Douillet-Breuil, A. C., Bessis, R., Debord, S., Sbaghi, M. and Adrian, M. 2002. Phytoalexins from the Vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 2731-41.
10. Lee, T. B. 2006. *Coloured flora of Korea*, pp. 722-723, 2nd ed., Hyangmunsa, Seoul, Korea.
11. Lim, K. C., Lim, P. E., Chong, V. C. and Loh, K. H. 2015. Molecular and morphological analyses reveal phylogenetic relationships of stingrays focusing on the family Dasyatidae (Myliobatiformes). *PLoS One* **10**, e0120518.
12. Park, J. H., Kim, J. S., Jeong, A. Y. and Lee, J. D. 1996. Phytochemical study on the *Vitis thunbergii* var. *sinuata*. *Kor. J. Plant Res.* **9**, 55-62.
13. Park, Y. S., Kim, I. J. and Choi, J. Y. 2005. *Research on Meoru: highly profitable crop*, pp. 29-80. Rural Development Administration: Jeonju, Jeonrabukdo, Korea.
14. Rhim, T. J. and Choi, M. Y. 2010. The antioxidative effects of *Ampelopsis brevipedunculata* extracts. *Kor. J. Plant Res.* **23**, 445-450.
15. Tamura, K., Nei, M. and Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 11030-11035.
16. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 2725-2729.
17. Vd'acny, P. 2015. Estimation of divergence times in litostomatean ciliates (Ciliophora: Intramacronucleata), using Bayesian relaxed clock and 18S rRNA gene. *Eur. J. Protistol.* **51**, 321-334.
18. Wu, J., Zhang, Y., Zhang, H., Huang, H., Folta, K. M. and Lu, J. 2010. Whole genome wide expression profiles of *Vitis amurensis* grape responding to downy mildew by using Solexa sequencing technology. *BMC Plant Biol.* **10**, 234.

초록 : 개머루와 까마귀머루의 유전적 유연관계 분석

배영민*
(창원대학교 생명보건학부)

포도과(Vitaceae) 포도속(*Vitis*) 식물들 19종의 intergenic spacer 1 및 intergenic spacer 2의 염기서열을 Genbank에서 수집하였다. 그러나 국내에서 흔하게 발견되는 포도과 포도속 식물인 까마귀머루(*Vitis thunbergii* var. *sinuata*)와 포도과 개머루속 식물인 개머루(*Ampelopsis brevipedunculata* var. *heterophylla*)의 염기서열은 Genbank에서 발견할 수 없었다. 따라서 개머루와 까마귀머루를 채집하고 genomic DNA를 분리하여서 18S rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2 및 28S rDNA의 일부를 증폭하고, 그 염기서열을 분석하였다. 이렇게 얻어진 염기서열을 다른 포도속 식물들의 염기서열과 MUSCLE (Multiple sequence comparison by log-expectation) algorithm으로 서로 비교하여 neighbor-joining tree 및 pairwise distance (p-distance)를 계산해 보았다. 그 결과 국내 자생종인 개머루와 까마귀머루는 서로 간에는 높은 상동성을 보이지만 외국의 포도속 식물들과는 유전적 상관관계가 상당히 멀다는 것을 발견할 수 있었다. 이것은 아마도 우리나라 자생종들의 경우에 오랜 시간 동안 외국의 포도속 식물들과 지리적으로 격리된 상태에서 독립적으로 진화한 결과가 아닌가 생각된다. 또한 개머루와 까마귀머루의 염기서열의 상동성이 높은 데에도 불구하고, 형태를 기준으로 하는 기존의 분류체계에 따라서 개머루는 개머루속으로 까마귀머루는 포도속으로 분류가 되고 있다. 형태를 기준으로 하는 기존의 분류체계와 염기서열을 기준으로 하는 유전적 분류체계간의 괴리를 본 연구에서 다시 한 번 확인할 수 있었다.