

동아시아에 분포하고 있는 들깨와 차조기의 유전적 분화

이주경

강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부

들깨(*Perilla frutescens* var. *frutescens*)와 차조기(*Perilla frutescens* var. *crispa*)는 일년생의 자식성 작물로 같은 종의 서로 다른 변종으로 구분되어, 동아시아를 중심으로 옛날부터 들깨는 유료작물, 차조기는 약용작물로서 폭 넓게 재배되고 이용되어져 왔다. 우리나라에서 들깨는 과거부터 종실과 잎을 식용으로 이용하여 왔으나 최근에 신선엽 채소의 이용 개발과 더불어 그 재배와 이용이 점점 증가되고 있다. 반면에, 차조기의 경우는 오늘날 한방약 이용의 감소와 더불어 그 이용성이 급속히 감소하여 현재는 거의 재배가 이루어지고 있지 않다. 이와는 반대로, 일본에서는 차조기의 재배 및 이용이 성행하고 있지만, 들깨의 재배 및 이용은 거의 이루어지고 있지 않고 단지 동북지방의 고산지대의 일부 농가들에서 소규모로 재배하고 있다. 현재 일본에서의 들깨는 재배와 이용이 점점 줄어들어 우리나라에서의 차조기처럼 잔존식물의 형태(relict form)로 남아있다.

들깨와 차조기는 히말라야산맥주위, 동남아시아 그리고 동아시아에 주로 분포하고 있다(Nitta 2001). 이들의 기원지에 관해서는 인도설, 동남아시아설 그리고 중국의 남부설 등이 있지만, 옛날부터 동아시아에서 가장 많이 재배·이용되고 있으므로 동아시아가 들깨와 차조기의 기원지일 것으로 생각된다(Makino 1961, Li 1969, Nitta 2001). 한편 일본에서는 들깨와 차조기의 야생 근연종으로 *Perilla citriodora*(Makino 1914)와 *Perilla hirtella*(Nakai 1917)가 발견 보고 되어 있으나, 아직까지 동아시아에서 들깨와 차조기의 야생선조종은 증명되어 있지 않고 있고, 또한 들깨와 차조기의 재배형이 성립된 과정에 대해서도 전혀 밝혀져 있지 않다. 지금까지의 분류학적 연구결과에 의하면, 들깨와 차조기는 식물체의 크기 및 향, 잎과 줄기의 색 그리고 종자크기 등의 형태적 특징들에 의하여 서로 뚜렷하게 구분되고 있다. 그러나 이와 같은 뚜렷한 형태적 특징에도 불구하고, 들깨와 차조기는 분류학적 연구에서 아직도 많은 어려움을 겪고 있다. 즉 Koezuka et al.(1985, 1986), Honda et al.(1990) 등은 들깨와 차조기를 분류하는데 있어 이 두 작물사이에 중간적 Type들이 존재하고 있다고 보고하였다. 그들의 연구결과에 의하면 지방산 함량, 잎과 줄기의 색(안토시아닌) 그리고 종자의 색깔과 경도 등은 이 두 작물을 분류하는 형질(Key character)이 될 수 없다고 하였다. 그리고 또한

Yamane(1950)와 Honda et al.(1994) 등은 들깨와 차조기의 세포유전학적 연구에서 이 두 작물은 동일한 염색체 수($2n=40$)를 지니고 있고, 또한 인공교잡에 의하여 서로 교잡이 가능하다고 하였다(Nagai 1935, Honda et al. 1990, 1994). 아직까지 들깨와 차조기 사이에서의 자연교잡에 관한 보고는 없으나 위와 같은 결과들은 들깨와 차조기 사이에서 자연교잡이 일어나고 있을 가능성을 암시하였다. 최근에 들깨와 차조기의 잡초형들에 대하여 일본에서 Nitta와 Ohnishi(1999)가 처음으로 보고하였다. 그들은 RAPD 분석 결과에 의하여 크게 2가지 잡초형 그룹, 즉 하나는 잡초형 들깨이고, 또 다른 하나는 잡초형 차조기로 구분하였고, 또한 일본에서 발견된 이들 잡초형들의 유래에 대해서는 재배형 들깨와 재배형 차조기 사이에서의 자연교잡에 의한 잡종 또는 재배형 들깨와 재배형 차조기로부터 도망간 escape type으로 여겼다.

어떤 작물의 유전자원 보존과 그 작물의 품종개발을 성공적으로 수행하기 위해서는 먼저 그 작물에 대한 유전자원의 수집과 탐색 그리고 수집된 유전자원들에 대한 유전적 변이와 다양성을 측정 평가하고 이해하는 것이 무엇보다 가장 중요하다. 따라서 본 연구는 동아시아에서 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 유전적 분화 과정을 명확하게 밝히기 위하여, 동아시아에 폭넓게 재배 및 자생하고 있는 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 유전자원을 수집한 후, 이들 수집된 유전자원들에 대하여 형태적 특성조사와 분자생물학적 분석법인 AFLP(amplified fragment length polymorphism) 분석을 행하였기에 보고하고자 한다.

연구 I. 동아시아에서의 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 형태적 특성에 의한 분화 연구

공시재료

동아시아에서 재배되고 있거나 자생하고 있는 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 형태적 변이와 다양성을 조사하기 위하여, 1998년부터 1999년까지 필드조사를 수행하여 중국, 네팔, 한국 그리고 일본 등에서 들깨와 차조기의 유전자원을 수집하였다 (Fig. 1).

종자수집은 주로 직접 농가를 방문하여 분양받거나 또는 포장에서 직접 수집하였고, 자연적으로 자생하고 있는 들깨와 차조기의 잡초형들은 농가 또는 밭의 주위, 길 옆이나 마을의 빈 공터 등을 조사하여 수집하였다. 본 연구에 이용된 공시재료는 수집된 유전자원들 중에서 동아시아 전역을 대표할 수 있는 지역의 재료를 선택, 총 60계통(재배형 들깨 32계통, 잡초형 들깨 15계통, 재배형 차조기 5계통 그리고 잡초형 차조

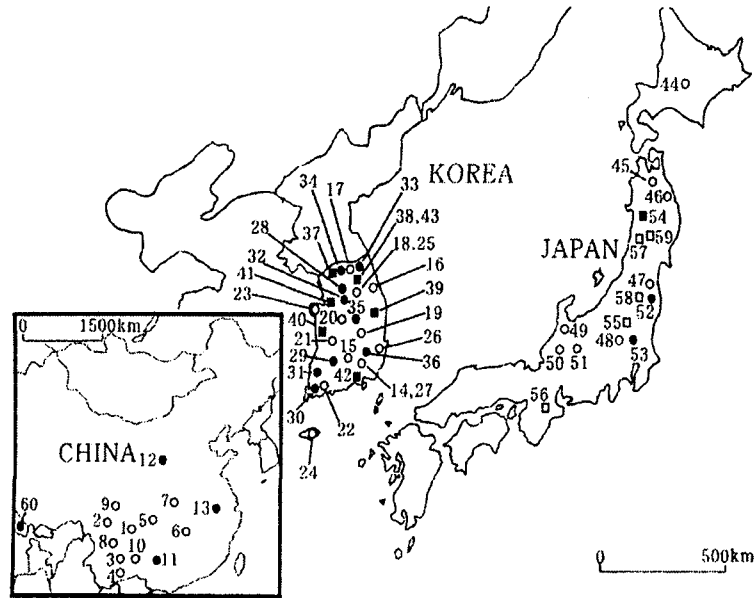


Fig. 1. Collection sites of 60 *Perilla* accessions in East Asia. See Table 1 for the code numbers. ○: Cultivated type of var. *frutescens*; ●: Weedy type of var. *frutescens*; □: Cultivated type of var. *crispata*; ■: Weedy type of var. *crispata*

기 8계통)에 대하여 조사하였다. 한편, 본 실험에서는 들깨와 차조기 그리고 이들의 잡초형들을 임의적으로 구분하기 위하여, 수집당시 농가에서의 재배상황(농가에서 들깨와 차조기가 재배되고 있는지 아니면 자연적으로 자생하고 있는지) 그리고 그들의 형태적 특징(종자크기) 등에 따라서 재배형 또는 잡초형의 들깨와 차조기로 구분하였다.

형태적 변이의 조사 및 분석

동아시아에서의 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 형태적 변이 및 다양성을 조사하기 위하여, 수집된 재래종 및 잡초형들을 각 계통별로 7개체씩을 京都大學 研究施設(Plant Germ-plasm Institute, Faculty of Agriculture, Kyoto University)의 실험포장에서 재배하여 형태조사를 행하였다. 본 실험에서 조사한 형질은 종자크기 등 10개의 양적형질과 식물체의 방향성 등 12개의 질적형질 합계 22개의 형질들에 대하여 생육 초기부터 수확기까지 식물체들의 성장 단계 중 각 형질별로 적합한 시기에 계통 당 5개체씩을 조사하였다(Table 1). 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들 사이에서의 변이의 다양성을 비교 분석하기 위하여 Student-Newman-Keuls test에 의한 분산분석과 주성분분석을 수행하였다. 본 실험에서 수행한 분산분석과 주성분분석은 Microsoft Excel 통계 프로그램을 이용하여 수행하였다.

결과 및 고찰

자연적으로 폭 넓게 있는 어떤 종의 지리적 분포에 의한 형태적 변이는 그 종의 진화를 연구하는데 있어 상당한 흥미를 준다(Gould & Johnston 1972, Wyatt & Antonovics 1981). 한 식물 종의 계통들 사이에서의 형태적 다양성은 서로 다른 환경들 속에서의 작은 진화적 변화(microevolutionary changes)의 결과에 의하여 생긴다. 더욱이 인간에 의한 작물의 재배는 재배되고 있는 작물 종들이 그들의 야생종들로부터 형태적 그리고 생리적으로 다양하게 변화되는 진화의 과정이다(Schwanitz 1966, Harlan 1992).

Table 1. Characters used in the morphological analysis of *Perilla* crops

Abbreviation	Character	When/how measured	Unit or Category
Quantitative characters			
QN1	Seed size (Length)	after harvest (100 seeds per accession)	mm
QN2	Leaf size (Length x Width of the largest leaf)	just before come into ears (The average of 5 largest leaves per plant)	cm ²
QN3	Ratio of Length/Width (Leaf)	just before come into ears (The average of 5 largest leaves)	ratio
QN4	Length of leaf stalk	just before come into ears (The average of 5 largest leaves)	cm
QN5	Days from seeding to flowering	the day of more than 50 % flowering per plant	day
QN6	Plant height	just before harvest	cm
QN7	Number of internodes	just before harvest	number
QN8	Number of branches	just before harvest	number
QN9	Length of the largest inflorescence	after harvest (The average of 10 largest inflorescences per accession)	cm
QN10	Number of floret of the largest inflorescence	after harvest (The average of 10 largest inflorescences per accession)	number
Qualitative characters			
QL1	Fragrance of plant	at vegetative period	frutescens-1, crisp-2
QL2	Color of seed	after harvest	white-1, gray-2, brown-3, dark brown-4
QL3	Hardness of seed	after harvest	soft-1, hard-2
QL4-1	Color of leaf surface	at seedling stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL4-2	Color of reverse side of leaf	at seedling stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL4-3	Color of stem	at seedling stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL5-1	Color of leaf surface	at flowering stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL5-2	Color of reverse side of leaf	at flowering stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL5-3	Color of stem	at flowering stage	green-1, green with weak purple-2, purple-3, deep purple-4
QL6	Degree of pubescence	at flowering stage	slightly pubescent-1, pubescent-2, heavily pubescent-3, more heavily pubescent-4
QL7	Color of flower	at flowering stage	white-1, purple-2
QL8	Shape of leaf	just before come into ears	none wrinkle-1, wrinkle-2, heavily wrinkle-3

Table 2. Mean and standard deviation for the 10 quantitative characters for 60 accessions of two *Perilla* crops and their weedy types

Morphological Character	Var. <i>frutescens</i>		Var. <i>crispa</i>		Statistical comparison *
	Cultivated type (N=32)	Weedy type (N=15)	Cultivated type (N=5)	Weedy type (N=8)	
QN1 (seed size)	2.43 ± 0.21	1.79 ± 0.11	1.72 ± 0.04	1.68 ± 0.17	A ≠ D, A ≠ C and A ≠ B
QN2 (leaf size)	242.2 ± 78.5	182.8 ± 40.3	132.4 ± 24.0	155.6 ± 33.0	A ≠ C, A ≠ D and A ≠ B
QN3 (length/with of leaf)	1.20 ± 0.06	1.15 ± 0.07	1.19 ± 0.11	1.20 ± 0.09	NS
QN4 (leafstalk length)	7.61 ± 1.44	6.30 ± 1.55	5.69 ± 0.59	5.74 ± 1.21	A ≠ C, A ≠ D and A ≠ B
QN5 (flowering time)	125.3 ± 26.8	125.7 ± 13.1	127.0 ± 8.08	115.9 ± 6.60	NS
QN6 (plant height)	170.3 ± 48.0	149.0 ± 24.5	113.6 ± 17.1	130.0 ± 8.68	A ≠ C and A ≠ D
QN7 (internode number)	17.2 ± 3.88	17.3 ± 1.35	19.1 ± 1.48	17.4 ± 2.31	NS
QN8 (branch number)	13.7 ± 2.86	16.6 ± 1.92	20.3 ± 2.79	19.4 ± 0.88	C ≠ A, C ≠ B, D ≠ A, D ≠ B and B ≠ A
QN9 (inflorescence length)	14.5 ± 7.76	14.40 ± 4.68	14.90 ± 1.11	23.10 ± 8.91	D ≠ A
QN10 (florete number)	66.5 ± 14.7	67.3 ± 13.0	61.3 ± 8.56	86.1 ± 20.4	D ≠ C, D ≠ A and D ≠ B

*: The difference between each pair of species was tested by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test ($P < 0.05$). A = cultivated var. *frutescens*; B = weedy type of var. *frutescens*; C = cultivated var. *crispa*; D = weedy type of var. *crispa*; and NS = not significant

본 연구는 먼저 들깨와 차조기의 분화 과정을 명확하게 밝히기 위하여, 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들의 형태적 변이와 다양성에 관한 연구를 수행하였다. 중국, 네팔, 한국 그리고 일본 등에서 수집된 60계통에 대하여 10개의 양적형질과 12개의 질적형질, 합계 22개의 형질에 대하여 조사를 하였다. 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형의 집단들 사이에서 변이의 다양성을 비교 분석하기 위하여, 총 60계통에 대하여 측정된 10개의 양적형질들에 대한 분산분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 그 결과에 의하면, 조사된 여러 형질들 중에서 재배형 들깨와 재배형 차조기는 종자크기(QN1), 잎크기(QN2), 엽병길이(QN4), 경장(QN6) 그리고 가지수(QN8) 등의 형질들에 의하여 명확하게 구분되었고($P < 0.05$), 재배형 들깨와 잡초형 들깨는 종자크기(QN1), 잎크기(QN2), 엽병길이(QN4) 그리고 가지수(QN8) 등의 형질들에 의하여 명확하게 구분되었다($P < 0.05$). 그러나 재배형 차조기와 잡초형 차조기는 조사한 대부분의 형질들에서 뚜렷한 차이를 나타내지 못하였다(Table 2).

또한, 본 연구에서는 재배형 들깨와 잡초형 들깨 그리고 재배형 차조기와 잡초형 차조기의 집단들 사이 또는 집단들 내에서 각 계통들의 형태적 변이와 다양성을 식별하기 위하여 22개의 양적 및 질적형질로 주성분분석을 수행하였다. 주성분분석의 결과는 Fig. 2에 나타냈다. 그 결과에 의하면 제1축의 위에서 재배형 들깨와 재배형 차조기는 명확하게 구분이 되었다. 즉 재배형 들깨의 모든 계통들은 음의 방향에 위치하였

고, 반면에 재배형 차조기는 한 계통(JA10)을 제외한 나머지 계통들은 모두 양의 방향에 위치하였다. 그리고 재배형 들깨와 잡초형 들깨도 제1축의 위에서 몇몇의 예외적인 계통들을 제외한 대부분의 계통들은 뚜렷하게 구분되었다. 그러나 재배형 차조기와 잡초형 차조기의 경우는 앞에서 10개의 양적형질들에 의한 분산분석의 결과와 마찬가지로 주성분분석에서도 명확하게 식별되지 않았다. 이상과 같은 결과에 의하면, 조사된 22개의 양적 및 질적 형질들 중에서 경장, 종자크기, 잎크기, 잎과 줄기의 색, 식물체의 향 그리고 털의 유무 등은 들깨와 차조기를 식별하는 유용한 형질로 나타났다, 특히 종자크기는 재배형 들깨(2mm 이상)와 재배형 차조기(2mm 이하) 또는 재배형 들깨와 잡초형 들깨(2mm 이하)를 구분하는 유용한 형질이었다. 반면에 재배형 차조기와 잡초형 차조기의 경우는 조사한 형태적 특징들에서 명확하게 식별되지 않았으므로, 현재 동아시아에서 재배되고 있는 재배형 차조기는 잡초형 차조기로부터 완전히 분화되지 않고, 아마도 휴면성과 같은 야생의 형질을 지닌 상태에서 재배에 이용되고 있는 것으로 생각되었다. 한편 본 연구에서는 들깨와 차조기의 중간적인 형태적 특징을 지니고 예외적 계통들이 일부 발견되었는데, 이들은 들깨와 차조기 사이의 자연적 교잡에 의하여 생긴 잡종이거나 또는 들깨와 차조기가 분화되기 이전의 원

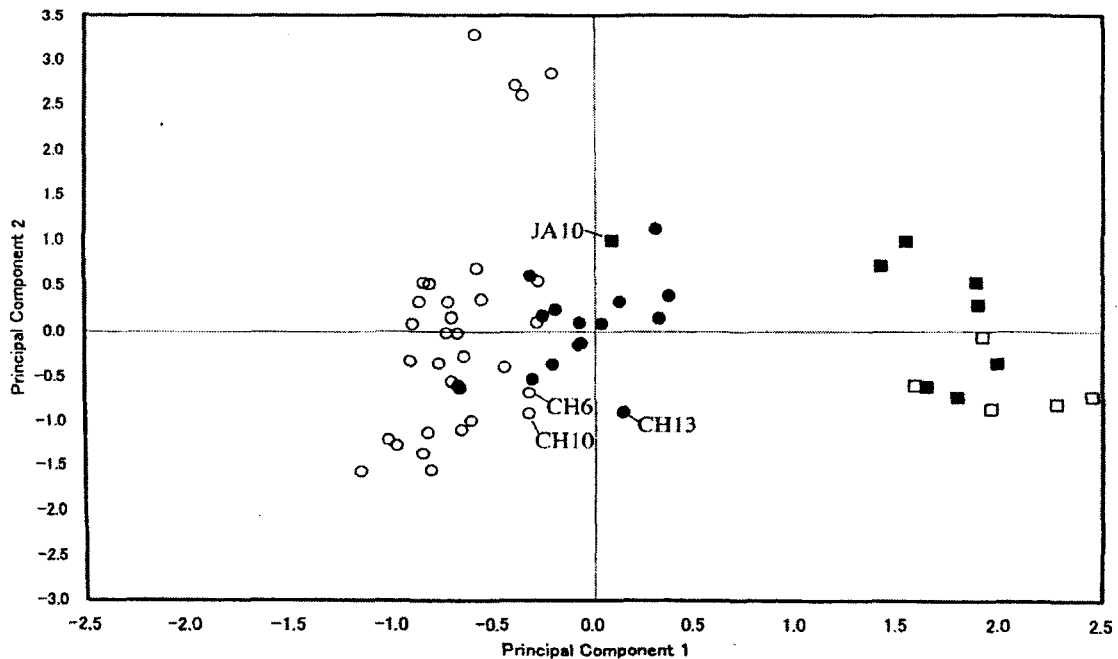


Fig. 2. Projection of 60 accessions of *Perilla* crops and their weedy types in the first and second principal components (○ = Cultivated type of var. *frutescens*; ● = Weedy type of var. *frutescens*; □ = Cultivated type of var. *crispa*; ■ = Weedy type of var. *crispa*).

시형일 가능성을 시사하였다.

연구 II. AFLP분석에 의한 동아시아에서 들깨, 차조기 그리고 이들 잡초형들의 유전적 유연관계 연구

공시재료 및 방법

본 연구에 이용된 공시재료는 중국, 네팔, 한국 그리고 일본에서 수집된 재배형 들깨 32계통, 잡초형 들깨 15계통, 재배형 차조기 5계통 그리고 잡초형 차조기 8계통 등 총 60계통에 대하여 AFLP분석을 행하였다. 식물체에서의 DNA추출은 발아 후 2개월 정도 경과한 식물체의 잎에서 DNA추출 buffer인 Plant DNAzol Reagent(GIBCOBRL)을 이용하여 추출하였다. 분석에 이용한 Primer조합은 EcoRI측은 4염기, MseI측은 3염기의 구성으로, 합계 7개의 Primer조합을 사용하였다(Table 3). 들깨, 차조기 그리고 이들 잡초형들의 계통들간의 유전적 유연관계 분석은 PAUP*version4.0(Swofford, 1998) Program을 이용하여 NJ법에 따라 Phylogenetic tree를 작성하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 들깨와 차조기 그리고 이들 잡초형들 사이에서의 유전적 유연관계를 명확히 밝히기 위하여 AFLP분석을 행하였다. 그 결과 7개의 Primer조합들에서 발견된 DNA marker들의 수는 총 125개가 검출되었고, 그 중에서 80개가 다형화 marker를 나타냈다(Table 3). 그리고 각각의 Primer 조합들에서 발견된 다형화 marker들의 수는 8-18개의

Table 3. Number of AFLP fragments generated with seven primer combinations among *Perilla* crops and their weedy types

Primer combination of fragments	Total no.	No. of polymorphic bands detected				Total	% of polymorphic fragments
		Cultivated type of <i>var. frutescens</i>	Weedy type of <i>var. frutescens</i>	Cultivated type of <i>var. crispa</i>	Weedy type of <i>var. crispa</i>		
1. E-AAGG+M-CAA.	19	5	10	4	6	10	52.6
2. E-AAGC+M-CTT	15	4	5	4	7	11	73.3
3. E-ACTG+M-CTC	23	11	17	11	13	18	78.3
4. E-ACCG+M-CTG	15	5	8	5	7	10	66.7
5. E-ACAT+M-CAT	17	4	7	3	5	8	47.1
6. E-AAGG+M-CTA	20	4	9	5	9	12	55.0
7. E-ACAT+M-CAC	16	7	8	1	7	11	62.5
Total	125	40	64	33	54	80	
Avg.	17.9	5.71	9.14	4.7	7.7	11.4	62.2
% Polymorphism		32.0	51.2	26.4	43.2	64.0	

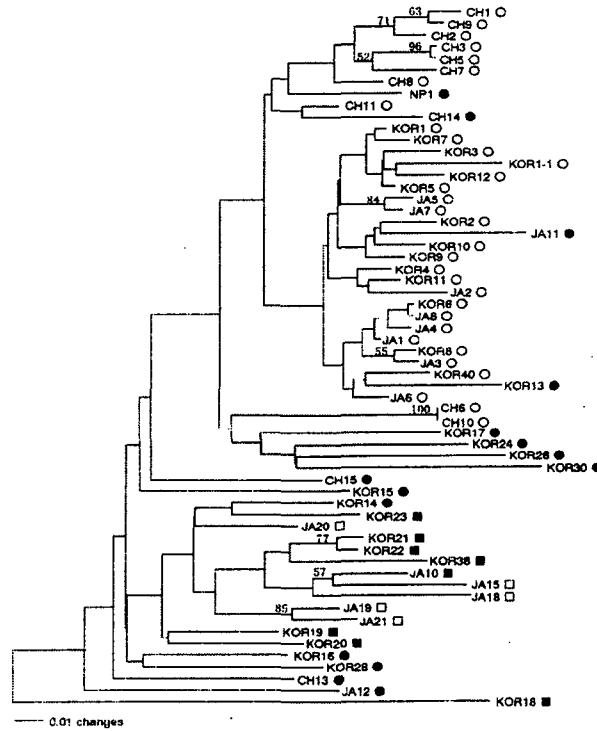


Figure 3. Neighbor Joining tree based on AFLP markers. ○: Cultivated type of var. *frutescens*; ●: Weedy type of var. *frutescens*; □: Cultivated type of var. *crispa*; ■: Weedy type of var. *crispa*

범위로, 1개의 Primer조합 당 평균 11.4개의 다형화 marker들이 발견되었다(Table 3). NJ법에 의하여 작성된 Phylogenetic tree는 Fig. 3에 나타냈다. 그 결과 크게 2개의 group으로 구분되었다. 하나는 재배형 들깨 group이고, 또 다른 하나는 잡초형 들깨와 재배형 차조기 그리고 잡초형 차조기들이 같은 group을 형성하였다. 이상의 결과는 형태적 특징에 의한 분석 결과와 마찬가지로 재배형 들깨와 재배형 차조기는 서로 명확하게 분리되었지만, 재배형 차조기와 잡초형 차조기는 명확하게 분리가 되지 않았다. 한편 재배형 들깨의 경우는 한국과 일본의 계통들이 중국의 계통들보다 서로 가깝게 연관되어 있었다. 그리고 재배형 들깨에서의 유전적 다양성은 중국의 계통들에서 가장 높게 나타났고, 잡초형 들깨에서는 한국의 계통들에서 가장 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 들깨의 기원지가 중국이라는 지금까지의 설을 지지하고 있고, 그리고 한국은 들깨 분화의 2차적 중심지일 가능성을 나타내었다. 그리고 또한, 동아시아에서 들깨의 전파는 중국에서 한국, 그리고 한국에서 일본으로 전파되었을 가능성을 시사하였다.

형태적 그리고 AFLP분석의 결과에 의하면, 잡초형 들깨는 재배형 들깨와 가깝게 연관되어 있으므로 재배형 들깨는 잡초형 들깨로부터 분화되었을(잡초형 들깨의 일부 계통들은 재배형 들깨로부터 도망간 escape type)가능성을 시사하였다. 반면에 재배형 차조기와 잡초형 차조기 사이에서는 유전적 차이가 거의 없었으므로 재배형 차조기는 잡초형 차조기로부터 완전히 분화되지 않고, 야생형질을 지닌 잡초형 차조기가 그대로 재배에 이용되고 있을 가능성을 시사하였다. 또한, 잡초형 들깨와 재배형 또는 잡초형 차조기의 일부 계통들 사이에서 유전적 차이가 거의 없었으므로, 잡초형 들깨와 재배형 및 잡초형 차조기들 사이에서 자연적 교잡이 일어나고 있을 가능성, 또는 잡초형 들깨와 잡초형 차조기가 동일 야생종으로부터 분화되었을 가능성을 나타내었다. 아직까지 동아시아에서 들깨와 차조기의 야생종은 증명되어 있지 않고 있으나, 본 연구에서 취급한 잡초형 들깨와 잡초형 차조기들은 재배형 들깨와 재배형 차조기의 기원과 이들의 분화 과정을 이해하는데, 계통분류학적으로 매우 중요한 위치를 차지하고 있는 것으로 생각되었다. 앞으로 중국을 중심으로 한 보다 많은 유전자원의 수집과 보다 정확한 분석 방법을 도입한다면 가까운 장래에 들깨와 차조기의 기원 그리고 이들 잡초형들의 분류학적 위치가 명확하게 구명이 될 것이다. 끝으로 오늘날 지구상에서 많은 식물 종들의 유전적 침식이 주로 인간에 의하여 일어나고 있다. 특히 산업화의 발달에 따른 국토개발과 환경파괴 그리고 육종기술의 발달에 따른 신품종의 보급 등에 의하여 자연 서식지에서 식물다양성이 파괴되고 있고, 또한 농가에서 옛날부터 재배되고 있던 재래종들이 점점 사라져가고 있다. 이러한 사태에 대처하기 위해서는 무엇보다도 풍부한 유전자원을 탐색, 수집, 보존하는 것이 급선무이며, 이러한 유전자원들은 앞으로 재배식물의 신품종개발을 위한 육종소재로서 매우 중요한 역할을 담당할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Gould, S.J. and R.F. Johnston. 1972. Geographic variation. *Ann. Rev. Ecol.* 3: 457-498.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In G. P. Chapman [ed.], *Grass evolution and domestication*, 159-175. Cambridge University Press, Cambridge.
- Honda, G., Y. Koezuka and M. Tabata. 1990. Genetic studies of fruit color and hardness in *Perilla frutescens*. *Japan J. Breed.* 40: 469-474.
- Honda, G., A. Yuba, T. Kojima and M. Tabata. 1994. Chemotaxonomic and cytogenetic studies on *Perilla frutescens* var. *citodora* ("Lemon Egoma"). *Natural Medicine* 48 :

- 185-190.
- Koezuka, Y., G. Honda, S. Sakamoto and M. Tabata. 1985. Genetic control of anthocyanin production on *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* 26: 859-863.
- Koezuka, Y., G. Honda and M. Tabata. 1986. Genetic control of the chemical composition of volatile oils in *Perilla frutescens*. *Shoyakugaku Zasshi* 39: 228-231.
- Li, H.L. 1969. The vegetables of ancient China. *Econ. Bot.* 23: 235-260.
- Makino, T. 1914. *Perilla ocimoides* Linn. *Botanical Magazine* 28: 180.
- Makino, T. 1961. Makino's New Illustrated Flora of Japan. Hakuryu-kan, Tokyo.
- Nakai, T. 1917. *Perilla hirtella* Nakai. sp. nov. *Botanical Magazine* 31: 285.
- Nagai, I. 1935. On "shiso" and "Egoma". *Agriculture and Horticulture* 10: 2265-2273.
- Nitta, M. and O. Ohnishi. 1999. Genetic relationships among two *Perilla* crops, shiso and egoma, and the weedy type revealed by RAPD markers. *Japan J. Genet.* 74: 43-48.
- Nitta, M. 2001. Origin *Perilla* crops and their weedy type. Ph.D Thesis, Kyoto University, Kyoto.
- Schwanitz, F. 1966. The origin of cultivated plants. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Swofford, D.L. 1999. PAUP. phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, M.A.
- Wyatt, R. and J. Antonovics. 1981. Butterflyweed re-revisited: spatial and temporal patterns of leaf shape variation in *Asclepias tuberosa*. *Evolution* 35: 529-542.