
碩士學位論文

濟州島産 새우난초屬의 分類學的研究

濟州大學校 大學院

生物學科

金 奉 燦

1989年 12月

濟州島産 새우난초屬의 分類學的研究

指導教授 金 文 洪

金 奉 燦

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

1989年 12月

金奉燦의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長

吳 文 儒



委

員

이 容 필



委

員

金 文 洪



濟州大學校 大學院

1989年 12月

A TAXONOMIC STUDY ON GENUS CALANTHE
IN CHE JU ISLAND

Bong—Chan Kim
(Supervised by Professor Moon—Hong Kim)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF NATURAL SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHE JU NATIONAL UNIVERSITY

1989.

目 次

Summary	-----	2
I . 緒 論	-----	3
II . 材 料 及 方 法	-----	5
III . 結 果	-----	9
IV . 考 察	-----	20
V . 摘 要	-----	24
參 考 文 獻	-----	25

Summary

The present study was performed to reexamine the interspecific relationships among 5 species (C. discolor, C. coreana, C. sieboldii, C. bicolor, C. replexa) in the genus Calanthe in Cheju Island.

The external morphology, the patterns of 5 isozymes and total proteins in 5 species were compared each other.

Judging from the external morphology, we suggested that the size of leaf, the size and color of petal, lip, sepal were useful to identify each species in Calanthe.

The patterns of isozyme and total proteins in 5 species were very similar to the results obtained by the analysis of external morphology.

Thus, our results were summarised as follows:

1. The taxonomic distance among species of the genus Calanthe indicated that C. replexa was the farthest related.
2. It needs taxonomic reexamination regard to C. coreana because of C. coreana was very similar to C. discolor.
3. C. bicolor was putatively hybridized between C. discolor and C. sieboldii.

I. 考證 討論

Calanthe (새우난초) 屬 植物은 韓國을 비롯하여 西南아시아, 中國의 南部, 東南아시아, 오스트리아, 아프리카의 마라가스칼, 中央아메리카 등 暖帶, 熱帶에 約 200 여種이 分布하고 있다 (三枝, 1981).

韓國產 Calanthe屬에 대해서는 Nakai (1911) 는 C. puberula Lindl., C. coreana Nak., C. sieboldii Decais. 등을 처음 報告하였고, 朴 (1949) 이 C. coreana Nak., C. discolor Lindl., C. replexa Max., C. striata R. Br. for. sieboldii Ohwi 등을 對象으로 주로 分布地에 관하여 報告 하였으며 金 (1981) 이 C. discolor Lindl., C. striata for. sieboldii Ohwi, C. bicolor Lindl., C. coreana Nak., C. replexa Max. 등 5種을 對象으로 染色体, 外部形態, 氣孔, 表皮細胞 등에 관하여 報告하였다. Nakai (1911) 는 濟州島에 C. puberula가 自生한다고 하였는데 龔 (1983) 은 C. puberula가 주로 中國에 分布하고 C. replexa와는 盾瓣 中央裂片의 크기가 다르다고 報告하였다. 朴 (1949) 과 金 (1981) 은 C. puberula에 대한 言及이 없었고 C. replexa 만을 記錄하였다. 또한 長野 (1975) 는 日本產 Calanthe屬에 관한 연구에서 C. bicolor 는 C. discolor와 C. sieboldii 의 交雜種으로 報告한 바 있으나 金 (1981) 은 韓國產 Calanthe屬에 관한 研究에서 C. bicolor 는 잎의 크기와 꽃의 크기 및 색에 있어서 C. discolor와 類似하다고 報告하였다. 이처럼 Calanthe屬의 主要 識別形質이 되는 꽃의 크기 및 색 등이 變異가 심하고 중간 交雜이 많아 同定하는데 混同을 빚고 있다.

韓國에 分布하는 Calanthe屬은 C. discolor가 紅島, 안면島, 濟州島 등에 自生한다고 報告 되어있고 (李, 1968; 金, 1985) C. sieboldii 는 鬱陵島, 完島, 濟州島 등에 分布한다고 (森為三, 1941; 李, 1985; 金, 19

85) 하였으나 C. coreana, C. bicolor, C. replexa 등은 濟州島에만 自生한다고 報告되어있다 (金1981; 李, 1985). 이처럼 韓國産 Calanthe 屬 5 種은 濟州島에 주로 分布하고 있다.

最近에 들어 蛋白質 電氣泳動의 方法을 種分化에 관한 進化 遺傳的 研究에 導入함으로써 종간이나 속간의 遺傳的 類緣關係를 究明하려는 研究가 活潑히 進行되고 있다. 電氣泳動 方法에 의한 同位酵素 分析實驗으로 韓 等 (1977) 이 starch gel 電氣泳動 方法을 利用하여 벗나무屬 (Prunus) 을 對象으로 esterase 等 6 種類의 同位酵素를 비교 검토한 바 있으며 金 等 (1982, 1986)에 의해 소나무 (Pinus densiflora S. et Z.)와 곰솔 (P. thunbergii Parl.)에 대하여 glutamate oxalate transaminase (GOT) 와 leucine aminopeptidase (LAP) 를 對象으로 遺傳的 分析을 하였다. 그리고 文 (1987) 은 감귤屬 (Citrus) 을 對象으로 同位酵素 表現型 및 遺傳因子를 究明한 바 있으나, 韓國産 Calanthe屬에 관해서는 調査된 바 없다.

따라서 濟州島産 Calanthe屬을 對象으로 外部形態의 再檢査와 分布地를 調査하여 종간의 類緣關係를 究明하고 電氣泳動 方法을 이용하여 同位酵素, total 蛋白質 樣相에 의한 遺傳的 類緣關係를 밝히고자 本 研究를 實施하였다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗材料

本 研究의 供試材料인 Calanthe屬은 1989年 3月부터 1989年 9月까지 개화기를 中心으로 濟州道에서 採集하였다. 採集된 材料를 溫室에 移植하여 實驗材料로 사용하였으며 採集地는 Table 1과 같다.

2. 實驗方法

(1) 外部形態 및 分布地 調査

外部形態의 形質調査는 完전하게 개화한 개체를 각 種마다 無作為로 30 개체씩 選發하여 잎, 꽃받침, 꽃잎, 盾瓣, 距, 小花茎, 子房 等の 모양과 色 및 크기를 測定하였다.

또한 自生地를 踏查하여 海拔高마다 分布 樣相을 調査하였다.

(2) 同位酵素 樣相 分析

각 種마다 14개체에서 成葉을 採取하고 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), peroxidase (PER), esterase (EST), malate dehydrogenase (MDH), superoxide dismutase (SOD) 等の 同位酵素를 比較分析하였다.

(i) 酵素의 抽出

採集한 잎을 試料 1g 당 酵素 추출 buffer (0.07M Tris-HCl pH 6.7, 1% PVP, 0.5% Triton X-100, 1 mM 2-mercaptoethanol) 2ml를 가하여 4°C 에서 마쇄시켜 20,000 X g로 遠心分離시킨 다음 上등 液을 取하여 試料로 하였다.

Table 1. Collection locality and collection date of *Calanthe* in Cheju Island

Species	Locality	Date
<i>C. discolor</i>	Hangyong (Myungidon)	Apr. 25 89
	Namwon (Suakgyo)	May. 10 89
	Chochon (Suneulri)	May. 15 89
<i>C. coreana</i>	Hangyong (Myungidong)	Apr. 13 89
	Namwon (Suakgyo)	May. 10 89
	Chochon (Suneulri)	May. 28 89
<i>C. sieboldii</i>	Chochon (Gyoreiri)	May. 13 89
	Namwon (Dongsugyo)	May. 26 89
<i>C. bicolor</i>	Chochon (Gyoreiri)	May. 13 89
	Namwon (Dongsugyo)	May. 29 89
<i>C. replexa</i>	Cheju (Mooljangol)	Aug. 8 89
	Namwon (Suakgyo)	Aug. 18 89

(ii) 電氣泳動 方法

GOT, MDH 및 SOD 를 分析하기 위해서는 starch gel(11%) 電氣泳動 方法을 이용하였고 PER 과 EST 는 polyacrylamide gel(7.5%) 電氣泳動 方法을 이용하였으며 Table 2 와 같은 조건으로 電氣泳動을 實施하였다.

(iii) 染色과 固定

染色은 Table 2 와 같으며 染色이 끝나면 즉시 7% acetic acid 에 보관하여 觀察하였다.

(3) Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

(SDS PAGE)

SDS PAGE는 Laemmli(1970) 의 方法에 따라서 3% stacking gel과 10% Running gel 에서 Slab gel 當 常溫에서 20mA로 3 - 4 시간 동안 分離시킨 후 0.25% Coomassie brilliant blue R-250으로 染

色하고 7% acetic acid (35% methanol 포함) 로 脫色하였다.

分子量 表識 蛋白質로는 carbonic anhydrase(from erythrocytes M.W. 29,000), egg albumin(M.W.45,000), bovine albumin(M.W.66,000), phosphorylase b(from rabbit muscle, M.W.97,400), beta-galactosidase (from E. coli, M.W.116,000), Myosin (from rabbit muscle, M.W.205,000)을 사용 하였다.

Table 2. The electrophoretic methods for isozyme analysis of Galanthine

Enzyme	Gel system	Electrode buffer	Gel buffer	pH	Running condition	Station Solution	Reference
GOT	Starch	0.19M Boric acid	9 parts Tris-citric acid buffer (0.05M Tris, 0.007M citric acid); 1part Electrode buffer	8.3	200 V 3 hr	0.1M Tris HCL (PH8.8)--100ml Aspartic acid--250ml alpha-Ketoglutaric acid--15ml Fast-Blue BB salt--150ml	Cardy et al. (1981) Tanksley et al. (1963)
		0.04M Lithium hydroxide					
MDH	Starch	0.19M Boric acid	9parts Tris-citric acid buffer (0.05M Tris, 0.007M citric acid); 1part Electrode buffer	8.8	250 V 3 hr	0.1M Tris HCL (PH8.8)--100ml 1M DL Malate--3ml NAD--30ml, MTT--20mg PMS--4mg	Cardy et al. (1981) Brown et al. (1978)
		0.04M Lithium hydroxide					
SOD	Starch	0.19M Boric acid	9part Tris-citric acid buffer (0.05M Tris, 0.007M citric acid); 1part Electrode buffer	8.8	250 V 3 hr	0.1M Tris HCL (PH8.8)--100ml MTT--20mg PMS--4mg	Harris et al. (1976)
		0.04M Lithium hydroxide					
PER	Polyacrylamide	0.02M Tris glycine	Stacking gel--1.0M Tris-HCL Running gel--1.5M Tris-HCL	6.7 8.8	25 mA 4 hr	Benzidine--500mg Acetic acid--4.5ml 0.9% H ₂ O ₂ --25ml, DM--120ml	Esen et al. (1975)
		0.02M Tris glycine					
EST	Polyacrylamide	0.02M Tris glycine	Stacking gel--1.0M Tris-HCL Running gel--1.5M Tris-HCL	6.7 8.8	25 mA 4 hr	0.1M Naphosphate (PH8.8)--100ml alpha-Naphthyl acetate (1x)--3ml FAST Blue RR salt--100mg	Bender et al. (1982)
		0.02M Tris glycine					

III . 結 果

1. 外部形態 및 分布地

1) 外部形態

새우난초屬 (*Calanthe*) 은 多年草로서 根莖은 비교적 길고 卵狀橢圓形이며 여러개의 마디가 連結되고 잔뿌리가 많다.

잎은 2-5 개가 다발로 나오고 倒披針狀 長橢圓形이며 葉先은 완만하게 좁아지다가 끝이 뾰족하고, 基部는 좁아지면서 葉柄을 形成한다.

꽃은 *C. discolor*, *C. coreana*, *C. sieboldii*, *C. bicolor* 등이 4-5 월에 개화하고 *C. replexa*는 7-8 월에 개화하며, 花序는 總狀花序로 10-30 개가 달린다.

꽃받침은 3 개이고 披針形이며 양쪽에 2 개의 꽃잎과 하나의 盾瓣으로 이루어져 있으며 盾瓣은 3 개의 裂片으로 갈라져있고 中央裂片에 3-5 개의 돌기가 나와있다.

*Calanthe*屬의 外部形態의 調査 結果는 Table 3 과 같다.

i) 잎: 葉長은 *C. sieboldii*가 平均 260 mm로 가장 크고 *C. coreana*와 *C. discolor*는 각각 198mm, 203mm 로 가장 작으며 *C. bicolor*와 *C. replexa*는 각각 245 mm, 253 mm 이었다. 葉幅도 葉長의 結果와 비슷한 경향을 보였다.

ii) 꽃받침: 꽃받침의 길이는 *C. sieboldii*가 平均 26 mm로 가장 크고 *C. discolor*가 平均 13 mm로 가장 작았으며 꽃받침의 幅은 *C. replexa*가 가장 좁았다.

꽃받침의 색깔은 *C. sieboldii*는 黄色, *C. coreana*는 짙은 紫色, *C. replexa*는 淡紫色이었고 거의 變異가 없었으나 *C. bicolor*는 朱黄

Table 3. Representative morphological characters in Calanthe

Characters	Species			
	<u>C. discolor</u>	<u>C. coreana</u>	<u>C. sieboldii</u>	<u>C. replexa</u>
Leaf				
length (mm)	203±46	198±51	260±53	253±39
width (mm)	59±21	60±18	88±15	69±14
Sepal				
length (mm)	13±3	14±4	26±8	14±3
width (mm)	5±2	6±3	12±6	4±2
colour	brown, purple light green	deep green	yellow	light purple
			yellowish red	purple, light green
Lateral				
length (mm)	14±4	12±3	24±6	13±4
width (mm)	5±1	4±2	9±4	2±1
color	brown, purple light green	deep green	yellow	light purple
			yellowish red	purple, light green
Lip				
length (mm)	10±4	15±3	19±5	16±5
width (mm)	16±8	16±4	26±9	12±3
color	white, pink	white	yellow	light purple
			yellowish red	white, yellow
Spur				
length (mm)	8.2±1.4	9.2±3.6	13.2±4.8	—
width (mm)	1.4±0.2	1.5±0.4	3.0±0.7	—
Pediceal				
length (mm)	10.5±1.2	9.4±2.1	11.5±4.3	11.2±2.4
width (mm)	1.1±0.7	1.2±0.6	1.5±0.8	1.2±0.5
Ovary				
length (mm)	5.9±1.2	5.8±1.9	9.0±2.3	5.6±3.6
width (mm)	1.4±0.5	0.9±0.3	2.2±0.6	2.0±0.7

色, 紫色 연두색이며 C. discolor는 갈색, 紫色, 연두색 등으로 多様하게 나타났다.

iii) 꽃잎: 꽃잎의 길이와 幅은 C. sieboldii에서는 平均 24 mm 와 9 mm 로 가장 크고 C. bicolor는 平均 19 mm 와 6 mm이고 C. replexa는 平均 13mm 와 2 mm 으로 가장 작게 나타났고 꽃잎의 색은 꽃받침의 색과 類似하게 나타냈다.

iv) 盾瓣: 盾瓣의 길이와 幅은 C. sieboldii가 平均 19 mm 와 26 mm로 가장 크고 C. discolor와 C. coreana는 유사한 크기를 보였으며 다른 種들에 비해 작게 나타났다.

盾瓣의 색은 C. sieboldii는 黄色, C. bicolor는 朱黄色, 黄色 또는 이들 색이 섞여 있으며, C. discolor는 白色, 분홍색 이나 C. coreana는 白色, C. replexa는 淡紫色이었다.

2) 分布地

济州島에 自生하는 새우난초 (Calanthe) 屬의 分布地는 주로 暖帶 温帶林 地帶의 光條件이 良好한 2次林에 自生하고 있었으며 分布 樣相은 海拔高에 따라 다르게 나타났다.

海拔高 200m이하 低地帶에는 C. discolor와 C. coreana가 分布하고 400m-700m 사이에는 C. discolor, C. bicolor 와 C. sieboldii가 混生하여 分布하고 있었다. 그리고 C. replexa는 約 海拔高 1200m 까지 나타났다.

2. 同位酵素의 分析과 Total 蛋白質 比較.

同位酵素의 分析은 正確한 座位와 对立因子에 의해 決定되는 表現型을 判讀해야 하는데 本 實驗에서는 交雜實驗을 하지 않았기 때문에 反覆 實驗을 통하여 GOT, PER, EST, MDH 및 SOD 등 5種의 同位酵素 band 樣相에서 座位로 判讀되는 部位를 zone으로 設定하였고 表現型の band를 区分하였다 (Table 4.)

(1) Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)

GOT 는 2 개의 同位酵素 zone 을 가지고 있으며 陽極으로 移動度가 빠른 GOT_A와 origin에 가까운 GOT_B로 区分되었다. GOT_A는 a, b, c, d 의 4 개의 band 를 볼 수 있었으며 a, b band 가 C. discolor 에서 13 개체(93%), C. coreana 에서 12 개체(86%), C. sieboldii 와 C. bicolor 는 14 개체(100%)에서 각각 觀察되었다. 한편 C. replexa 에서 는 전혀 나타나지 않았다 (Fig. 1) .

또한 GOT_B는 同位酵素가 不安定하고 polymorphic 하여 band 樣相을 正確하게 把握할 수 없었다.

(2) Peroxidase (PER)

PER 은 陽極쪽으로 移動도가 빠른 順序로 PER_A, PER_B, PER_C 등 3 개의 zone으로 区分되었다 (Fig. 2) .

PER_A와 PER_B는 band의 活性이 매우 弱하고 polymorphic 하므로 band의 樣相을 確實하게 区分할 수 없었다. PER_C는 a, b, c, d 등 4 개의 band를 볼 수 있었으며, C. discolor, C. coreana, C. sieboldii 및 C. bicolor 는 14 개체가 a, c band만 가지고 있었고, b band는 C. replexa 에서만 檢出되었으며 d band는 모든 種에서 共通적으로 檢出되었다.

(3) Esterase (EST)

EST 는 陽極쪽으로 移動도가 빠른 順序로 EST_A, EST_B, EST_C, EST_D 및 EST_E의 5 Zone으로 区分되었다 (Fig. 3) .

EST_A, EST_B, EST_C는 band의 活性이 매우 弱하고 polymorphic 하여서 band의 樣狀을 正確하게 把握할 수 없었고 EST_D는 a, b 두개의 band로 構成되어 있었으며, EST_E는 a band만으로 構成되어 있었다.

EST_D의 a band는 모든 種에서 共通으로 檢出되는 band이고 b band는 C. replexa 를 제외한 다른 4 種에서는 檢出되었으며 또한

EST_E의 a band 역시 C. replexa 만 檢出되지 않았다.

(4) Malate dehydrogenase (MDH)

MDH 는 陽極에 가까운 順으로 a, b, c, d band로 区分되었으며 band 樣相은 monomorphic하였다(Fig. 4)

a, c band는 C. discolor와 C. coreana 에서만 檢出되었고 a, b, d band는 C. sieboldii, C. bicolor 와 C. replexa 에서만 檢出되었다.

(5) Superoxidase dismutase (SOD)

SOD 는 陽極쪽으로 移動度가 가장 빠른 SOD_A, 中間의 SOD_B, 그리고 origin에 머물러 있거나 origin에 가까운 곳에 있는 SOD_C의 3 zone으로 区分되었으며 band 樣相은 monomorphic 하였다 (Fig. 5).

SOD_A에서 a, b band는 C. replexa 를 除外한 4種에서 모두 檢出되었으며 b band는 C. replexa 에서만 檢出되었다.

SOD_B에서 a band는 C. sieboldii 에서만 檢出되었고 b band는 C. bicolor 에만 檢出되는 band였다. 그리고 c band는 C. discolor C. coreana, C. replexa 3種에서 檢出되었으며 d band는 C. replexa 에서만 檢出되었다.

SOD_C에서 C. replexa 는 a band만 檢出되었고, 다른 4種에서는 b band만 檢出되었다.

3. Total 蛋白質 樣相

SDS polyacrylamide gel 電氣泳動의 結果 供試材料 5種에서 나타난 total 蛋白質 band는 각각 25-30 개가 檢出되었다 (Fig. 6).

C. replexa 는 66 K dalton 과 45 K dalton 사이의 分子량을 가지는 2개의 band가 더 檢出된 반면에 나머지 種들은 中間의 差異를 보이지 않았다.

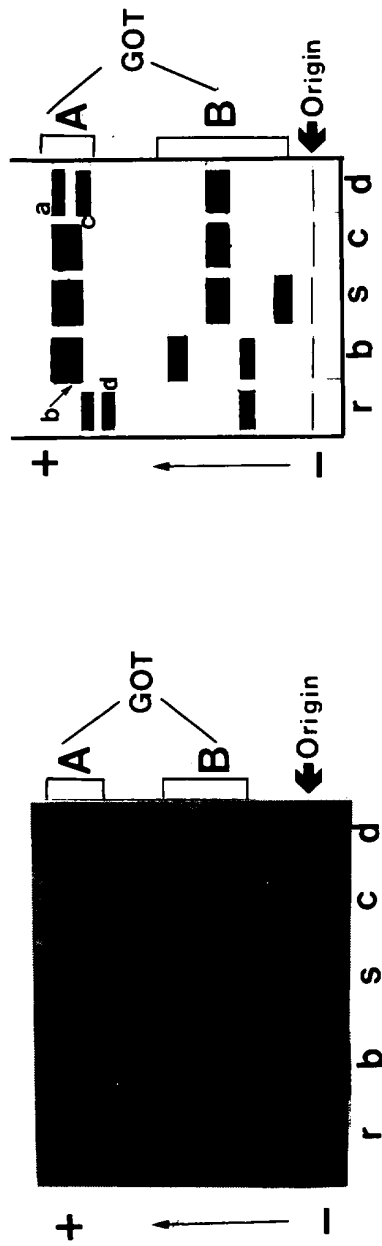


Fig.1. The glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) isozyme patterns and its diagram of five species in Calanthe. The proteins were separated by starch gel (13%) electrophoresis, and GOT isozymes were detected by selective staining. d, C. discolor; c, C. coreana; s, C. sieboldii; b, C. bicolor; r, C. replaxa.

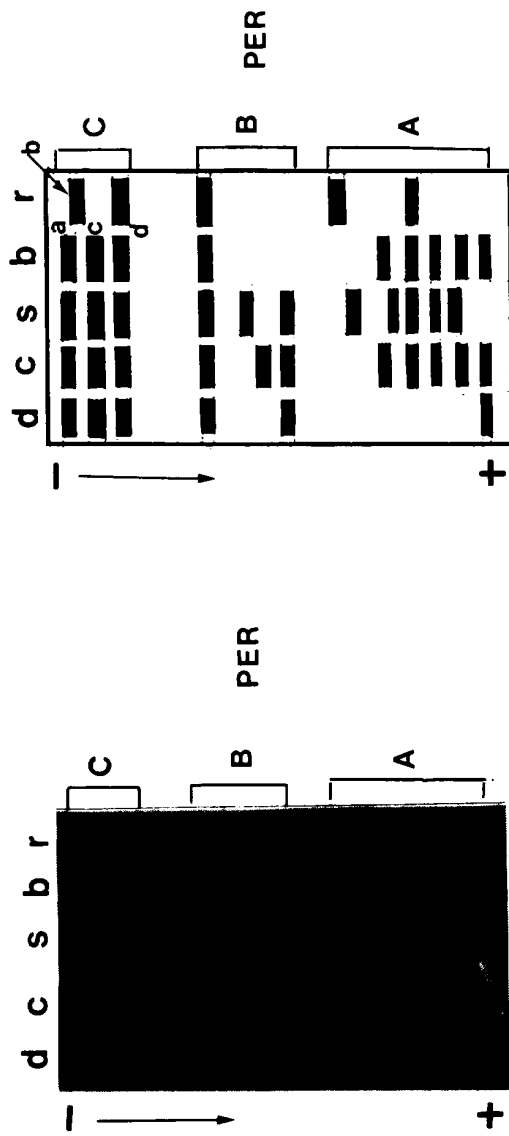


Fig.2. The peroxidase(PER) isozyme patterns and its diagram of five species in Calanthe. The proteins were separated by polyacrylamide gel(7%) electrophoresis, and PER isozymes were detected by selective staining with benzidine. d, C. discolor; c, C. coreana; s, C. sieboldii; b, C. bicolor; r, C. replexa.

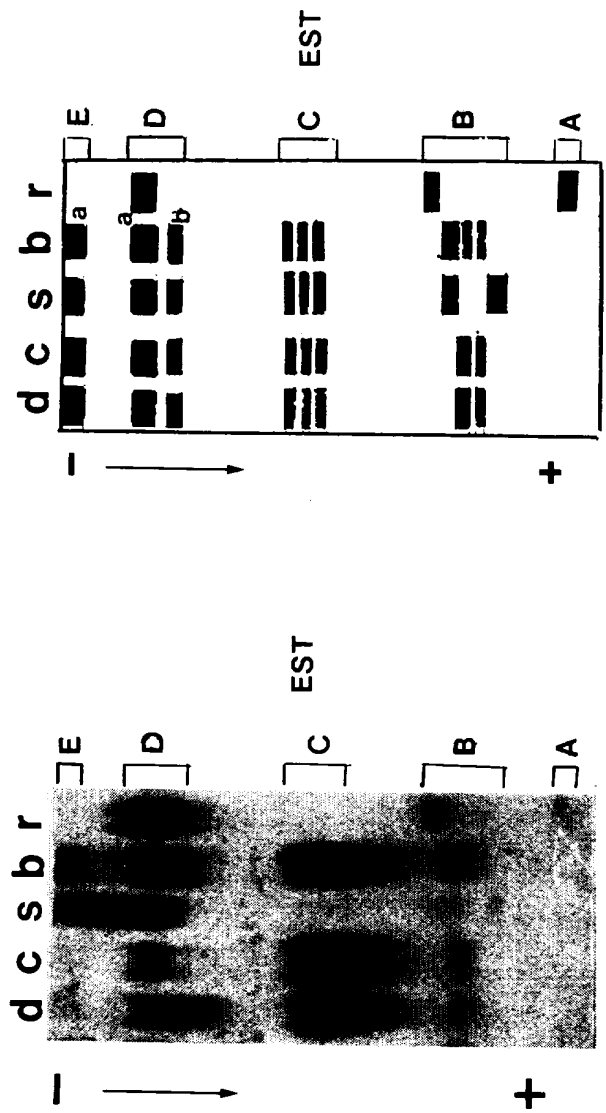


Fig.3. The esterase(EST) isozyme patterns and its diagram of five species in Calanthe. The proteins were separated by polyacrylamide gel(7%) electrophoresis, and EST isozymes were detected by selective staining with α -naphthyl acetate. d, C. discolor; c, C. coreana; s, C. sieboldii; b, C. bicolor; r, C. replexa.

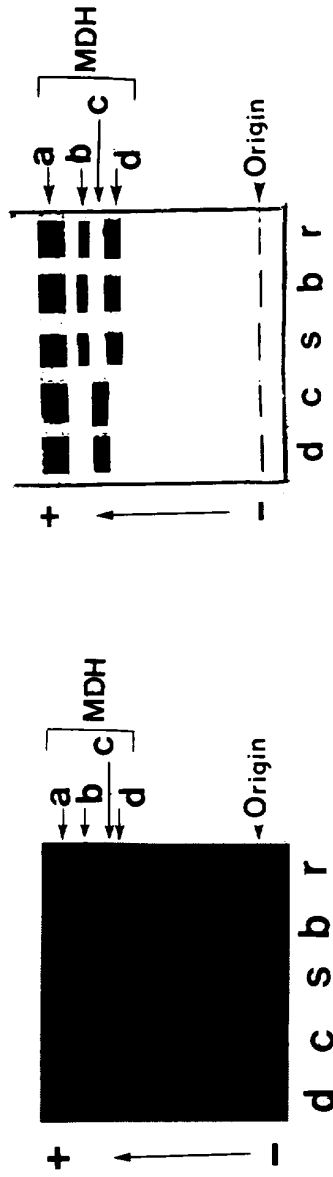


Fig.4. The malate dehydrogenase(MDH) isozyme patterns and its diagram of five species in Calanthe. The proteins were separated by starch gel(13%) electrophoresis, and MDH isozymes were detected by selective staining. d, C. discolor; c, C. coreana; s, C. sieboldii; b, C. bicolor; r, C. replexa.

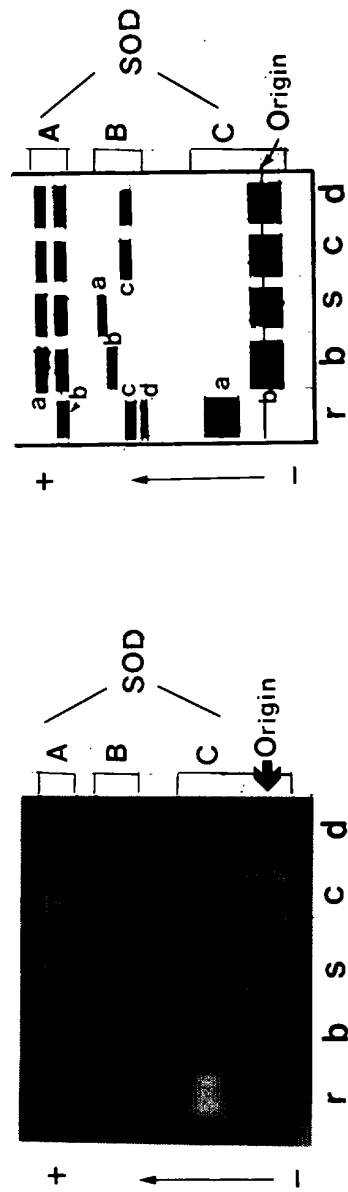


Fig.5. The superoxide dismutase(SOD) isozyme patterns and its diagram of five species in Calanthe. The proteins were separated by starch gel(13%) electrophoresis, and SOD isozymes were detected by selective staining. d, C. discolor; c, C. coreana; s, C. sieboldii; b, C. bicolor; r, C. replexa.

Table 4. The distribution of main bands in *Alanthe*

Enzyme	Isozyme Zone (Locus?)	Band pattern (Phenotype?)	Species				
			<i>C. discolor</i>	<i>C. coreana</i>	<i>C. sieboldii</i>	<i>C. bicolor</i>	<i>C. replexa</i>
GOT	A	ab	13 (93%)	12 (86%)	14 (100%)	14 (100%)	0
		ac	1 (7%)	2 (14%)	0	0	0
	B	cd	0	0	0	0	14 (100%)
		ND	-	-	-	-	-
PER	C	acd	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	0
		bd	0	0	0	0	14 (100%)
	A, B	ND	-	-	-	-	-
EST	E	a	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	0
	D	a	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)
		ab	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	0
	A, B, C	ND	-	-	-	-	-
MDH	MDH	ac	14 (100%)	14 (100%)	0	0	0
		abd	0	0	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)
SOD	A	ab	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	0
		b	0	0	0	0	14 (100%)
	B	a	0	0	14 (100%)	0	0
		b	0	0	0	14 (100%)	0
	C	c	14 (100%)	14 (100%)	0	0	14 (100%)
		cd	0	0	0	0	14 (100%)
	a	0	0	0	0	14 (100%)	
	b	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)	0	

Total 14 individuals of each species were analysed, and the distributions of main isozymic bands were counted. ND ; indicates that these isozymic zones were not detected because of strong fluctuations in activities and band patterns in each isozyme

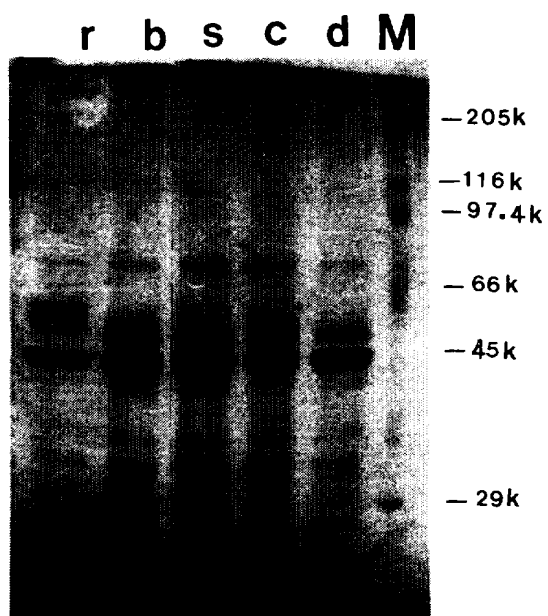


Fig.6. The total protein patterns of five species in Calanthe. The proteins were separated by SDS-polyacrylamide gel(10%) electrophoresis according to Laemmli(1970), and stained Coomassie Blue-R 250. r, C. replexa; b, C. bicolor; s, C. sieboldii; c, C. coreana; d, C. discolor; M, molecular weight markers.

IV. 考 察

本 研究의 供試材料인 새우난초 (*Calanthe*) 屬의 5種들은 外部形態적 形質, 특히 잎의 크기, 꽃받침, 꽃잎과 盾瓣의 크기 및 色 等に 있어서, *C. coreana* 와 *C. discolor*는 매우 類似하여 識別이 어려우나 이들 두 種과 *C. sieboldii*, *C. replexa*, *C. bicolor* 등은 差異를 보였다.

Nakai(1914)는 *C. coreana*를 新種으로 報告하였는데 이것은 *C. discolor*와 비슷하나 꽃이 작고 距가 긴 特徵이 있다고 하였고 金(1981)도 *C. discolor*와는 꽃과 距의 크기가 다르다고 報告하였다.

그러나 本 研究에서 관찰된 꽃받침, 盾瓣, 꽃잎들의 크기는 각각 *C. discolor*가 平均 13mm, 10 mm, 14mm 이고 *C. coreana*는 平均 14mm, 15 mm, 12 mm 였다. 그리고 距의 길이는 *C. discolor*가 平均 8.2 mm이고 *C. coreana*는 平均 9.2mm로 觀察되었다. 따라서 이들 두種은 形態的 크기가 매우 類似하여 *C. coreana*에 대한 分類學的인 재검토가 必要하다고 思料된다.

그리고 金(1981)은 *C. bicolor*를 韓國未記錄種으로 報告하였는데 그는 새우난초屬 (*Calanthe*) 中에서 잎의 크기가 가장 작고 꽃의 色은 연두색이며 꽃의 크기가 *C. discolor*와 비슷하다고 하였다.

그러나 本 研究에서 測定된 잎의 길이와 幅은 平均 245 mm와 79 mm로서 *C. sieboldii* 보다는 작으나 *C. discolor*보다는 훨씬 크고 더구나 꽃의 色은 朱黃, 紫色, 연두색 등 多樣한 色을 띠고 있었다.

또한 *C. bicolor*는 Fig.7에서 보는 바와 같이 調査된 外部形態 特徵이 *C. discolor*와 *C. sieboldii*의 中間 위치로 나타났는데, 이것은 長野(1975)의 結果와 一致한다. 이러한 점에서 볼 때 金(1981)이 報告한 *C. bicolor*는 *C. discolor*의 變異體를 *C. bicolor*로

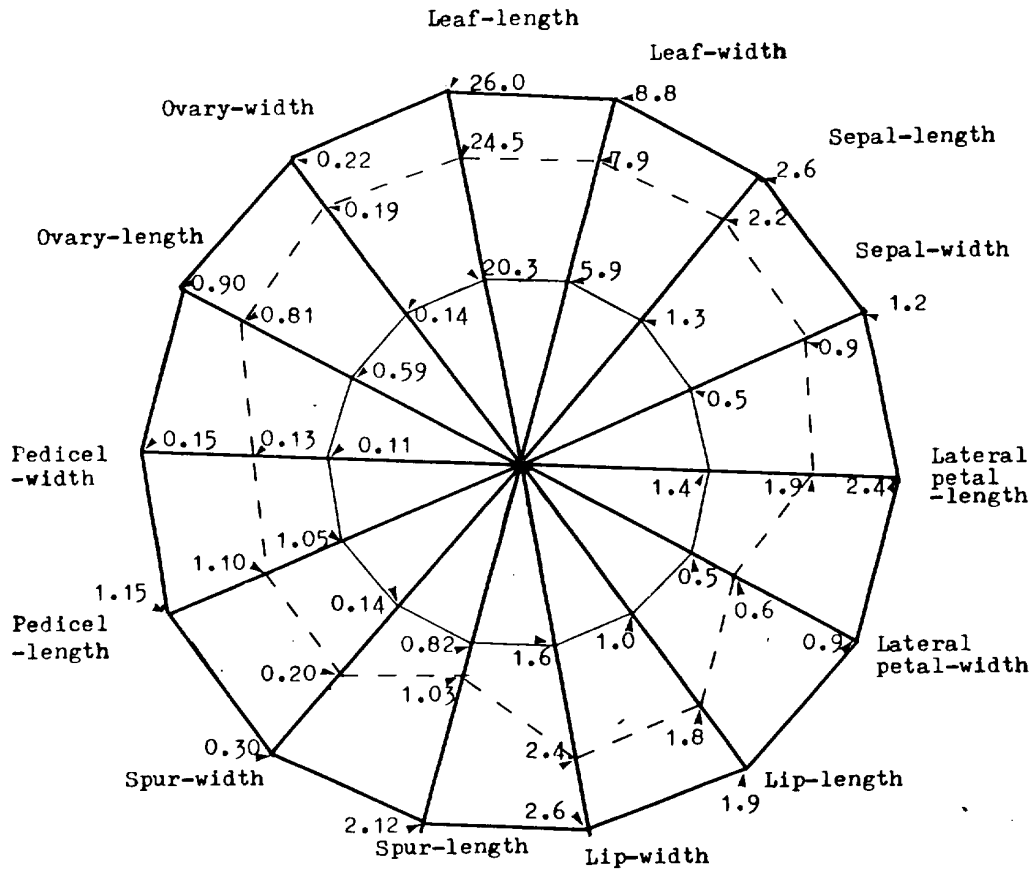


Fig 7. Polygonal graph of 14 characters in three species of Calanthe. Each morphological character was measured with 30 individuals in each species, and its values were designated in centimeter. **—**; C. sieboldii, **- - - -**; C. bicolor, **—**; C. discolor.

잘못 報告한 것으로 辨斷된다.

同位酵素 樣相은 韓 等(1977)이 벚나무屬(Prunus)에서는 Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)가 2개의 zone이 나타난다고 하였다. Weeden 等(1988)은 포도에서 4개의 zone으로 되어있다고 報告 하였으나 本 研究의 對象으로 사용된 Calanthe屬에서는 2개의 同位酵素 zone 으로 구분되었다. 文(1986)은 감귤屬(Citrus)에서 GOT_B는 表現型이 明確하지 않아 酵素系의 遺傳型을 充分히 밝힐 수 없다고 하였는데 Calanthe屬에서도 表現型이 確實하지 않아서 試料를 만든 後 即時 電氣泳動을 하지 않으면 GOT_B는 觀察할 수 없었다.

그리고 Peroxidase(PER)는 Tanksley 等(1983)은 참외屬(Cucumis)에서 吳 等(1988)의 대추屬(Zizyphus), 金 等(1989)의 무화과나무屬(Ficus)에서 매우 polymorphic하다고 하였고 本 實驗의 Calanthe屬에서도 最高 17 개의 band가 檢出되었으며 Polymorphic 하게 보였다. 또한 Malate dehydrogenase(MDH)에서는 Weeden 等(1987)이 사과에서 5개의 座位로 区分하였으며 polymorphism 現象이 나타난다고 하였으나 Calanthe屬은 2-3개의 band가 monomorphic 하게 나타났다.

Superoxide dismutase(SOD)는 Tanksley 等(1983)은 호밀에서 3개의 zone으로 区分하였는데 SOD_A는 電氣泳動 時 가장 빠른 移動性을 보이는 zone으로 葉綠體에 位置하고, SOD_B는 細胞質에 있으며 SOD_A보다 늦은 移動度를 가지고 있으며, SOD_C는 미토콘드리아의 同位酵素로서 가장 늦은 電氣泳動的 移動度를 나타낸다고 報告하였고 Calanthe屬에서도 3개의 zone이 monomorphic 하게 나타났다.

吳 等(1988)은 GOT, PER, EST를 이용한 同位酵素 分析 結果 대추屬(Zizyphus)의 種들은 각각 다른 同位酵素 表現形을 나타내어 系統 分類에 이용할 수 있다고 하였으나 本 研究에서의 Calanthe屬은 GOT_A, PER_C, EST_D, EST_E 等 3 種類의 同位酵素 band 樣相을 비교할 때 C. replexa가 다른 4種에 비하여 많은 差異가 있었고 C. coreana는 5種類의 同位酵素 分析에서 C. discolor와 類似한 band 樣相을 보였다.

韓 等(1977)은 울벚나무(*P. suhirtella*)와 왕벚나무(*P. yedoensis*) 및 산벚나무(*P. donarium*)의 電氣泳動型의 比較 結果 MDH 는 왕벚나무가 울벚나무와 산벚나무 사이의 中間 交雜種으로 보인다고 보고하였는데, 本 實驗에서도 MDH 와 SOD 는 monomorphic 하여 종간의 区分이 가능하였다. 특히 SOD_B zone에서 *C. sieboldii* 는 빠른 移動度를 가진 band가 檢出된 반면에 *C. discolor*는 낮은 移動度를 가진 band가 檢出되었고 *C. bicolor* 는 이들의 中間 정도의 移動度를 가진 band를 보였다. 이러한 結果는 *C. discolor* 와 *C. sieboldii* 의 中間 形態로 나타난 外部形態 調査 結果와 類似하다고 思料된다.

그리고 韓 等(1977), 吳 等(1988), 金 等(1989)의 同位酵素 分析 實驗에서 種當 1개체씩만 使用하였으나 同位酵素가 植物의 屬, 種마다 나타나는 band의 樣相이 monomorphic 하거나 polymorphic 하기때문에 同位酵素를 利用하여 植物의 遺傳的 類緣關係를 分析 할 때에는 가능한 많은 개체를 對象으로 實驗하여야 할것으로 思料된다.

宋(1988)은 사철란屬(*Goodyera*)의 SDS polyacrylamid gel 電氣泳動에서 total 蛋白質 樣相은 種마다 매우 類似하다고 하였다. 또한 本 實驗의 結果 total 蛋白質 樣相에서도 *C. replexa* 에서만 種 特異的인 band를 보인 반면에 나머지 4種에서는 거의 区分할 수 없었다.

以上の 結果를 綜合하여 보면 *Calanthe*屬에서 外部形態 調査, 同位酵素 樣相, total 蛋白質 樣相 등에서 볼 때 *C. replexa* 는 遺傳的 類緣關係가 다른 種들에 비하여 가장 먼 種이라고 생각되며 *C. discolor*와 *C. coreana* 는 매우 類似하여 동일 種이라 추측되기때문에 *C. coreana* 에 대한 分類學的 재검토가 必要하다고 생각된다. 또한 *C. bicolor* 는 外部形態 와 同位酵素 樣相 및 分布地에서 *C. discolor*, *C. sieboldii* 와 더불어 混生하고 개화 時期가 비슷하다는 점에서 이들 두 종간의 交雜種으로 思料되나 앞으로 交雜實驗 等 더 많은 研究가 要求되는 바이다.

V . 摘 要

濟州島産 새우란초屬(Calanthe) 5 種에 관하여 종간의 類緣關係를 밝히기 위하여 外部形態, 分布地 調査 및 同位酵素 band의 樣相과 total 蛋白質 band 樣相을 分析하였으며 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 外部形態의 調査結果 잎의 크기와 꽃받침, 盾瓣, 꽃잎의 크기 및 色, 距의 有無 等の 本 屬 植物을 同定하는데 有用한 形質로 把握되었다.
2. 同位酵素와 total 蛋白質의 樣相은 外部形態의 結果와 類似的한 結果를 나타내었다.
3. C. replexa 는 다른 4 種과의 類緣關係가 가장 멀었다. 그리고 C. discolor와 C. coreana 는 매우 類似하여 分類學的인 再 檢사가 必要하다고 思料된다.
4. C. bicolor 는 C. discolor와 C. sieboldii 의 交雜種으로 推定되나 交雜實驗 等に 의해 追後 再 檢사되어야 할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

- Bender, K. , M. Nagel and E. Gunther , 1982 . EST-6, a further polymorphic esterase in the rat. *Biochem.* 20:221-229.
- Brown, A. H. D. , E. Nevo, D. Zohory and O. Dagan, 1978. Genetic variation in natural population of wild barley(Hordeum spontaneum) . *Genetics.* 49:9 7-108.
- Cardy, B. J. , C. W. Stuber and M. M. Goodman, 1981. Techniques for starch gel electrophoresis of Statistics Mimeo series No.1317. North Carolina State univ. Releigh. N. C. 31.
- 翟汝康. 1972 中國高等植物도감. 科学出版社. 北京.
- Esen, A. and R. W. Scora, 1975 Distribution of enzymtic browning of young shoot homogenates in the Aurantiodeae . *Amer. J. Bot.* 62:1078-1083.
- 韓 昶烈, 金 英眞, 梁 瑞榮, 鄭 熙俊. 1977. 왕벚의 起源에 관한 研究. 漢拏山 自生 울벚, 개량왕벚 및 산벚의 電氣泳動形 比較. 韓國植物學會誌. 20(1):1-5.
- Harris, H . and D . A . Hopkinson, 1976. Handbook of enzymatic electrophoresis in human genetics. 23-50. North Holland Pub.co., Amsterdam.
- 金 文洪. 1985. 한라산 천연보호구역 학술조사보고서. 한라산의 관속식물 상. 제주도.
- 金 三植, 李 正煥. 1989. 무화과나무 (Ficus)屬 數種의 分類學的 研究. 韓國植物分類學會誌. 123-139 .
- 김 상호. 1981. 韓國産 새우난屬의 分類學的 研究. 高麗大學校大學院. 碩士學位論文.

- Kim , Z. S. , W.H. Son and Y.K. Youn, 1982. Inheritance of leucine aminopeptidase and Glutamate-oxalate transaminase isozymes in Pinus koraiensis. Kor. Jour. Genetics. 4: 25-31.
- and Y.P. Hong , 1986. Genetic analysis of some polymorphic isozymes in Pinus densiflora. Jour. Kor. For. Soc. 58:1-7.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227:680-685.
- 李昌福. 1968. 한라산 학술조사 보고서 및 홍도 학술조사보고서. 문화공보부.
- . 1985. 대한식물도감. 향문사. 서울.
- 三枝敏郎. 1981. えびね屬の種, とくに日本産えびね. 植物と自然. 15 (4) ; 11-17.
- 文斗吉. 1986. 濟州 再来 감귤의 同位酵素 分析과 交雜實生の 早期識別 方法에 關한 研究. 서울大學校大學院 博士學位論文.
- 森為三. 1941. 全羅南道植物. 全羅南道校育會.
- Nakai, T, 1911. Flora Koreana II. Jour. Coll. Sci. Imp. Univ. 31; 1 -573.
- , 1914. Flora of Quelpert and Wando Island. 1-149 .
- 長野正紘, 三枝敏郎. 1975. えびね. 文化出版局. 東京.
- 吳 成都, 崔 東根, 金 正浩, 金 容碩. 1988. 韓國 在來 대추 (Zizyphus jujuba Miller)의 系統分類를 위한 同位酵素 分析에 關한 研究. 韓國園芸學會誌. 29(4):304-311.
- 朴 萬奎. 1949. 우리나라 식물명감. 文教部.
- Park, Y.G. and K.H. Chung . 1986. Inheritance of leucine aminopeptidase, glutamate-oxalate transaminase isozyme in Pinus thunbergii Kor. Jour. Genetics. 8(3):133-140.
- 宋 成姬. 1987. 蛋白質 電氣泳動상에 의한 濟州道 사철란屬의 遺傳

的 類緣 關係. 濟州大學校 大學院 碩士學位論文.

Tanksley, S .D. and T.J.Orton, 1983. Isozymes in plant genetics and breeding. part B. pp79-89,94-96,231-245. Amsterdam-Oxford-New York.

Weeden, F.N. , B. I.Reisch and M.H.E.Martens, 1988 . Genetic analysis of isozyme polymorphism in grape. Jour. Amer. Soc. Hort. Sci.113(5):765-769.

————— and G. A.Marx, 1987. Further genetic analysis and linkage relationships of isozyme loci in pea. Jour. Heredity. 78: 153-159.

————— and R.C.Lamb, 1987. Genetics and linkage analysis of 19 isozymes loci in apple. Jour. Amer. Soc. Hort. Sci. 112(5) ; 865-872.

謝 詞

本 論文이 完成 되기까지 助言과 激勵을 하여주신 金文洪 教授님
께 먼저 깊은 감사를 표하오며, 많은 가르침을 주신 許仁玉 教授
님, 吳文儒 教授님, 李龍弼 教授님, 李和子 教授님, 高碩贊 教授님께
감사드립니다.

그리고 電氣泳動 實驗을 여러모로 도와주신 金世宰 선생님께 감
사드리오며 分類 生態學實驗室 여러분에게 고마움을 전합니다.

항상 사랑으로 보살펴 주신 어머님께 이 論文을 사랑으로 대신
합니다.