



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

동백동산 양치식물의 염기서열에
의한 분류

Classification of Pteridophyta in Dongbaekdongsan by analysis
of DNA sequence

濟州大學校 大學院

農學科

高順烈

2016 年 02 月

동백동산 양치식물의 염기서열에 의한 분류

指導教授 田 溶 哲

高 順 烈

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2015 年 12 月

梁智順의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長

梁智順

委 員

金柱成

委 員

田溶哲



濟州大學校 大學院

2015 年 12 月

목 차

List of Tables	iii
List of Figure	v
ABSTRACT	1
I. 서론	3
II. 연구사	6
III. 재료 및 방법	8
1. 조사지역	
2. 표본 및 시료채집	
3. 채집한 식물의 total DNA 추출	
4. 추출한 DNA 의 농도측정	
5. 전기영동(Electrophoresis)	
6. 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)	
IV. 결과 및 고찰	13
1. 동백동산에서 채집한 양치 식물	

2. 다른 자생지에서 채집한 양치식물

3. 채집한 양치식물의 특성

4. DNA 염기 서열 분석을 통한 양치식물의 재동정

V. 적요	46
VI. 참고문헌	48
VII. 감사의 글	54

List of Tables

Table 1. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsa	14
Table 2. Pteridophyta collected from the other site of Dongbaekdongsan	22
Table 3. Re-identification of 25 species pteridophyta growing in Dongbaekdongsan or other area by analysis of DNA sequencing comparing with NCBI Blast	44

List of Figures

Fig. 1. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 제
주고사리삼(*Mankuua chejuens* eB.Y.sun,M.H.Kim &C.H.Kim) (A,A-1) ,나도고
사리삼 (*Ophioglossum vulgatum* L.) (B,B-1,B-2), 늦고사리삼(*Botrychium*
virginianum (L.)Sw) (C,C-1,C-2) 19

Fig. 2. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 고
비 (*Osmunda japonica* Thunb.) (A, A-1) 실고사리(*Lygodium japonicum*
(Thub.)Sw) (B,B-1), 돌토끼고사리 (*Mycrolepia strigosa*(Thunb.) Presl)
(C,C-1,C-2), 고사리 (*Pteridium aquilinum* var. *Latiusculum* (Desv.) Und.ex
Heller) (D,D-1)..... 22

Fig. 3. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 가
지고비고사리 (*Coniogramme japonica* (Thunb.)Diels) (A,A-1,A-2), 선바위고
사리 (*Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze) (B,B-1) 봉의꼬리 (*Pteris*
multifida Poir.) (C,C-1,) 꼬리고사리 (*Asplenium incisum* Thunb.) (D,D-1) ...
..... 26

Fig. 4. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 도
 깨비쇠고비 (*Cyrtomium falcatum (L.f.) Presl*) (A,A-1), 쇠고비 (*Cyrtomium fortunei J.Sm.var.fortunei*) (B,B-1), 더부사리고사리 (*Polystichum lepidocaulon (Hook.)J.Sm.*) (C, C-1) 28

Fig. 5. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 십
 자고사리 (*Polystichum tripterum (Kunze) Presl*) (A, A-1), 검정개관중 (*Polystichum tsus_simense (Hook.)J.Sm.*) (B,B-1), 큰개관중 (*Polystichum mayebarae Tagawa*) (C,C-1), 가는쇠고사리 (*Arachniodes aristata (G.Forst.) Tindale*) (D,D-1) 31

Fig. 6. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 족
 제비고사리 (*Dryopteris varia (L.) Kuntze*) (A,A-1,A-2)) 산족제비고사리
 (*Dryopteris bissetiana (Baker) C.Chr.*) (B,B-1,B-2)) 홍지네고사리
 (*Dryopteris erythrosora (D.c.Eaton) Kuntze*) (C,C-1,C-2)) 콩짜개덩굴
 (*Lemmaphyllum microphyllum C.presl,*) (D,D-1,D-2) 34

Fig. 7. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 별
 고사리 (*Thelypteris acuminata* (Houtt.) Morton) (A,A-1), 석위 (*Purrosia
 lingua* (Thunb.) Farwell) (B,B-1), 일엽초 (*Lepisorus thunbergianus* (Kaulf.)
 Ching) (C,C-1), 밤일엽 (*Neocheiropteris ensata* (Thunb.) Ching) (D,D-
 1) 38

Fig.8 Gel electrophoresis of total DNA and PCR amplified chloroplast DNA of
 pteridophyta. lane 1: *Dryopteris bissetiana* (Baker) C. Chr. (산죽제비고사리), 2:
Pteridium aquilinum var. *latiusculum* (Desv.) Und. ex Heller (고사리), 3:
Lygodium japonicum (Thunb.) Sw (실고사리), 4: *Dryopteris erythrosora*
 (D. c. Eaton) Kuntze (홍지네고사리), 5: *Pteris multifida* Poir. (봉의꼬리), 6:
Polystichum mayebarae Tagawa (큰개관중), 7: *Osmunda japonica* Thunb. (고
 비), 8: *Arachniodes aristata* (G. Forst.) Tindale (가는쇠고사리), 9: *Polystichum
 tripterum* (Kunze) Presl (십자고사리), 10: *Cyrtomium fortunei* J. Sm. var.
fortunei (쇠고비) 41

Fig.9 Gel electrophoresis of total DNA and PCR amplified chloroplast DNA of
 pteridophyta. lane 1: *Polystichum lepidocaulon* (Hook.) J. Sm. (더부사리고사
 리), 2: , *Polystichum tsus-simense* (Hook.) J. Sm. (검정개관중), 3: *Cyrtomium
 falcatum* (L. f.) Presl (도깨비쇠고비), 4: *Botrychium virginianum* (L.) Sw (늦고

사리삼), 5: *Coniogramme japonica* (Thunb.)Diels (가지고비고사리), 6:
Ophioglossum vulgatum L. (나도고사리삼), 7:*Neocheiropteris ensata*(Thunb.):
(밤일엽), 8: *Lepisorus thunbergianus*(Kaulf.)Ching: (일엽초) 42

Fig. 10. Gel electrophoresis of total DNA and PCR amplified chloroplast DNA of
pteridophyta. lane 1:Mankuua chejuens eB.Y.sun,M.H.Kim &C.H.Kim(제주고사
리삼), 2:Dryopteris varia(L.) Kuntze (족제비고사리), 3:Mycrolepia strigosa
(Thunb.) Presl(돌토끼고사리), 4:Thelypteris acuminata(Houtt.) Morton(별고
사리), 5:Asplenium incisum Thunb.(꼬리고사리), 6:Onychium japonicum
(Thunb.) Kunze(선바위고사리), 7:Purrosia lingua(Thunb.)Farwell(석위), 8:
Lemmaphyllum microphyllum C.presl(콩짜개덩굴) 43

ABSTRACT

In this research, the Pteridophyta recorded in Seupjibohoguyeok Jeongmiljosa Dongbaek Dongsan Park Section has been reexamined and reclassified according to the base sequence, and also the effectiveness of primer presented based on this classification has been tested.

There are 26 species of Pteridophyta which are presented in countrywide wetland research-Dongbaek Dongsan Park Section. 22 species have been collected at Dongbaek Dongsan Park and other Pteridophytes which were not found there *Dryopteris varia*(L.)Kuntze(족제비고사리), *Neocheiropteris ensata*(Thunb.)Ching(밤일엽), *Botrychium virginianum*(L.)Sw.(늦고사리삼), *Coniogramme japonica*(Thunb.)Diels(가지고비고사리), have been collected in another spontaneous land.

The universal primer used in this research is the primer c and d of trnL-L region of chloroplast DNA and the primer e and f of trnL-F region. For additional primer, primer 1FN and 1361R of rbcL region and fern1 and F of trnL-F region have been used.

As a result of analyzing base sequence except *Thelypteris acuminata*(Houtt.) Morton(별고사리), has been identified as *Lemaphyllum microphyllum* C.presl var. *obovatum*.(긴콩짜개덩굴) Base Sequence of all the other Pteridophyta was the same, *Cyrtomium falcatum* J. Sm.(쇠고비) recorded 93% while *Mankyua chejuense* B.Y.Sun,M.H. Kim&C.H.Kim(제주고사리삼) recorded 94% of homogeny rate.

Except *Onychium japoicum* (Thunb.)Kunze(선바위고사리), *Pyrrosia lingua* (Thunb.)Farw.(석위), *Lemaphyllum microphyllum* C. Presl(콩짜개덩굴), except

Thelypteris acuminata(Houtt.)C.V.Morton(별고사리) among 26 species of Pteridophyta, universal primer c and d, e and f formed base fragments and suggested 85% of identification rate. When primer 1FN and 1361R, fern 1 and F are used additionally, all 26 species of Pteridophyta were identifiable except except *Thelypteris acuminata* C.V.(Houtt.) (별고사리), recording 96% of identification rate.

Recently, researches on classification and system of pteridophyta have been conducted based on base sequence. By means of base sequence analysis, independent gametophyte, *Trichomanes intricatum*, proved to have same base sequence as one of pteridophyta called *Crepidomanes schridtianum*(두메괴불이끼). As for the system, Lycopodiaceae and Isoetes which were included in existing pteridophyta has been Lycophytes due to the grafting of base sequence.

The research on base sequence of the pteridophyta of South Korea has been limited to specific species; this research is to present universal primer which can identify various species of pteridophyta.

I. 서론

양치식물은 현존하는 가장 오래된 식물로 포자로 번식하고 물과 양분의 흡수와 고착기능이 있는 뿌리가 있고 잎과 줄기를 가지고 있는 관속식물을 일컫는다(Simpson, 2011). 양치식물은 포자로 번식하는 관속식물을 일컫는데 이는 석송문과 양치식물문으로 나눌 수 있다. 석송문은 줄기에 나선상으로 배열된 소엽을 가지고 있고 단일 포자낭이 소엽의 앞면이나 엽액에 달리는 특징을 가지고 있다. 여기에 석송강과 물부추강이 속한다. 양치식물문에는 진정엽을 가지고 있으며 속새강, 솔잎난강과 그리고 Leptosporangiate fern을 포함하는 인편포자고사리가 여기에 속한다. (Sadava 등, 2010; 모란, 2010).

양치식물의 이용면에 있어 고사리, 고비, 꿩고비, 관중, 청나래고사리 등은 식용으로 사용되었고 외국의 경우 자루나도고사리삼, 쇠뜨기 등은 차로 음용하였다(이와 이, 2015).

약용자원으로는 이뇨, 서열, 통변 등에 사용되는 고사리(신 등, 2009), 원기부족에 사용되는 넉줄고사리, 혈액순환을 개선하는 바위손(김 등, 2013) 등이 사용되었다. 일색고사리와 쇠고비는 녹차보다 더 높은 항산화물질을 가지는 것으로 연구되었고 고란초과의 *Polypodium leucotomos* 에서는 강력한 항산화와 항종양작용이, 공작고사리과의 *Adiantum lunulatum* 에서는 항균활성이 보고된 바 있다 (오 등, 2008).

또한 내음성이 강하고 키우기 용이하기 때문에 관상가치가 높은 골고사리, 검정개관중, 더부사리고사리 등은 실내 외 조경식물로 많이 이용되고 있다. 넉줄

고사리, 세뿔석위 등은 바위나 수목에 착생시켜 실내 조경식물로 각광받고 있으며 잎이 큰 양치식물들은 절엽, 드라이플라워 등으로도 많이 사용되고 있다(박 등, 2002, 2003, 2004).

양치식물은 포자체와 배우체로 구분되며 포자체는 포자를 달고 있는 식물체를 말한다. 포자는 대부분 잎에 부착되어 있는 포자낭 내에 존재하고 포자모세포가 감수분열하여 반수체 포자(n)을 생성한다. 포자는 바람을 타고 먼 거리로 이동하며 환경이 적합한 토양에 떨어지면 발아하여 심장형으로 성숙하는데 이를 배우체라고 한다. 배우체는 정자와 난자를 만드는 생식기관인 장정기와 장란기를 가지며 각각 다수의 정자와 하나의 알세포를 만든다. 양치식물의 배우체는 동일한 시기에 동일한 배우체상에 장정기와 장란기를 형성하지는 않는다. 정자는 물을 매개로 다른 배우체에 있는 장란기에 도달하여 난자와 수정하여 접합자($2n$)가 되고 어린 포자체의 배로 분화한다. 어린 포자체는 뿌리를 형성하기 때문에 배우체로부터 독립적으로 성장함으로써 양치식물의 생활환이 완성하게 된다(박 등, 2008; Sadava, 2010).

양치식물은 현화식물에 비하여 염기서열에 의한 동정의 기반이 중요하다. 그 이유는 우리가 흔히 관찰하는 양치식물과 전혀 다른 모양으로 자라는 배우체와 독립배우자체가 있기 때문이다. 배우체란 포자가 발아하여 생기는 심장형 모양으로 자라는 것을 말하며 형태적으로는 식별이 어렵다 (박 등, 2008). 일본에서는 자국 내 자생하는 733종의 배우체를 식별하기 위해 염기서열에 의한 연구가 진행되어 85%의 동정율을 기록하였다(Ebihara 등, 2010). 독립배우자체란 보통 포자체가 나온 후 배우체는 소멸하는데 배우체에서 포자체로 성장하지 못하고 무성번식을 함으로써 생육하며 선대식물과 비슷한 형태로 자라는 것을 말

한다(모란, 2004). 독립배우자체는 포자체와는 전혀 다른 형태로 자라기 때문에 독립배우자체인 *Trichomanes intricatum*는 염기서열에 의해 동정한 결과 *Crepidomanes schridtianum* (두메괴불이끼)와 동일한 엽록체 DNA를 가졌음을 밝힌 연구가 있다 (Ebihara 등, 2008).

우리나라의 양치식물의 염기서열에 의한 연구는 솔잎난 (국립생물자원관, 2009), 제주고사리삼(선 등, 2009) 등 특정종의 염기서열 분석에 한하여 있고 universal primer에 의한 동정 또한 거의 전무한 실정이다. 본 연구를 통하여 우리나라 양치식물에 적합한 trnL-L, trnL-F 지역의 universal primer와 추가적인 primer를 제시하고, 동백동산에 자생하는 26종의 양치식물을 염기서열에 의해 재동정하여 이 primer set의 효용성을 테스트하고자 이 연구를 시행하게 되었다.

II. 연구사

한국에서의 양치식물은 1956년 한국식물도감 하권에 167종이 기록되었으며(정, 1956), 1961년 한국양치식물지에 한국에서 발견된 양치식물 23과 68속 243종 34변종 4품종 281분류군을 정리하였다(박, 1961). 이후 한국동식물도감에 23과 71속 240종 28변종 4품종 총 272분류군(박, 1975)을 집대성하였고, 331종을 수록한 컬러 도감인 한국양치식물도감이 편찬되었다(한국양치식물연구회, 2005). 또한 한국식물 도해도감 양치식물 편에서는 우리나라에서 자생이 확인된 종만 21과 80속 243종 1아종 14변종 258분류군이 수록되었다(김 등, 2008). 그 후 문헌 등에 기록은 되어있으나 최근 분포정보가 확인된 보태면마(선 등, 2012), 꿩고사리 등과 새롭게 미기록으로 발표된 솔잎고사리(손 등, 2013), 층층지네고사리(이 등, 2013) 등을 포함하여 300여 분류군이 자생한다고 알려져 있다.

제주 양치식물의 첫 연구는 일본인과 서구학자에 의해 이루어 졌다. 일본의 Nakai(1914)는 Faurie와 Taquet의 표본을 재검토하고 Nakai가 직접 채집한 표본을 인용하여 제주양치식물목록을 144분류군의 분포를 밝혔다(Nakai, 1914). 또한 프랑스인 Faurie와 Taquet 신부는 제주도의 양치식물을 채집하여 연구자료로 제공하였다(Park, 1975). 김(1992)은 제주 양치식물목록 229분류군을 정리하였고, 최근 한국식물 도해도감 양치식물 편에서 206종의 분포 지역을 제주로 제시하였다(김 등, 2008). 이후 문(2007)은 제주에서 채집되어 제주대학교표본관, 난대산림연구소표본실, 전북대학교표본관, 동경대학교표본관에 보

관된 양치식물 표본을 검토하고 현장조사를 통하여 162분류군을 제시하였다. 그 후 한대성 북방계 양치식물으로써 제주 미기록인 한들고사리가 자생이 확인되었고(문 등, 2011), 큰쇠고사리(이 등, 2015)가 추가되었다. 또한 최근 미기록 종으로 발표된 오름깃고사리(문 등, 2014), 숲고사리삼(이와 김, 2012), 깃주름고사리(이 등, 2014) 등을 포함되었다. 따라서 제주에서 자생하고 있는 양치식물은 현재 총 200여 종 이상으로 보고 있다. 이는 우리나라 양치식물의 약 70%~80%에 해당하며 남한 면적의 약 2% 크기인 제주도에서는 상대적으로 많은 종류의 양치식물이 분포하고 있다고 할 수 있다. 제주도는 기후가 온난하고 한라산으로 인한 한대성 환경조건과 화산섬이 갖는 지형 지질이 양치식물의 종을 다양하게 하는 요인으로 평가 되고 있다(김 등, 2006).

동백동산의 양치식물은 2005년 조사한 동백동산 용수저수지에서 식물상 부문 73과 138속 166종 중 양치식물은 12종이 제시되었다(김 등, 2005). 또한 제주고사리삼 자생지의 환경 및 식물상에서 61과 112속 147종 중 양치식물은 11종이 조사되었다(현 등, 2010). 그 후 2012 습지보호구역정밀조사에서 조사된 식물상 100과 263속 373종 40변종 4품종 중 양치식물 26종이 보고되었다(김과 최, 2012).

Ⅲ 재료 및 방법

1. 조사지역

제주특별자치도 제주시 조천읍 선흘리에 소재한 선흘곶 중 0.590km² 면적의 먼물각 일대를 일컫는 동백동산의 양치식물을 조사하였다. 이 지역은 서검은오름에서 시작된 용암이 선흘 분교 동쪽으로 펼쳐져 생겨난 해발고도 92~147m에 경사 15° 내외의 비교적 완만하다. 2002년부터 2011년 까지 연평균강수량은 2,541mm/년으로 우리나라 연평균강수량 1,250mm/년과 비교할 때 전국 최대 다우지라고 볼 수 있으며, 연평균기온은 15.5℃로 고온 다습하다 (손과 장, 2012). 따라서 상록 활엽수림이 가장 발달하였고 지하수 함양율이 높으며 북방계식물과 남방계식물이 공존하여 생물다양성이 매우 풍부하기 (제주녹색환경지원센터, 2012) 때문에 양치식물 조사지역으로 선정하였다.

2. 표본 및 시료채집

조사 지역에서의 양치식물은 공식적으로 보고된 습지보호지역 정밀조사 동백동산편에서 제시된 양치식물 26종 (김과 최, 2012)을 재조사하여 채집하였다. 채집은 동백동산 습지보호지역의 탐방로와 목장길을 따라 9월 4일부터 11월 3일 까지 실시하였다. 본 조사에서 양치식물 26종 중 채집하지 못한 족제비고사리는 서귀포 제지기오름, 밤일엽은 화순곶자왈, 늦고사리삼은 교래 자연휴양림, 가지고비고사리는 제주시 정실마을 영이물교 부근에서 채집하였다.

표본은 채집날짜와 종명을 기입하여 신문지에 압착 건조하고 친환경연구센터 표본실에 보관하였다. 도깨비쇠고비나 고비 등 근경이 발달하여 압착이 불가능한 종들은 엽신만 표본으로 보관하였다. 채집한 양치식물은 식물의 표본과 특징을 촬영한 사진을 한국양치식물도감과 한국식물도해도감을 참고하여 동정하고 국가표준식물목록(2007)의 체계를 따라 분류하였다.

조사지역 양치 식물의 DNA 추출을 위하여 양치식물부위는 중축과 포자를 제외한 엽신을 5g정도 채취하여 지퍼백에 담아 냉동 보관하였다.

3. 채집한 식물의 total DNA추출

채집한 식물의 DNA는 MN사의 NucleoSpin Plant II 키트를 사용하여 추출하였다. 멸균한 막자 사발에 식물 시료를 넣고 액체 질소로 시료를 냉동한 후 분쇄하고 1.5mL Micro tube에 0.05g 넣었다. PL1 Buffer (Lysis buffer)를 400 μ l 넣고 Vortex한 후 RNA를 분해하는 RNase A를 10 μ l 넣고 섞었다. 이 현탁액을 65° C 배양기에서 12h 동안 배양하면서 3~4회 Vortex를 이용하여 섞어 주었다. NucleoSpin Filter를 새로운 Collection tube에 끼우고 용해된 산물을 column에 넣고 11000 \times g (RCF)에서 2분간 원심분리해서 필터링된 용액을 모으고 NucleoSpin Filter를 제거하였다. PC buffer (Binding buffer)를 450 μ l 넣고 가볍게 섞어 주었다. NucleoSpin Plant II Column을 새로운 Collection tube에 끼워 넣은 후 sample을 700 μ l 옮겨 담고 11,000 \times g (RCF)에서 1분간 원심분리한 후 필터링된 용액을 제거하였다. Pw1 buffer (washing buffer)를 400 μ l를 NucleoSpin Plant II Column에 넣고 11000 \times g(RCF)에서 1분간 원심분리한다.

후 필터링된 용액을 제거하였다. Pw2 buffer를NecleoSpin Plant II Column에 700 μ l 넣고 11,000 \times g(RCF)에서 1분간 원심분리한 후 필터링된 용액을 제거하였다. Pw2 buffer를 NecleoSpin Plant II Column에 200 μ l 넣고 11000 \times g(RCF)에서 2분간 원심분리하고 필터링된 용액을 제거하였다. NecleoSpin Plant II Column을 새로운 1.5mL Micro tube에 끼워 넣은 후 silica membrane 을 60 $^{\circ}$ C 건조기 (INCUDIGIT, 2001249, SPAIN)에서 10~15min 동안 건조시키고 상온에서 30min 이상 건조시켰다. PE buffer (Iluction buffer) 50 μ l를 NecleoSpin Plant II Column에 주입하였다. 그 후 남은 buffer와 Column을 65 $^{\circ}$ C 에서 5min 동안 배양한 후 11,000 \times g (RCF)에서 1min 동안 원심분리하였다. 마지막으로 PE buffer 50 μ l 넣고 65 $^{\circ}$ C 에서 5min 동안 용리시킨 후 11,000 \times g (RCF)에서 1min 동안 원심 분리하였다.

4. 추출한 DNA의 농도측정

추출한 양치식물의 DNA는 감광시험장에 의뢰하여 가시광선분광광도계 (Nanodrop us nd-2000, USA)를 사용하여 농도를 측정하였다. PE buffer를 control로 하여 DNA neucleotid를 설정하였다. 그 후 추출한 DNA를 2 μ l씩 넣어 DNA농도를 측정하였다. 측정한 DNA농도는 3반복 후 평균 낸 값을 사용하였다.

5. 전기영동(Electrophoresis)

추출된 양치식물의 DNA는 전기 영동을 통해 확인하였다. 전기영동은 50 mL TAE buffer를 삼각플라스크에 붓고 0.5g agarose를 넣은 후 천천히 돌리면서 섞었다. 그 후 전자렌지에 1min 동안 가열하고 1% ethidium bromide (EtBr)를 첨가하였다. Agarose gel을 gel plate에 붓고 30min 이상 굳힌 후 TAE buffer가 담긴 전기영동기 (AC100-240V, JAPAN)에 잠기게 넣었다. 한편 Loading Dye가 첨가된 Total DNA를 agarose gel에 삽입하여 50V에서 60분간 전기영동 시켰다. 그 후 agarose gel을 UV Transilluminator에 올려놓고 DNA밴드를 확인하였다.

6. 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)

채집된 양치 식물의 DNA 분석을 통해 동정하기 위하여 채취한 식물DNA의 특정 부위를 중합효소연쇄반응을 통하여 증폭하였다. 양치식물의 DNA의 특정 부위는 universal primer c (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3')와 d (5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3')(Pierre 등, 1991)를 이용하여 증폭하였다. 그 중 염기단편을 형성하지 못한 족제비고사리, 돌토끼고사리, 꼬리고사리는 e(5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3')와 f(5' -ATTTGAACTGGTGA CACGAG-3')을 이용하여 증폭하였다(Pierre 등 3, 1991) 선바위고사리와 콩짜개덩굴은 1FN(5'-ATGT CACCACAAACRGAGACTAAAGC-3')과 1361R(5' -TCAGGACTCCACTTA CTAGCTTCACG-3')을 이용하였고 석위는 fern-1(5'-GGCAGCCCCCARATTCAG GGRAACC-3')과 f(5'-ATTTGA

ACTGGT GACACGAG-3')를 이용하여 증폭하였다(Groot, 2007). 각각의 양치 식물 DNA 1 μ l, 각각의 primer 2.5 μ l, 10 \times buffer 2.5 μ l, dNTP 2.5 μ l, DMSO 0.25 μ l, Teq polymerase (iNtRON BioTechnology Inc., Seoul, Korea) 2.5 μ l에 나머지는 3차 증류수 채워 Total Volume 25 μ l로 cocktail을 제작하였다.

혼합된 PCR cocktail은 PCR Thermal cycler Dice TP600 (TaKaRa, japan)을 사용하여 95 $^{\circ}$ C에서 5min동안 fredenature 후, 95 $^{\circ}$ C에서 30sec, 50 $^{\circ}$ C에서 30sec, 72 $^{\circ}$ C에서 1min 동안 처리하여 총 35cycle 반복 후 72 $^{\circ}$ C에서 10min 동안 처리하여 DNA를 증폭하였다. 증폭된 DNA는 1.2% agarose gel에서 전기영동을 통하여 DNA 증폭 유무를 확인 하였다.

DNA sequence는 분석전문업체인 Macrogen에 의뢰하여 분석하였고 분석된 자료는 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 홈페이지의 Basic Local Alignment Search Tool (Blast; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 이미 등록된 양치식물의 염기서열과 상동성을 비교하여 동정하였다.

IV. 결과 및 고찰

1. 동백동산에서 채집한 양치 식물

동백동산에서 채집된 양치식물은 22종으로 확인되었다(Table 1). 제주도 저지대에서 주로 발견되는 검정개관중과 큰개관중이 탐방로 외에 집단적으로 발견되었고 세계적으로 속(genus)자체가 우리나라에만 분포하는 특산 식물인 제주고사리삼은 펜스를 설치한 지역 외에는 작년에 비해 개체수가 확연히 줄어들어 있었다. 이들은 주로 강우시 물이 고였다가 보통 일주일 내에 물이 마르는 소택지에 생육한다고 알려져 있다(이 등, 2012). 자생지가 외부에 알려지면서 탐방과 불법채집 등에 의해 주변 환경의 변화에 취약한 이들의 훼손이 가속화된다고 보고되었다(현 등, 2010).

Table 1. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan

국명	영명	학명
제주고사리삼	Erect sword Fern, Ladder Fern,	<i>Mankyua chejuense</i> B.Y.sun,M.H.Kim &C.H. Kim
나도고사리삼	adder's-tongue	<i>Ophioglossum vulgatum</i> L.
고비	royal fern	<i>Osmunda japonica</i> Thunb.
실고사리	Japanese climbing fern	<i>Lygodium japonicum</i> (Thunb.)C.Presl
돌토끼고사리	Lace Fern	<i>Mycrolepia strigosa</i> (Thunb.)C.Presl
고사리	Bracken fern	<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>Latiusculum</i> (Desv.) Underw. ex Heller
선바위고사리	Claw fern	<i>Onychium japonicum</i> (Thunb.) Kunze
봉의꼬리	spider brake	<i>Pteris multifida</i> Poir.
꼬리고사리		<i>Asplenium incisum</i> Thunb.
도깨비쇠고비	olly Fern, Japanese holly fern	<i>Cyrtomium falcatum</i> (L.f.)Presl
쇠고비		<i>Cyrtomium fortunei</i> J.Sm.
더부사리고사리		<i>Polystichum lepidocaulon</i> (Hook.)J.Sm.
십자고사리		<i>Polystichum tripterum</i> (Kunze)C.Presl
검정개관중	Korean rock fern	<i>Polystichum tsus_simense</i> (Hook.)J.Sm.
큰개관중		<i>Polystichum mayebarae</i> Tagawa
가는쇠고사리	East Indian holly fern	<i>Arachniodes aristata</i> (G.Forst.)Tindale
산족제비고사리		<i>Dryopteris bissetiana</i> (Baker) C.Chr.
홍지네고사리	autumn fern, Japanese wood fern, copper shield fern	<i>Dryopteris erythrosora</i> (D.c.Eaton) Kuntze
콩짜개덩굴		<i>Lemmaphyllum microphyllum</i> C.presl
별고사리		<i>Thelypteris acuminata</i> (Houtt.)C.V. Morton
석위	Tongue Fern, Japanese Felt Fern	<i>Purrosia lingua</i> (Thunb.)Farw.
일엽초		<i>Lepisorus thunbergianus</i> (Kaulf.)Ching

2. 다른 자생지에서 채집한 양치식물

습지보호지역정밀조사 (김과 최, 2012)에 따른 동백동산에서 자생하는 양치식물 26종 중에서 본 조사기간 중 동백동산에서 발견되지 않은 양치식물은 늦고사리삼, 족제비고사리, 밤일엽, 가지고비고사리 4종이 포함되어 있었다. 늦고사리삼은 일반적으로 혼합 낙엽수림대에서 자라는 종(Kovas 등, 2007)으로 교래리 자연휴양림에서 추가로 채집하였다. 족제비고사리는 제주 남부 서귀포지역의 개울가 습한 곳과 낮은 산지의 습한 숲 속에서 관찰되는 종으로(이와 박, 2015) 서귀포시 제지기오름에서 발견되었다. 밤일엽은 동쪽 꽃자왈 지대보다 건조한 제주도 서쪽지역에서 많이 관찰되는 종(송, 2007)으로 서귀포시 화순꽃자왈에서 발견되었다. 가지고비고사리는 산지의 숲 속에서 관찰되는 종으로 (생물종지식 정보시스템) 제주도 정실마을 영이물교 부근에서 채집하였다.

Table 2. Pteridophyta collected from the other site of Dongbaekdongsan

국명	영문명	학명	채집한 장소
늦고사리삼	Rattle snake Fern	<i>Botrychium virginianum</i> (L.) Sw	교래리 자연휴양림
가지고비고사 리	Bamboo Fern	<i>Coniogramme japonica</i> (Thunb.)Diels	정실 영이물교 부근
족제비고사리		<i>Dryopteris varia</i> (L.) Kuntze	서귀포시 제지기오름
밤일엽		<i>Neocheiropteris ensata</i> (Thunb.) Ching	서귀포시 화순곶자왈

3. 채집한 양치식물의 특성

본 연구에서 채집된 양치식물의 각각 특징은 다음과 같다.

1) 제주고사리삼 (*Mankuua chejuense* B.Y.sun, M.H.Kim & C.H.Kim)

근경은 옆으로 뻗으며 분지한다. 공통병은 초록색으로 육질이며 털이 없다. 영양엽은 공통병에 수직으로 붙고, 3출엽으로 1개 혹은 2개의 소엽이 다시 둘로 갈라져 4엽이나 5엽으로 보여진다. 각 소엽은 길이 2.5cm, 너비 1.2cm 정도로 장타원형이고 가장자리에 예거치가 있으며, 약 2mm 정도의 짧은 자루가 있고 앞뒷면에 털이 없으며 엽맥은 유리한다. 포자엽은 소엽의 기부에서 수직으로 나오고 길이 1-1.5cm 정도로 엽병이 거의 없거나 1mm 이하이다. 포자낭수는 선형이며 가끔 2-3개로 갈라지기도 한다. 포자낭은 두툼한 조직에 묻혀 2줄로 배열된다(Fig. 1A).

2) 나도고사리삼 (*Ophioglossum vulgatum* L.)

하록성이며 매년 잎이 1개씩 나온다. 영양엽은 엽병이 없으며 난형 또는 심장형으로 끝이 둔하고 밑부분이 갑자기 좁아져 포자엽의 엽병을 반쯤 감싸고 엽맥은 망상맥을 이룬다. 포자엽은 길이 10-20cm로 영양엽보다 높이 자란다. 포자낭수는 길이 3cm내외이다. 포자는 6월에 성숙하며 곁에 망상맥이 발달하기 때문에 가장자리에 돌기가 있는 것처럼 보인다(Fig. 1B).

3) 늦고사리삼 (*Botrychium virginianum*(L.) Sw)

근경은 짧고 직립하며 여러 개의 다육질 뿌리가 나선상으로 나온다.

공통병은 길이 15-30cm로 털이 거의 없다. 영양엽은 길이와 너비가 30cm 내외로 엽병이 없고 넓은 오각형이며 3-4회 우상으로 가늘게 갈라진다. 뒷면의 맥 위에 흰털이 드문드문 있다. 우편은 장타원형 혹은 선상 피침형이고 소우편에 자루가 있다. 열편은 가장자리가 깊게 갈라지거나 뚜렷한 톱니가 있고 예두이다. 포자엽은 영양엽 기부에서 곧추 자라고, 길이 10-30cm로 5-6월에 포자가 형성된다. 포자낭수는 3-4회 우상으로 갈라지며 원추상으로 포자낭이 붙는다. 동백동산에서는 조사기간 중 관찰되지 않아 교래리 자연휴양림에서 채집하였다 (Fig. 1C).



Fig. 1. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 제주고사리삼(*Mankuua chejuense* B.Y.sun,M.H.Kim &C.H.Kim) (A,A-1) ,나도고사리삼 (*Ophioglossum vulgatum* L.) (B,B-1,B-2), 늦고사리삼(*Botrychium virginianum*(L.)Sw) (C,C-1,C-2)

4) 고비(*Osmunda japonica* Thunb.)

하록성이다. 근경은 굵고 비스듬히 선다. 어린잎에는 적갈색의 솜털이 많으며 잎이 전개된 다음에 솜털이 없어 진다. 엽병은 길이 20-50cm이고 기부에 가까이 양쪽에 날개가 달린다. 영양엽은 난형에서 삼각상 난형으로 2회 우상 복엽으로 털이 없다. 소우편에는 자루가 없고 가장자리에 잔 톱니가 있다. 포자엽은 영양엽이 둘러싼 가운데에 자리하며, 우편은 길이 5-15cm이다. 소우편은 길이 1-3cm로 소우측 양쪽에 포자낭이 뺨뺨이 붙고 포자를 산포한 후 없어진다(Fig. 2A).

5) 실고사리(*Lygodium japonicum*(Thunb.)Sw)

하록성이다. 엽병은 원줄기처럼 되어 다른 물체를 감싸 올라가면서 길이 2m 내외로 자라며 잎처럼 보이는 우편이 호생한다. 소우편은 3출상이며 2-3회 우상으로 갈라지고 열편 가장자리에 톱니가 있으며 성긴 털이 있다. 열편은 길게 자라서 뒷면 가장자리에 포자낭군이 달리고 포자낭군이 많이 달린 열편은 더욱 잘게 갈라진다(Fig. 2B).

6) 돌토끼고사리 (*Mycrolepia strigosa*(Thunb.)C.Presl)

상록성이다. 위쪽은 털이 드문드문 있으며, 기부에는 연갈색인 피침형 털이 많다. 엽신은 2회 우상복엽이며, 장타원상 피침형이다. 중축의 뒷면에는 털이 드문드문 있고 표면에는 곬이 있으며 털이 거의 없다. 열편은 치아상 거치가 있고, 뒷면의 엽맥은 튀어 나오며 측맥은 가장자리까지 이어진다. 포자낭군은 열편의 가장자리를 따라 달리고 포막은 지름 0.5-0.8mm로 반타원형이다(Fig. 2C).

7) 고사리 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw.ex A. Heller)

하록성이다. 근경은 옆으로 뻗으며 군데군데 잎이 하나씩 나온다. 엽병은 벗짚색 또는 연녹색이며, 엽은 갈색 털이 밀생한다. 엽신은 삼각상 난형이며 3회 우상으로 갈라진다. 엽질은 단단한 종이질 이며 뒷면은 앞면보다 색이 연하고 털이 약간 있다. 중축은 연한 녹색으로 앞면에 홈이 있다. 최하우편은 삼각상 난형이며, 다른 우편보다 크다. 포자낭군은 8-10월에 잎 가장자리를 따라 연속적으로 붙고 열편의 가장자리가 뒤로 말려 생긴 위포막으로 덮인다(Fig. 2D).



Fig. 2. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 고비 (*Osmunda japonica* Thunb.) (A, A-1) 실고사리 (*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw) (B, B-1), 돌토끼고사리 (*Mycrolepia strigosa* (Thunb.) C. Presl) (C, C-1, C-2), 고사리 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex Heller) (D, D-1)

8) 가지고비고사리 (*Coniogramme japonica* (Thunb.) Diels)

상록성이다. 근경은 옆으로 뻗는다. 엽병은 연한 녹색 또는 벗집색이며 등쪽이 진한 갈색을 띠기도 한다. 엽병 기부에 갈색 피침형 인편이 붙는다. 엽신은 장란형 또는 광란형이며 위 쪽은 단우상, 아래쪽은 2 회 우상복엽을 이루며 측우편과 비슷한 정우편이 있다. 잎 가장자리에 세거치가 있고 엽맥은 중륵 근처에서 망상맥을 이루며 측맥은 끝이 잎 가장자리에 이르지 못한다. 포자낭군은 엽맥을 따라 길게 붙으며 잎 가장자리에 이르지 못한다. 이번 조사에서 관찰되지 않아 제주시 정실마을 영이물교 부근에서 채집하였다(Fig. 3A).

9) 선바위고사리 (*Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze)

상록성이다. 근경은 길게 기고 잎이 드문드문 붙는다. 인편은 길이 적갈색이며 피침형이고 막질이다. 엽병은 2형으로 영양엽보다 포자엽이 길게 나오고 포자엽은 가늘며 미끄럽고 윗면에 보랏빛이 도는 갈색의 줄이 생긴다. 엽신은 2형이며 장타원상 피침형으로 3-4회 우상복엽이다. 영양엽은 포자엽보다 짧고 덜 갈라진다. 우편은 가늘고 자루가 있으며 끝이 뾰족하다. 포자낭군은 선형 또는 장타원형이고 소우편 끝을 제외한 양쪽 가장자리 전체에 붙고 얇은 위포막으로 덮인다(Fig. 3B).

10) 봉의꼬리 (*Pteris multifida* Poir.)

상록성이다. 근경은 짧게 뻗는다. 엽병 상부는 연녹색, 하부는 암갈색으로 단편이 삼각형이다. 엽신은 난상 장타원형으로 2형이며 중축 상부에 뚜렷한 날

개가 있다. 1-2회 우상복엽이고 포자낭균이 없는 부위와 영양엽에는 얇은 톱니가 있으며 영양엽의 소맥은 잎 가장자리까지 이르지 못한다. 포자낭균은 선형이며, 우편의 가장자리를 따라 길게 붙는다(Fig. 3C).

11) 꼬리고사리(*Asplenium incisum* Thunb.)

상록성이다. 근경은 짧고 비스듬히 서며, 잎은 총생한다. 근경의 인편은 넓은 선형으로 흑갈색이며 막질이며 가장자리가 밋밋하다. 엽병은 영양엽의 경우 표면에 골이 있다. 포자엽의 경우 하반부가 적갈색이며, 상반부는 녹색이다. 기부 인편은 회갈색이며 피침형이다. 엽신은 1-2회 우상복엽이고, 초질이며, 도피침형으로 중앙 이하로 갈수록 점차적으로 좁아진다. 엽형은 2형으로 영양엽은 장타원상 피침형이며, 1-2회 우상으로 갈라지고 최하우편은 난상피침형이다. 포자엽은 장타원상 피침형이고 2-3회 우상으로 갈라진다. 포자낭균은 장타원형으로 중륵 가까이에 2줄로 달린다. 포막의 길이는 1-2 mm이다(



Fig. 3. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 가지고비고사리 (*Coniogramme japonica* (Thunb.) Diels) (A,A-1,A-2), 선바위고사리 (*Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze) (B,B-1) 봉의꼬리 (*Pteris multifida* Poir.) (C,C-1,) 꼬리고사리 (*Asplenium incisum* Thunb.) (D,D-1)

12) 도깨비쇠고비(*Cyrtomium falcatum* (L.f.) Presl)

상록성이다. 근경은 직립하며 덩어리진다. 엽병에는 난상피침형인 흑갈색 인편이 밀생하며 위로 갈수록 선형에 가깝게 된다. 엽신은 장타원형이고 1회우상복엽이고 정우편이 확실하다. 우편은 가죽질이며 광택이 있고 가장자리는 매끈하거나 둔한 톱니가 있으며 선단부는 톱니가 없으며 기부는 둥글다. 포자낭군은 우편 뒷면에 흩어져 분포한다. 포막은 지름이 0.6-1.6mm이고 중앙부가 흑색인 것이 보통이다(Fig. 4A).

13) 쇠고비(*Cyrtomium fortunei* J.Sm.)

상록성이다. 근경은 직립하며 덩어리진다. 엽병은 장타원상의 흑갈색 인편이 밀생하며 위로 갈수록 선형에 가깝게 된다. 엽신은 장타원형으로 1회 우상복엽이고 정우편이 확실하다. 우편은 15-30쌍으로 피침형이고 폭은 3cm이하이고 종이질이며 광택이 없다. 가장자리에서 선단부까지 불규칙하게 발달한 톱니가 있다. 포자낭군은 우편 뒷면에 흩어져 분포한다. 포막은 지름 0.5-1.3cm이고 회백색이다(Fig. 4B).

14) 더부사리고사리(*Polystichum lepidocaulon*(Hook.)J.Sm.),

상록성이다. 근경은 짧고 덩어리지며 비스듬히 또는 직립한다. 엽병에는 인편이 바짝 달라붙어 밀생한다. 엽신은 1회 우상 복엽이다. 중축이 길게 뻗어 끝에 무성아가 붙는다. 포자낭군은 우측의 양쪽에 1-3열로 붙고, 포막은 작고 일찍 떨어져 관찰하기 어렵다(Fig. 4C).



Fig. 4. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 도깨비쇠고비 (*Cyrtomium falcatum* (L.f.) Presl) (A, A-1), 쇠고비 (*Cyrtomium fortunei* J.Sm.) (B, B-1), 더부사리고사리 (*Polystichum lepidocaulon* (Hook.) J.Sm.) (C, C-1)

15) 십자고사리 (*Polystichum tripteron* (Kunze) C. Presl)

상록성 또는 하록성이다. 근경은 짧고 직립하거나 옆으로 긴다. 엽병의 인편은 축에 바짝 달라붙고 가장자리에 털이 없으며 쉽게 떨어진다. 엽신은 50cm 이하의 초질로 1회 우상복엽이다. 우측 뒷면에 붙는 인편은 비교적 오래 남는다. 포자낭군은 소우편에 흩어져나고 포막은 일찍 떨어진다(Fig. 5A).

16) 검정개관중 (*Polystichum tsus-simense* (Hook.) J. Sm.)

상록성이다. 근경은 짧고 비스듬히 선다. 엽병은 길이 30cm에 달하며 엽신과 거의 길이가 같다. 기부 인편은 피침형으로 중심부는 흑색을 띠는 갈색이며 가장자리에 털 같은 돌기가 있다. 엽신은 피침형이며 2회 우상복엽이다. 우편의 기부는 귀처럼 튀어나오고 소우편의 끝은 가시처럼 된다. 포자낭군은 엽신의 아래 중앙부터 붙고 포막은 중심부가 짙은 갈색으로 된다(Fig. 5B).

17) 큰개관중 (*Polystichum mayebarae* Tagawa)

상록성이다. 근경은 짧고 비스듬히 선다. 엽병은 20cm내외로 엽신보다 약간 짧은 편이고 인편은 갈색으로 피침형과 선형이 섞여있다. 엽신은 길이 40cm 내외이고 광피침형으로 2회 우상복엽이다. 우편은 너비 2cm에 달하고 우측의 바깥쪽 반 부터는 소우편의 기부가 축에 넓게 붙는다(Fig. 5C).

18) 가는쇠고사리 (*Arachniodes aristata* (G. Forst.) Tindale)

상록성이다. 근경은 옆으로 길게 뻗는다. 엽병에는 갈색-적갈색 피침형 인편이 밀포되며 엽병상부로 갈수록 수가 적어진다. 엽신은 난상타원형으로 2-

3회 이상복엽이다. 최하우편의 아래쪽 소우편이 크게 발달하고 잎 가장자리에는 예거치가 있다. 측우편은 5-6쌍이 있고 그 위쪽 측우편은 갑자기 짧아져서 정우편을 뚜렷이 나타낸다. 포자낭군은 열편의 중륵 가까이 붙는다(Fig. 5D).



Fig. 5. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 십자고사리 (*Polystichum tripteron* (Kunze)C.Presl) (A, A-1), 검정개관중 (*Polystichum tsus_simense*(Hook.)J.Sm.) (B,B-1),큰개관중 (*Polystichum mayebarae* Tagawa) (C,C-1), 가는쇠고사리 (*Arachniodes aristata*(G.Forst.)Tindale) (D,D-1)

19) 족제비고사리 (*Dryopteris varia*(L.) Kuntze)

상록성이다. 근경은 짧고 비스듬히 서며 덩어리진다. 엽병에는 적갈색-흑갈색의 인편이 밀생하며 끝은 실처럼 가늘어진다. 엽신은 광란형-오각상난형이고 3회우상 중열-심열 하거나 하부 우편의 열편이 끝까지 갈라져 3회 우상복엽을 가진다. 상부우편은 갑자기 좁아져 꼬리처럼 되고 최하우편의 하향 제1 소우편은 다른 소우편들에 비해 크다. 중축과 우축의 인편은 기부가 주머니모양으로 되지 않고 끝은 실처럼 가늘어지며 소우축에는 기부가 주머니모양인 작은 인편들이 있다. 포자낭군은 소우편의 중간에 붙고 크기가 큰 편이다. 동백동산에서는 조사기간 중 관찰되지 않아 서귀포시 제지기오름에서 채집하였다(Fig. 6A).

19) 산족제비고사리 (*Dryopteris bissetiana* (Baker)C.Chr.)

상록성이다. 근경은 짧고 비스듬히 서며 덩어리져 잎이 총생한다. 엽병 기부에 갈색-흑색의 인편이 밀생하고 피침형이며 끝이 실처럼 가늘어진다. 엽신은 난상 장타원형이고 3회 우상복엽을 가진다. 우축에는 주머니모양의 인편이 밀생하며 최하우편의 하향 제1소우편은 다른 소우편에 비해 크다. 소우편은 약간 뒤로 말리며 톱니가 없다. 포자낭군은 중륜과 가장자리 중간에 위치하며 약간 대형이고 포막도 큰 편이다(Fig. 6B).

20) 홍지네고사리 (*Dryopteris erythrosora* (D.c.Eaton) Kuntze)

상록성이다. 근경은 짧고 굵으며 비스듬히 선다. 엽병에는 갈색, 흑갈색의 인편이 많이 붙고 잘 떨어지는 편이다. 엽신은 2회 우상복엽이고 장타원형이다. 우축에는 주머니상 인편이 밀생하고 엽질은 종이질로 표면에 광택이 있다.

하부 우편의 제1소우편은 제2소우편에 비해 1/2가량으로 축소된다. 새 잎이 나올 때 홍색을 띤다. 포막은 어릴 때 홍색이지만 회백색을 띄기도 한다(Fig. 6C).

21) 콩짜개덩굴 (*Lemmaphyllum microphyllum* C.presl)

상록성이다. 근경은 길게 가늘고 길게 뻗으며 성기게 잎이 달리며 인편은 갈색이고 막질이며 기부는 원형이나 윗부분은 좁아진다. 영양엽의 엽신은 원형 또는 광타원형으로 혁질로 두껍고 녹색이며 털이 없다. 포자엽은 넓은 선형으로 끝이 원두이며 기부는 점차 좁아져서 잎자루에 이른다. 포자낭군은 중륜의 양쪽에 선형으로 붙고 익으면 잎 뒷면 전체를 덮고 포막은 없다(Fig. 6D).



Fig. 6. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 족제비고사리 (*Dryopteris varia*(L.) Kuntze) (A,A-1,A-2)) 산족제비고사리(*Dryopteris bissetiana* (Baker) C.Chr.) (B,B-1,B-2)) 홍지네고사리 (*Dryopteris erythrosora*(D.c.Eaton) Kuntze) (C,C-1,C-2)) 콩짜개덩굴 (*Lemmaphyllum microphyllum* C.presl) (D,D-1,D-2)

22) 별고사리(*Thelypteris acuminata* (Houtt.) Morton)

상록성이다. 근경은 길게 옆으로 포복하고 잎이 성기게 붙으며 피침형인 갈색인편이 붙는다. 엽병은 벗짚색이며 털은 조락성으로 오래된 것은 거의 나출된다. 엽신은 광피침형으로 2회 우상 중열되고 기부는 좁아지지 않으며 측우편과 동일한 정우편이 있다. 우편의 기부는 절형이며 열편은 삼각상 장타원형이고 열편의 제1측맥이 옆의 열편 제1 측맥과 연결되어 결각 부위로 연장되며 이 연장선에 제2, 제3 측맥이 연결된다. 포자낭군은 둥글며 열편의 가장자리와 중륵의 중간 또는 약간 가장자리에 치우쳐 위치하고 옆의 것과 붙기도 한다. 포막은 원신형으로 털이 있다(Fig. 7A).

23) 석위 (*Purrosia lingua* (Thunb.) Farwell)

상록성이다. 근경은 길게 포복하며 인편은 선상 피침형으로 연한갈색 또는 갈색이며 압착되어 있다. 엽신은 광피침형으로 뒷면에 회색 성상모가 밀포되어 있다. 포자낭군은 원형으로 중륵을 제외한 잎 전체에 서로 근접해 붙고 포막은 없다(Fig. 7B).

24) 일엽초 (*Lepisorus thunbergianus* (Kaulf.) Ching)

상록성이다. 근경은 길게 포복한다. 인편은 2색성으로 중앙부가 짙은색으로 불투명하고 가장자리 쪽으로 색이 연하여 투명하게 보이며 난상 피침형이다. 엽신은 혁질로 선형 또는 넓은 선형이며 끝은 점차 예침두로 되며 기부는 서서히 좁아져서 엽병에 이른다. 표면은 녹색이며 뒷면은 담녹색이다. 하반부는 중륵을 따라 난형의 인편이 있다. 포자낭군 몇 개가 엽신의 위쪽에 2열로 붙으며 원

형으로 크며 익으면 서로 접근되어 붙기도 한다(Fig. 7C).

25) 밤일엽 (*Neocheiropteris ensata*(Thunb.) Ching)

상록성이다. 근경은 길게 포복하며 성기게 잎이 붙고 인편은 삼각상피침형으로 막질이다. 엽병은 대개 엽신보다 짧고 기부근처에 인편이 모여 난다. 엽신은 피침형 또는 광 피침형으로 끝이 뾰족하며 대개는 중앙하부가 제일 넓고 기부는 좁아져서 엽병에 흐른다. 가장자리는 밋밋하며 파상이고 초질이다. 포자낭군은 중륵 가까이에 양쪽 1열로 배열된다. 동백동산에서는 조사기간 중 관찰되지 않아 서귀포시 화순곶자왈에서 채집하였다(Fig. 7D).



Fig. 7. Pteridophyta collected from Dongbaekdongsan and other habitats during. 별고사리 (*Thelypteris acuminata* (Houtt.) Morton) (A,A-1), 석위 (*Purrosia lingua* (Thunb.) Farwell) (B,B-1), 일엽초 (*Lepisorus thunbergianus* (Kaulf.) Ching) (C,C-1), 밤일엽 (*Neocheiropteris ensata* (Thunb.) Ching) (D,D-1)

4. DNA 염기서열 분석을 통한 양치식물의 재동정

동백동산과 그 외의 지역에서 채집한 26종의 양치식물에서 추출한 total DNA를 감광시험장에 의뢰하여 농도를 측정한 결과 3.2~150ng/ μ l 사이에서 측정되었다. 엽질이 단단한 큰개관중, 고비, 가는쇠고사리 에서 육안상 DNA추출 확인이 어려웠으나 농도를 측정한 결과 큰개관중은 24 ng/ μ l, 고비는 10 ng/ μ l, 가는쇠고사리는 8.5 ng/ μ l가 측정되어 DNA가 추출이 되었음을 확인할 수 있었다.

universal primer인 primer c와 primer d에 의해 유전자를 증폭하였으며 약100bp 에서 염기단편을 확인할 수 있었다(Fig. 8). NCBI의 Gene Bank에 등록된 양치식물의 data base에 blast 결과 산죽제비고사리, 고사리, 실고사리, 홍지네고사리, 봉의꼬리, 큰개관중, 고비, 가는쇠고사리, 십자고사리는 100% 상동성을 보였고 쇠고비는 93%의 상동성을 보였다(Table 3).

육안상 DNA 추출이 확인이 안 되는 콩짜개덩굴과 석위도 각각 35 ng/ μ l, 4.5 ng/ μ l 측정되어 DNA가 추출되었음을 확인할 수 있었다. Primer c과 primer d를 이용하여 100bp정도에서 염기단편을 확인할 수 있었다(Fig. 9). Blast 결과 더부사리고사리, 검정개관중, 도깨비쇠고비, 늦고사리삼, 가지고비고사리, 나도고사리삼, 밤일엽, 일엽초 모두 100% 상동성을 확인 할 수 있었다(Table 3).

제주고사리삼은 640bp정도에서 염기단편을 형성하였으며(Fig. 10) blast 결과 94%의 상동성을 보였다(Table 3). Primer c와 d에서 밴드를 형성하지 못한 족제비고사리, 돌토끼고사리, 꼬리고사리는 primer e와 f를 사용하여 100bp 정도에서 염기단편을 형성하였으며(Fig. 10) blast결과 100%의 상동성을 보였

다(Table 3). Primer c와 d, primer e와 f 에서 밴드를 형성하지 못한 선바위고사리는 1.4kb, 석위는 640bp에서 염기단편을 형성하였으며 blast결과 100% 상동성을 보였다(Fig. 10). 콩짜개덩굴은 450bp에서 염기단편을 형성하였으며 긴콩짜개덩굴(*Lemaphyllum microphyllum* C.presl var. *obovatum*(Harr.))과 100% 상동성을 보여 동백동산의 콩짜개덩굴은 긴콩짜개덩굴로 동정되었다.(Table 3). 별고사리는 4쌍의 primer 모두 결과가 나오지 않았다(결과 미 제시).

동백동산에 자생하는 양치식물 중 전국내륙습지 동백동산 편에서 제시한 26종의 양치식물을 재조사하여 염기서열에 의해 재동정한 결과 콩짜개덩굴은 긴콩짜개덩굴로 동정되었고 별고사리를 제외하고 모두 일치하였다. 쇠고비는 93%, 제주고사리삼은 94 %를 기록하였다.

제주고사리삼은 최근에 새롭게 보고된 고사리삼과의 신속, 신종으로 세계적으로 속 자체가 우리나라에만 분포하는 특산 식물로서 특수한 환경에서 새로운 종으로 분화한 양치식물이라는 점에서 중요한 위치에 있다(이 등, 2012). 선 등은 고사리삼과 양치식물의 엽록체 DNA의 rbcL 염기서열을 분석하여 제주고사리삼의 계통학적 위치를 분석하였다(2009).

콩짜개덩굴(*Lemaphyllum microphyllum* C.presl)은 약용 양치식물의 식별을 위한 psbA-trnH 지역의 primer를 이용하여 동정한 연구가 있다 (Ma 등, 2010).

양치식물의 universal primer인 c와 d, e와 f는 최근 많이 이용되는 primer로 26종의 양치식물중 선바위고사리, 석위, 콩짜개덩굴, 별고사리를 제외하고 식별이 가능하므로 85%의 식별 성공율을 기록하였다.

본 연구에 사용된 Primer c와 d는 trnL-L지역의 염기를 증폭하는 primer로 양치식물의 계통연구에서 종자식물의 미토콘드리아 DNA와 가장 유사한 특징을 나타낸다고 보고하였다(Panarese 등, 2008)

이들 primer 중 e와 f는 chloroplast DNA의 trnL-F지역의 염기를 증폭하는 primer로 꼬리고사리과의 아속인 *Ceterach*의 계통을 조사하기 위해 20종의 양치식물을 nDNA의 ITS지역과 더불어 사용한 연구가 있다(Viane 등, 2003). 또한 남미에 널리 퍼져있는 나도히초미속 양치식물인 *Polystichum montevidense*의 형태적인 특징과 더불어 염기서열 분석을 통하여 근연종과의 유연관계를 분석하였다(Condock 등, 2013).

추가적인 primer 1FN과 1361R, fern1과 F을 사용하였을 때 26종의 양치식물 중 별고사리를 제외하고 식별이 가능하므로 식별률은 96%를 기록함으로써 여러 종의 양치식물을 동정할 수 있는 universal primer로 제시하는 바이다.

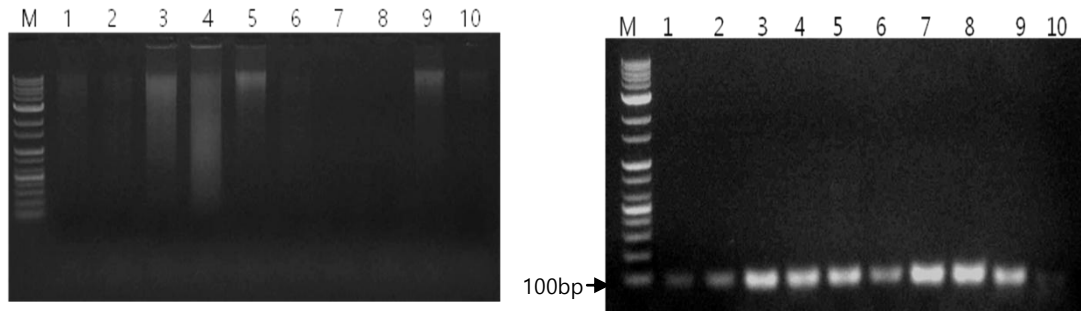


Fig.8 Gel electrophoresis of total DNA and PCR amplified chloroplast DNA of pteridophyta. lane 1: *Dryopteris bissetiana* (Baker)C.Chr.(산죽제비고사리), 2: *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*(Desv.)Underw. ex A. Heller (고사리), 3: *Lygodium japonicum*(Thub.)Sw (실고사리), 4: *Dryopteris erythrosora* (D.c.Eaton) Kuntze (홍지네고사리), 5: *Pteris multifida* Poir. (봉의꼬리), 6: *Polystichum mayebarae* Tagawa(큰개관중), 7: *Osmunda japonica* Thunb.(고비), 8: *Arachniodes aristata*(G.Forst.)Tindale (가는쇠고사리), 9: *Polystichum tripterum* (Kunze)C.Presl (십자고사리), 10: *Cyrtomium fortunei* J.Sm. (쇠고비). M: marker 1kb

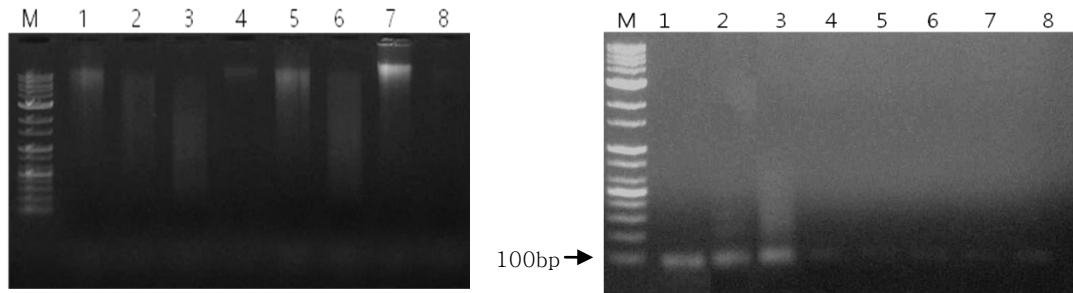


Fig.9 Gel electrophoresis of total DNA and PCR amplified chloroplast DNA of pteridophyta. lane 1: *Polystichum lepidocaulon*(Hook.)J.Sm. (더부사리고사리), 2: , *Polystichum tsus_simense* (Hook.)J.Sm . (검정개관중), 3:*Cyrtomium falcatum* (L.f.)Presl: (도깨비쇠고비), 4: *Botrychium virginianum*(L.)Sw (늦고사리삼), 5: *Coniogramme japonica* (Thunb.)Diels (가지고비고사리), 6: *Ophioglossum vulgatum* L. (나도고사리삼), 7:*Neocheiropteris ensata*(Thunb.): (밤일엽), 8: *Lepisorus thunbergianus*(Kaulf.)Ching: (일엽초) M: marker 1kb

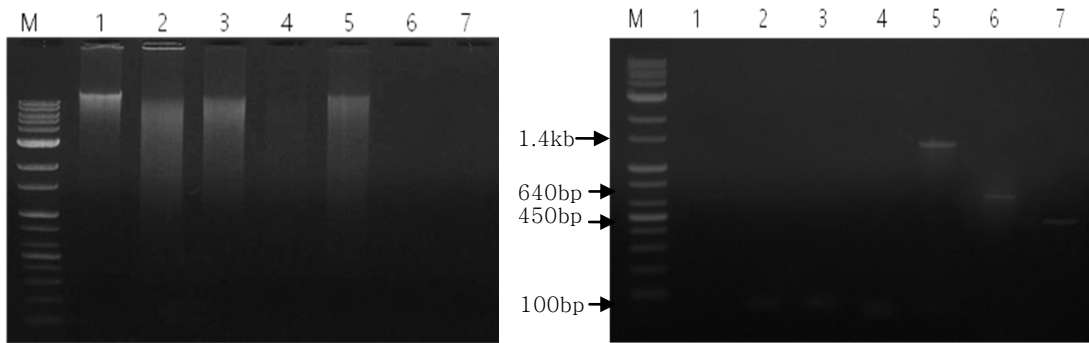


Fig. 10. Gel electrophoresis of total and PCR amplified chloroplast DNA of pteridophyta. lane 1: *Mankuua chejuensis* eB.Y.sun, M.H.Kim & C.H.Kim (제주고사리삼), 2: *Dryopteris varia*(L.) Kuntze (족제비고사리), 3: *Mycrolepia strigosa*(Thunb.)C.Presl(돌토끼고사리), 4: *Thelypteris acuminata* (Houtt.)C.V.Morton(별고사리), 5: *Asplenium incisum* Thunb.(꼬리고사리), 6: *Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze(선바위고사리), 7: *Purrosia lingua* (Thunb.)Farw.(석위), 8: *Lemmaphyllum microphyllum* C.presl(콩짜개덩굴)
M: marker 1kb

Table 3. Re-identification of 25 species pteridophyta growing in Dongbaegdongsan or other area by analysis of DNA sequencing comparing with NCBI Blast

국명	영명	학명	Description	Ident.	Accession
산죽제비고사리		<i>Dryopteris bissetiana</i> (Baker)C.Chr.	Dryopteris bissetiana ATP synthase beta subunit (atpB) gene, partial cds; chloroplast	100%	EF450490.1
고사리	, Bracken fern	<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i> (Desv.) Underw. ex A. Heller	Pteridium aquilinum subsp. aquilinum chloroplast, complete genome	100%	HM535629.1
실고사리	Japanese climbing fern, autumn fern,	<i>Lygodium japonicum</i> (Thunb.)SW.	Lygodium japonicum chloroplast, partial genome	100%	HM021803.1
홍지네고사리	Japanese wood fern, copper shield fern	<i>Dryopteris erythrosora</i> (D.C.Eaton) Kuntze	Dryopteris erythrosora isolate NH13 trnG-trnR intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	JN189042.1
봉의꼬리	spider brake	<i>Pteris multifida</i> Poir.	Pteris multifida trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	AY545517.1
큰개관중		<i>Polystichum mayebarae</i> Tagawa	Polystichum mayebarae voucher SG Lu/Z33 trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	DQ150408.1
고비	royal fern	<i>Osmunda japonica</i> Thunb.	Osmunda japonica voucher ZSH01ZQ9 psbA-trnH intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	KC795747.1
가는쇠고사리	East Indian holly fern	<i>Arachniodes aristata</i> (G.Forst.)Tindale	Arachniodes aristata ATP synthase beta chain (atpB) gene, partial cds; chloroplast	100%	EF463379.1
십자고사리		<i>Polystichum tripterum</i> (Kunze) Presl	Polystichum tripterum voucher L. B. Zhang 4784 tRNA-Leu (trnL) gene and trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	JF713069.1

국명	영명	학명	Description	Ident.	Accession
			Cyrtomium fortunei tRNA-Leu (trnL) gene and trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	93%	AY736348.1
		<i>Cyrtomium fortunei</i> J.Sm.			
			Cyrtomidictyum lepidocaulon voucher SG Lu/Q12 trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100 %	DQ150392.1
		<i>polystichum lepidocaulon</i> (Hook.)J.sm.			
			Polystichum acrostichoides (Michx.) Schott Asn- tRNA(GUU) and light- independent protochlorophyllide reductase iron protein subunit (chlL) genes, chloroplast genes encoding chloroplast proteins, partial cds	100 %	U00732.1
		<i>polystichum tsus- simense</i> (Hook.)J.Sm.			
			Cyrtomium <i>falcatum</i> (L.f.)Pre니	100 %	AJ130744.1
		<i>Cyrtomium falcatum</i> (L.f.)Pre니			
			Botrychium virginianum phenylalanine ammonia lyase (PAL) mRNA, partial cds	100 %	AY803285.1
		<i>Botrychium virginianum</i> (L.)Sw.			
			Coniogramme japonica isolate 292 tRNA-Gly (trnG) gene, partial sequence; trnG-trnR intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Arg (trnR) gene, partial sequence; chloroplast	100 %	KC700266.1
		<i>Coniogramme japonica</i> (Thunb.)Diels			
			Ophioglossum vulgatum chloroplast rbcL gene for ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit, partial cds, country: Japan:Fukushima	100 %	AB626644.1
		<i>Ophioglossum vulgatum</i> L.			
			Mankyua chejuense plastid, complete genome	94%	KP205433.1
		<i>Mankyua chejuense</i> B.Y.Sun,M.H. Kim&C.H.Kim			

국명	영명	학명	Description	Ident.	Accession
일엽초		<i>Lepisorus thunbergianus</i> (Kaulf.) Ching	Lepisorus thunbergianus voucher Koichi Ohora 2005042404 tRNA-Leu (trnL) gene and trnL-trnF intergenic spacer, partial sequence; chloroplast	100%	GQ256232.1
밤일엽		<i>Neocheiropteris ensata</i> (Thunb.) Ching	Neolepisorus ensatus voucher Zhang 3611 rbcL-atpB intergenic spacer, partial sequence; and ATP synthase beta chain (atpB) gene, partial cds; chloroplast	100%	GQ256161.1
족제비고사리		<i>Dryopteris varia</i> (L.) Kuntze	Dryopteris varia tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence	100%	JX535954.1
돌토끼고사리	Lace Fern	<i>microlepia strigosa</i> (Thunb.) C.Presl.	Microlepia strigosa chloroplast DNA, psbC gene, psbC-trnS intergenic spacer, trnS gene, partial and complete sequence, specimen_voucher: TNS:070527-0	100%	AB552961.1
꼬리고사리		<i>Asplenium incisum</i> Thunb.	Asplenium incisum chloroplast rbcL gene for ribulose-1,5-bisphosphate	100%	AB574858.1
선바위고사리	Claw fern	<i>Onychium japoicum</i> (Thunb.) Kunze	Onychium japonicum chloroplast DNA, psbA-trnH intergenic spacer, partial sequence, specimen_voucher: TNS:762536	100%	AB575473.1
석위	Tongue Fern, Japanese Felt Fern	<i>Pyrrosia lingua</i> (Thunb.) Farw.	Pyrrosia lingua chloroplast DNA, psbA-trnH intergenic spacer, partial sequence, specimen_voucher: TNS:763117	100%	AB575909.1
콩짜개덩굴		<i>Lemmaphyllum microphyllum</i> Presl var. microphyllum	Lemmaphyllum microphyllum var. obovatum chloroplast DNA, psbA-trnH intergenic spacer, partial sequence, specimen_voucher: TNS:759255	100%	AB575871.1

IV. 적 요

본 연구는 전국내륙습지조사 동백동산 편에 기록된 양치식물을 재조사하여 염기서열에 의해 재분류 하였으며 이를 바탕으로 제시된 primer의 효용성을 test하고자 실시하였다.

전국내륙습지조사 동백동산 편에서 제시된 양치식물은 26종이다. 동백동산에서 22종을 채집하였고 동백동산에서 채집하지 못한 양치식물은 족제비고사리, 밤일엽, 늦고사리삼, 가지고비고사리로 다른 자생지에서 채집하였다.

본 연구에 사용된 universal primer는 chloroplast DNA의 trnL-L지역의 primer c와 d, trnL-F지역의 primer e와 f를 사용하였다. 추가적인 primer는 rbcL지역의 primer 1FN과 1361R, trnL-F지역의 fern1과 F를 사용하였다.

별고사리를 제외하고 염기서열을 분석한 결과 콩짜개덩굴은 긴콩짜개덩굴로 동정되었다. 그 외 양치식물의 염기서열 결과는 모두 일치하였으며 최고비는 93%, 제주고사리삼은 94% 상동성을 기록하였다. universal primer인 c와d, e와 f는 26종의 양치식물 중 선바위고사리, 석위, 콩짜개덩굴, 별고사리를 제외하고 염기단편을 형성하여 85%의 식별가능성을 시사하였다. primer 1FN과 1361R, fern1과 F을 추가적으로 사용하였을 때 26종의 양치식물 중 별고사리를 제외하고 식별이 가능하므로 식별률은 96%를 기록하였다.

최근 양치식물에 있어 분류 및 계통의 연구는 염기서열을 바탕으로 이루어지고 있다. 염기서열 분석에 의해 독립배우자체인 *Trichomanes*

*intricatum*는 *Crepidomanes schridtianum*(두메괴불이끼)로 불리는 양치식물과 동일한 염기서열을 가졌음이 밝혀지고 계통에 있어서도 염기서열이 접목 됨으로써 기존 양치식물 문에 포함되어 있던 석송류와 물부추류들이 석송문으로 나뉘게 되었다.

우리나라의 양치식물의 염기서열에 의한 연구는 제주고사리삼이나 솔잎난등 특정 종에 한하여 있기 때문에 본 연구를 통하여 여러 종의 양치식물을 동정할 수 있는 universal primer를 제시하는 바이다.

V. 참 고 문 헌

- 국립생물자원관. 2009. 주요생물자원의 유전자 분석, 연구 IV:식물-멸종위기 식물종 7종 대상-
- 김문홍. 1992. 제주식물도감(증보판). 제주도
- 김문홍. 1998. 선홍 동백동산, 백서향 및 변산일엽 군락지보존대책 및 활용방안 연구보고서, 선홍동백동산, 백서향및 변산일엽 군락지의 식물상 및 식생.
- 김문홍, 송국만. 2005. 동백동산의 식물상 (2005 전국내륙습지 자연환경조사-제주도 (동백동산, 용수저수지)).
- 김영완, 이상훈. 2013. 충청남도 공주시지 (公州市誌) 에 기록된 약용식물 현황. 한약정보연구회지 (Kor Herb Med Inf), 1, 77.
- 김지훈, 최선아. 2012. 습지보호지역 정밀조사 낙동강하구, 대암산 용늪, 동백동산, 무제치늪. 환경부 국립습지센터
- 김찬수, 강영재, 문명옥, 송관필 .2006. 한라산의 식물. 한라산총서 IX 제주도. 한라산생태문화연구소. 도서출판 각. 제주
- 로빈 C. 모란. 2004. 양치식물의 자연사. 지오북. P40-45
- 문명옥. 2007. 제주도의 양치식물상. 제주대학교 박사학위논문.
- 문명옥, 윤나래, 라은화, 임진아, 김대신, 김찬수. 2014. 논문: 한국산 미기록 양치식물: 큰별고사리 [Cyclosorus penangianus (Hook.) Copel.] (치녀고사리과), 오름깃고사리 [Pteris fauriei Hieron.] (봉의꼬리과). 식물분류학회지, 44(4), 257-260.

- 문명옥, 현화자, 송국만, 김찬수, 김문홍. 2011. 제주지역 용암함몰구의 식물상 및 식생. 한국자원식물학회 2011 년 정기총회 및 춘계학술발표회, 65-65.
- 박만규. 1961. 한국양치식물지. 교학도서
- 박만규. 1975. 한국동식물도감 제 16권 식물편(양치식물). 문교부
- 박수경, 길희영, 김휘, 장진성. 2013. 산림청 수목원 조성 및 진흥에 관한 법률의 특산식물 목록의 재고. Jour. Korean For. Soc. Vol, 102(1), 1-21.
- 박수현, 이유미, 양종철, 조동광, 이강협, 장창석, 이해정, 최혁재, 정승선, 이정희. 2008. 한국식물 도해도감 2 양치식물. 국립수목원.
- 방광자. 2003. 5 가지 자생상록 양치식물의 분포 및 자생지 생육환경. 산업과학 연구, 14(단일호), 1-8.
- 방광자, & 주진희. 2002. 실내에서 이용 가능한 자생 양치식물. 자생식물, 55(단일호), 5-8.
- 방광자, 주진희, & 한승원. 2004. 차광정도에 따른 자생 더부살이고사리의 생육 변화. 한국조경학회지, 31(6), 73-76.
- 생물종지식정보시스템. <http://www.nature.go.kr/>
- 선병윤, 백태규, 김영동, 김찬수. 2009. 논문: 제주고사리삼을 중심으로한 고사리삼과 식물의 계통. 식물분류학회지, 39(3), 135-142.
- 손명원, 장문기. 2005. 전국내륙습지(동백동산, 용수저수지)지형 퇴적환경
- 송관필. 2007. 한라산 동서사면 상록활엽수림대의 식물상 및 식생. 제주대학교대 학원 박사학위논문, 48-59.
- 신소림, 이무열, 최재선, 이철희. 2009. 고사리 전엽체의 증식에 미치는 배지구성 물질과 배양방법의 영향. 한국자원식물학회지, 22(4), 337-342.

- 오순자, 홍성수, 김연희, 고석찬. 2008. 제주도에 자생하는 양치식물의 생리활성
 검색. 한국자원식물학회지, 21(1), 12-18.
- 이경미, 신정훈, 정현모, 김해란, 김정호, 신동훈, 유영한. 2012. 멸종위기 식물
 제주고사리삼의 입지와 식생구조의 특징에 대한 연구. 한국습지학회지, 14(1),
 35-45.
- 이상준, 박종욱. 2015. 논문: 한반도 산 관중속 홍지네족제비고사리아속 (관중
 과) 의 분류학적 연구. 식물분류학회지, 45(2), 114-135.
- 이창숙, 김유성. 2012. 숲고사리삼과 애기고사리삼 (고사리삼과): 한반도 미기록
 식물의 형태로 본 계통적 위치. 식물분류학회지, 42(1), 68-75.
- 이창숙, 이강협. 2015. 한국의 양치식물. 지오북
- 이창숙, 이강협, 고순열. 2014. 논문: 한반도 미기록 식물: 깃주름고사리 (개고사
 리과). 식물분류학회지, 44(4), 242-246.
- 정종길, 김재현. 2009. 한국산 먼마과 (綿馬科) 식물에 관한 본초학적 연구. 대
 한본초학회지 (본초분과학회지), 24(2), 57-65
- 정종덕, 김창균, 김호준, 최홍근. 2009. 총설: 우리나라 물부추속 (물부추과) 에
 대한 분류학적 고찰. 식물분류학회지, 39(2), 63-73.
- 정태현. 1956. 한국식물도감(하). 신지사.
- 제주녹색환경지원센터. 2012. 제주 습지보호지역(동백동산습지)보전기본계획연
 구. 영산강유역환경청
- 한국양치식물연구회. 2005. 한국양치식물도감. 지오북
- 현화자, 강창훈, 송국만, 문명옥, 송관필, 김문홍. 2010. 제주고사리삼 자생지의
 환경 및 식물상. 한국자원식물학회지, 23(4), 350-359.

- Condack, J. P. S., McHenry, M. A., Morero, R. E., Sylvestre, L. S., & Barrington, D. S. 2013. *Polystichum montevidense* demystified: molecular and morphological data reveal a cohesive, widespread South American species. *American Fern Journal*, 103(2), 118–130.
- De Groot, G. Arjen, et al. 2011. "Use of rbcL and trnL–F as a two–locus DNA barcode for identification of NW–European ferns: an ecological perspective." *PLoS one* 6.1
- Ebihara, A., Farrar, D. R., & Ito, M. 2008. The sporophyte–less filmy fern of eastern North America *Trichomanes intricatum* (Hymenophyllaceae) has the chloroplast genome of an Asian species. *American journal of botany*, 95(12), 1645–1651.
- Ebihara, A., Nitta, J. H., & Ito, M. 2010. Molecular species identification with rich floristic sampling: DNA barcoding the pteridophyte flora of Japan.
- Kovács, G. M., Balázs, T., & Péntzes, Z. 2007. Molecular study of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, Ophioglossaceae). *Mycorrhiza*, 17(7), 597–605
- Lee, C. S., Kim, J. O., & Lee, N. S. 2008. First report of *Asplenium yoshinagae* (Aspleniaceae) from Korea and its phylogenetic position based on morphology. *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 38(2), 79–91.
- Lee, C. S., Lee, K., & Hwang, Y. 2013. First record of *Cyrtomium*

- laetevirens and *Dryopteris simasakii* var. *paleacea* (Dryopteridaceae) from Korea. *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 43(3), 171–180
- Ma, X. Y., Xie, C. X., Liu, C., Song, J. Y., Yao, H., Luo, K., ... & Chen, S. L. 2010. Species identification of medicinal pteridophytes by a DNA barcode marker, the chloroplast psbA–trnH intergenic region. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(11), 1919–1924.
- Michael G. Simpson. 2011. 식물계통학. 월드사이언스 p73–107
- Nakai, T. 1914. Flora of Quelpaert and Wando Island. *Seoul: Govern. Chosen.*
- Panarese, S., et al. "Sequencing of a Segment of a Monilophyte Species Mitochondrial Genome Reveals Features Highly Similar to those of Seed Plant mtDNAs." *The Open Plant Science Journal* 2 (2008): 15–20.
- Park, M. K. 1975. Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korea.
- Sadava, Heller, Orians, Purves, Hillis. 2010. 생명 생물의 과학. 교보문고. p635–649
- Sun, E. M., Jang, J. W., Im, H. T., & Son, H. D. 2012. A short record for the distribution of two rare Korean ferns. *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 42(2), 167–170.
- Taberlet, Pierre, et al. 1991. "Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA." *Plant molecular biology* 17(5) : 1105–1109.

Viane, R. L., & Chase, M. W. 2003. Phylogenetic analysis of *Asplenium* subgenus *Ceterach* (Pteridophyta: Aspleniaceae) based on plastid and nuclear ribosomal ITS DNA sequences. *American Journal of Botany*, 90(3), 481–495.

감사의 글

적지 않은 나이에 많은 우려와 격려 속에 이 논문이 완성되었습니다. 많은 분들의 도움이 있어 완성할 수 있었기에 그 분들께 이렇게나마 감사의 마음을 전하고자 합니다.

부족한 저를 포기하지 않고 끝까지 이끌어 주시고 항상 격려해 주셔서 논문까지 낼 수 있게 지도해주신 전용철 지도교수님께 먼저 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 바쁘신데도 불구하고 논문 심사를 맡아 주시고 격려해주신 송창길 교수님과 김주성 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 그리고 저의 연구에 항상 관심 가져주시고 격려해주신 현해남 교수님과 김동순 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 그리고 바쁘신 가운데 많은 조언해 주시고 제게 큰 힘이 되어 주신 큰 언니인 고평열 박사님께 감사 드립니다.

양치식물을 처음 접하게 해주시고 공부로 이끌어 주신 이창숙 박사님과 이강협 선생님, 김명준 선생님께 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 항상 조언해주시고 격려 해주셔서 용기를 북돋아 주신 강원대학교 유기억 교수님께도 감사의 마음을 전합니다. 그리고 pcr에 대해 많은 조언과 도움을 주신 생물자원관 강종수씨와 홍자람씨, 국립수목원 주민정씨께도 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 실험을 도와준 지순씨와 윤정씨, 그리고 항상 격려해주는 말을 아끼지 않던 실험실 식구들 윤주씨, 재신씨, 미나씨, 은주씨, 용호씨, 정석씨 그리고 조카인 승학에게도 고마운 마음을 전하고 싶습니다.

항상 걱정해주시고 자랑스러워 해주시는 저의 아버지, 오빠, 작은언니와 형부, 효순이와 제부, 민국에게도 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 항상 저를 응원해주시고 다독여주시는 시부모님과 시댁 가족들께도 감사의 마음을 전합니다. 그리고 하늘에서 잘 내려다 보고 있을 어머니께도 낳아 주시고 키워주셔

서 감사하다고 전해드리고 싶습니다.

용기를 북돋아 주고 항상 응원해주는 저의 남편 윤명준에게도 평소 고마운 마음을 표현 못 했는데 이 자리를 빌어 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 마지막으로 항상 엄마를 자랑스러워하고 응원해주는 저의 아들 딸 주희, 도현, 태희, 지호에게 세상에서 가장 사랑한다는 말과 함께 이 논문을 바칩니다.