

ITS 및 *rbcL* 염기서열에 근거한 한국 자생 율나무속의 계통분류

이원경* · 김명조* · 허 권*†

*강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부

Phylogeny of Korean *Rhus* spp. Based on ITS and *rbcL* Sequences

Won Kyung Lee*, Myong Jo Kim*, and Kweon Heo*†

*Division of Applied Plant Sciences, Kangwon Natl. Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

ABSTRACT : This study was carried out to confirm the phylogenetic relationships in Korean *Rhus* species. Sequences from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA and *rbcL* gene of chloroplast DNA were determined. *Cotinus coggygria* was selected as outgroup because it is closest allied with *Rhus* in Anacardiaceae. Also, ingroup was limited as six Korean *Rhus* species. ITS 1 sequences in six species of *Rhus* and one species of *Cotinus* ranged from 246 to 253 bp and ITS 2 sequences from 234 to 244 bp. Concerning the G+C content of the studied taxa, ITS 1 sequences ranged from 58.0 to 68.13% and ITS 2 from 59.75 to 68.46%. On the other hand, *rbcL* sequences were same size in the all species examined by 1,428 bp. G+C contents of *rbcL* sequences were ranged from 43.56 to 43.77% which means there are nearly no different from interspecies each other. Phylogenetic tree strongly supports the colse relationships between *R. succedanea* and *R. sylvestris*. *Rhus javanica* and *Cotinus coggygria* were also closely allied with each other in ITS and *rbcL* trees. Therefore, *R. javanica* was regarded as most primitive species among the Korean *Rhus* species. ITS 1 region of nuclear ribosomal DNA was suggested as very useful taxonomical marker for genus *Rhus*.

Key words : ITS, phylogeny, *rbcL*, *Rhus*, urusiol

서 언

율나무과 (Anacardiaceae)는 전세계적으로 약 80속 600여종이 열대 및 아열대지역을 중심으로 넓게 분포하고 있으며, 일부는 온대지방에도 분포하는 것으로 알려져 있다 (Okamoto, 1994). 율나무과는 분류학적으로 4개의 아과 (Anacardioideae, Julianioideae, Pistacioideae, Spondioideae)로 분류되고, 그 중 율나무속 (*Rhus* L.)은 Spondioideae 아과에 분류되어 있으며, 약 200여종이 온대지방을 중심으로 아열대, 열대지방에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다 (Takhtajan, 1997).

율나무속의 형태학적 특징은 대부분이 자웅이주이고, 일

부만이 잡성화이며, 꽃받침은 작고 5개로 갈라지고 수술과 꽃잎은 5개이고, 열매는 작은 핵과이다. 잎은 우상복엽 또는 삼출복엽이며, 줄기에 수지도를 갖는 특징이 있다 (Barkley, 1937; Fernald, 1950). 분류학적으로 율나무속은 매우 복잡하고 형태적인 경계를 규정짓기가 어려워서 분류가 어려운데, 현재까지도 7개의 속 (*Actinocheita*, *Cotinus*, *Malosma*, *Melanococca*, *Metonium*, *Searsia*, *Toxicodendron*)들이 율나무속으로부터 독립된 속으로 분류되어져 나왔다 (Miller *et al.*, 2001). 그 중에서도 율나무속과 *Toxicodendron*속과의 속간 분류학적 특징이 명확하지 않아 학자들 사이에 통합하는 경향과 각각 독립시키는 경향이 공존하고 있다 (Judd *et al.*, 1999). 우리

† Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6412 (E-mail) laurus@kangwon.ac.kr

Received December 27, 2003 / Accepted January 28, 2004

나라에 분포하고 있는 옻나무속 식물은 6종이 있으며, 대부분이 allergy 독성 (urushiol)을 함유하고 있는 종들이다 (Lee, 2003). 현재까지 우리나라에 분포하는 옻나무속에 대한 연구를 보면, Kim (1988)에 의해 화분형태가 연구되었고, Kim *et al.* (1995)은 잎의 해부학적 특징을 조사하여 2차맥의 발달정도, 기공지수 및 표피세포의 형태가 종을 규정하는 특징이라고 보고하였다. Chung *et al.* (1997)은 옻나무속의 화서형태, 과실 및 종자의 해부학적 특징을 조사하여 개옻나무-붉나무-덩굴옻나무 유집군과 옻나무-검양옻나무-산검양옻나무 유집군으로 옻나무속을 분류하였다. 이처럼 외부형태나 해부학적 형태에 관한 연구는 수행되었으나, DNA 분석을 통한 분자식물학적 계통분석에 관한 연구는 Miller *et al.* (2001)의 연구를 제외하면 거의 전무한 실정이다. ITS 지역은 속 단위 이하의 계통분석에 유용한 것으로 입증되었는데 그 이유는 단백질 서열이나 rRNA coding 유전자에 비교하여 divergence율이 빠르기 때문이다 (Baldwin *et al.*, 1995).

본 연구에서는 한국에 분포하는 옻나무속을 대상으로 속

내의 계통유연관계를 정확히 파악하기 위하여 현재 널리 이용되고 있는 nrDNA의 ITS 구간과 cpDNA의 *rbcL* 염기서열을 이용하여 한국산 옻나무속의 종들 사이의 계통유연관계를 밝히고, 차후 옻나무속을 신속히 분류할 수 있는 marker의 탐색을 연구목적으로 하였다.

재료 및 방법

대상 분류군은 국내에 자생하는 종을 대상으로 분류군을 한정하였다. 계통분석을 위한 외군 (outgroup)으로는 옻나무속에 가장 근연식물인 안개나무 (*Cotinus coggygria*)를 사용하였다. 옻나무 (*R. verniciflua*) 종은 지역적 변이 여부를 확인하기 위하여 3개 지역에서 채집하였다. 실험에 사용된 분류군은 Table 1에 나타내었다. 자생지에서 채집한 식물은 표본을 제작하였고, 여분의 잎은 silica-gel을 사용하여 건조시켰다. 건조된 잎은 주맥을 제거한 후 막자사발을 이용하여 분쇄하고, 곱게 분쇄된 분말을 DNA 추출에 사용하였다.

Table 1. Collection data and GenBank accession numbers of species used in this study.

Taxa	Collection data	Accession No.	
		ITS	<i>rbcL</i>
<i>Rhus verniciflua</i> Stokes (C) [†]	Cholanam-do, Wando, Arboretum of Chonnam National University, in May 22, 2003. K. Heo 880 (KWNU).	AY510151	AY510140
<i>R. verniciflua</i> Stokes (H)	Gangwon-do, Heongsung, Gayari in May 2, 2003. K. Heo 877 (KWNU).	AY510149	AY510141
<i>R. verniciflua</i> Stokes (S)	Seoul, Hongneung Arboretum, in June 26, 2003. K. Heo 898 (KWNU).	AY510150	AY510142
<i>R. trichocarpa</i> Miq.	Gangwon-do, Chuncheon, Mt. Daeryong, in June 3, 2003. K. Heo 890 (KWNU).	AY510152	AY510143
<i>R. succedanea</i> L.	Cheju-do, Halla Arboretum, in October 18, 2002. K. Heo 688 (KWNU).	AY510153	AY510144
<i>R. sylvestris</i> Sieb. & Zucc.	Cholanam-do, Wando Ever-Green Arboretum, in May 22, 2003. K. Heo 884 (KWNU).	AY510154	AY510145
<i>R. javanica</i> L.	Gangwon-do, Chuncheon, Mt. Daeryong, in June 3, 2003. K. Heo 892 (KWNU).	AY510155	AY510146
<i>R. ambigua</i> Dippel	Seoul, Hongneung Arboretum, in June 26, 2003. K. Heo 899 (KWNU).	AY510156	AY510147
<i>Cotinus coggygria</i> Scop.	Chungcheongnam-do, Taean, Chollipo Arboretum, in July 11, 2003. s.n. H. J. Jeong (KWNU).	AY510157	AY510148

[†](C), (H), and (S) mean different from collection sites.

Total DNA의 추출은 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)의 방법으로 수행하였다. DNA 농도는 EtBr (ethidium bromide)이 들어있는 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 lambda DNA의 강도를 상대적으로 비교하여 농도를 확인하였다. DNA는 25 ng으로 정량하여 사용하였다.

PCR증폭은 25 ng의 template DNA, 1unit Taq DNA polymerase (TaKaRa), 10X Ex Taq buffer 5 μ l, 25 mM MgCl₂ 3 μ l, 2.5 mM dNTP 4 μ l, 5 μ M primer 2 μ l를 혼합하여 전체 부피가 48 μ l가 되도록 증류수를 채웠다. PCR primer는 ITS 염기서열을 증폭시키는데 White *et al.* (1990)에 의하여 고안된 ITS1과 ITS4를 이용하였

고, *rbcL*에서는 *rbcL* N과 *rbcL* R을 이용하였다. 증폭은 Thermal Cycler 480 (Perkin Elmer, USA)으로 수행하였다. ITS 증폭에서 PCR은 95°C에서 3분 동안 pre-denaturation 시킨 후, 95°C에서 30초의 denaturation, 48°C에서 30초의 annealing, 72°C에서 1분의 extension으로 이루어지는 thermal cycle을 35회 반복하였으며, 72°C에서 10분간 final extension 과정을 거쳐 PCR을 완료하였고, *rbcL*에서는 94°C에서 3분 동안 pre-denaturation 시킨 후, 94°C에서 1분 denaturation, 48°C에서 1분 annealing, 72°C에서 2분의 extension으로 이루어지는 thermal cycle을 30회 반복하였으며, 72°C에서 10분간 final extension 과정 후 PCR 증폭을 완료하였다.

Sequencing은 Sanger *et al.* (1977)에 의해 고안된 방법에 의해 결정하였다. 이중가닥 PCR product를 PCR Purification Kit (QIAGEN)로 정제하였다. Cycle sequencing 반응은 BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied

Biosystems)를 사용하여 수행하였다. Automated sequencing은 ABI PRISM 3700 DNA Analyzer (PE Applied Biosystems)를 이용하였다. Sequencing에 사용된 primer는 Table 2와 3에 나타내었다.

Sequencing 후 얻어진 DNA 염기서열은 Sequencher (version 4.1; Gene Codes, Ann Arbor, Michigan, USA)를 사용하여 일치되는 sequence를 전부 모은 후, CLUSTAL X program (Thompson *et al.*, 1997)을 이용하여 염기서열을 정렬하였다. ITS1, 5.8S, ITS2 구간 및 *rbcL* 구간의 염기서열은 이전 연구자들에 의해 연구된 염기서열과 비교하여 결정하였다 (Yokota *et al.*, 1989; Baldwin, 1995; Käss & Wink, 1996; Hoot, 1995). 염기서열간의 divergence 계산은 Kimura two parameter 방법을 이용하였다 (Kimura, 1980). 계통학적 분석은 PAUP을 사용하여 수행하였고, gap은 분석에서 제외하였다 (Swofford, 1998). 분석 조건은 Heuristic search, TBR swapping을 적용하여 수행하였고, bootstrap value

Table 2. Primers sequence information used in ITS sequencing.

Primer	5'-Sequence-3'	Designed by
ITS 1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	White <i>et al.</i> (1990)
ITS 2	5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'	White <i>et al.</i> (1990)
ITS 3	5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3'	White <i>et al.</i> (1990)
ITS 4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	White <i>et al.</i> (1990)

Table 3. Primers information used in *rbcL* sequencing.

Primer	5'-Sequence-3'	Designed by
<i>rbcL</i> N	5'-ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGC-3'	
<i>rbcL</i> R	5'-TATCCATTGCTGGGAATTCAAATTTG-3'	
Primer OF	5'-GCCGAATCTTCTACTGGTAC-3'	Käss and Wink
Primer NR2	5'-TTACCCACAATGGAAGTAAACATG-3'	W.K. Lee
Primer 2F2	5'-GCGCTCTACGTCTAGAGGATC-3'	W.K. Lee
Primer 3F	5'-TGCGTTGGAGAGACCGTTTC-3'	Käss and Wink
Primer RF	5'-TATTTCACTCAGGATTGGG-3'	Käss and Wink
Primer 1R	5'-GGGTGCCCTAAAGTTCCTCC-3'	Käss and Wink

는 100회 반복하여 얻었다 (Felsenstein, 1985).

결과 및 고찰

국내에서 자생하는 옻나무 종을 대상으로 ITS 및 *rbcL* 유전자를 이용하여 분석한 결과, ITS 1과 ITS 2 구간 및 *rbcL* 구간의 염기서열이 확인되었다 (Table 4). 전체 2속

7종 9 개체의 ITS 1의 길이는 246~253 bp이고, ITS 2는 234~244 bp 범위로 나타났다. ITS 1의 길이는 *Rhus sylvestris*와 *R. succedanea*에서 246 bp로 가장 작았으며, *R. verniciflua*에서 253 bp로 가장 긴 것으로 나타났다. ITS 2의 길이는 *R. verniciflua*가 234 bp로 가장 짧았으며, *R. trichocarpa*가 244 bp로 가장 길게 나타났다.

이들 분류군의 G+C content는 ITS 1에서는 58.0~

Table 4. Sequence size and base composition of internal transcribed spacer (ITS) and *rbcL* sequences.

Taxa	ITS 1		ITS 2		<i>rbcL</i>	
	Size (bp)	G+C (%)	Size (bp)	G+C (%)	Size (bp)	G+C (%)
<i>Rhus verniciflua</i> Stokes (C)	253	59.76	234	60.78	1428	43.63
<i>R. verniciflua</i> Stokes (H)	253	59.76	234	60.78	1428	43.63
<i>R. verniciflua</i> Stokes (S)	252	59.80	234	60.78	1428	43.63
<i>R. trichocarpa</i> Miq.	248	63.49	244	62.45	1428	43.70
<i>R. succedanea</i> L.	246	58.40	243	60.66	1428	43.63
<i>R. sylvestris</i> Sieb. & Zucc.	246	58.00	243	60.66	1428	43.56
<i>R. javanica</i> L.	248	61.90	241	61.98	1428	43.56
<i>R. ambigua</i> Dippel	247	68.13	240	68.46	1428	43.77
<i>Cotinus coggygria</i> Scop.	248	62.30	240	59.75	1428	43.77

68.13%의 범위로 나타났고, ITS 2에서는 59.75~68.46%로 나타나 두 구간이 비슷한 경향을 보였다. ITS 1에서의 G+C content는 *R. sylvestris*가 58.0%로 가장 낮았으며, 가장 높은 값은 *R. ambigua*의 68.13%로 확인되었다. ITS 2에서는 outgroup (외군)인 *Cotinus coggygria*가 59.75%로 가장 낮았으며, *R. ambigua*가 68.46%로 가장 높게 나타났다. *R. ambigua*는 ITS 1과 ITS 2 모두에서 G+C content가 가장 높은 것으로 나타났고, 율나무속에서 ITS 염기서열은 일반적으로 피자식물이 갖는 G+C content 범위 안에 포함되는 것으로 확인되었다 (Table 4).

본 연구에서 조사된 ITS 염기서열의 nucleotide divergence는 0.2~15.5%로 최소값은 한 개의 염기 차이를 갖는 *R. succedanea*와 *R. sylvestris* 사이였으며, 최대값은 *R. sylvestris*와 *R. javanica* 사이로 염기 차이는 74개인 것으로 밝혀졌다. 또한 outgroup인 *Cotinus coggygria*와의 nucleotide divergence는 7.3~14.6%인 것으로 나타나 율나무속내 nucleotide divergence 변화

폭에 포함되는 것으로 나타났다. ITS 염기서열 분석 결과, 율나무속내에서 *Cotinus*속과 가장 가까운 종은 *R. javanica*로 nucleotide divergence가 7.3% 이었고, 염기 차이는 35 bp 이었다. 가장 유연관계가 먼 종은 *R. sylvestris*로 14.6% 이었으며, 염기는 70 bp의 차이가 있음이 밝혀졌다 (Table 5).

한편, *rbcL*의 길이는 1428 bp로 모든 종에서 동일하였다 (Table 4). 또한 *rbcL*의 G+C content는 43.56%~43.77%로 나타나 종간에 거의 차이가 없음을 나타냈고, nucleotide divergence는 0.1~1.0% 범위로 나타나 종간 염기서열의 차이가 거의 없었다 (Table 6). 최소값은 ITS와 마찬가지로 *R. succedanea*와 *R. sylvestris* 사이였고, 염기의 차이도 한 개뿐이었다. 최대값은 14개의 염기 차이가 나는 *R. javanica*와 *R. ambigua*의 1.0%로 확인되었다. 외군인 *Cotinus coggygria*와는 0.4~0.7%로 ITS에서와 마찬가지로 율나무속내 nucleotide divergence 변화 폭에 포함되는 것으로 나타났다. 외군과 가장 가까운 종은 *R. javanica*로 0.4%로 나타났으며, 염기는 5개가 차이 나는

Table 5. Nucleotide divergences of internal transcribed spacer (ITS) sequences.

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>R. verniciflua</i> (C)	-	0.000	0.002	0.129	0.151	0.153	0.14	0.126	0.141
2. <i>R. verniciflua</i> (H)	0	-	0.002	0.129	0.151	0.153	0.141	0.126	0.141
3. <i>R. verniciflua</i> (S)	1	1	-	0.127	0.149	0.151	0.139	0.124	0.139
4. <i>R. trichocarpa</i>	61	61	60	-	0.123	0.125	0.119	0.090	0.106
5. <i>R. succedanea</i>	71	71	70	59	-	0.002	0.153	0.134	0.144
6. <i>R. sylvestris</i>	72	72	71	60	1	-	0.155	0.136	0.146
7. <i>R. javanica</i>	66	66	65	57	73	74	-	0.113	0.073
8. <i>R. ambigua</i>	59	59	58	43	64	65	54	-	0.106
9. <i>C. coggygria</i>	66	66	65	51	69	70	35	51	-

Table 6. Nucleotide divergences of *rbcL* sequences.

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>R. verniciflua</i> (C)	–	0.000	0.000	0.004	0.005	0.004	0.008	0.008	0.004
2. <i>R. verniciflua</i> (H)	0	–	0.000	0.004	0.005	0.004	0.008	0.008	0.004
3. <i>R. verniciflua</i> (S)	0	0	–	0.004	0.005	0.004	0.008	0.008	0.004
4. <i>R. trichocarpa</i>	6	6	6	–	0.004	0.004	0.008	0.008	0.004
5. <i>R. succedanea</i>	7	7	7	5	–	0.001	0.008	0.008	0.006
6. <i>R. sylvestris</i>	6	6	6	6	1	–	0.008	0.008	0.004
7. <i>R. javanica</i>	12	12	12	12	11	12	–	0.010	0.004
8. <i>R. ambigua</i>	12	12	12	12	11	12	14	–	0.007
9. <i>C. coggygria</i>	6	6	6	6	8	6	5	10	–

것으로 나타났다. 가장 먼 종은 *R. ambigua*로 10개의 염기차이를 보였다. 하지만, *rbcL*은 변이 속도가 너무 느리고, 1,428 bp 중 염기 차이도 최대 14 bp 밖에 되지 않아 속내의 계통을 규명하기에는 계통학적 유용성이 매우 적었다 (Table 6). 이러한 결과는 *rbcL* gene이 종 단위 이하의 계통유연관계를 해석하는 데는 유용하지 못하다는 기존의 결과와 일치하였다 (Olmstead & Reeves, 1995). 한편, ITS sequence variation은 15% 범위내로서 중간 계통유연관계를 해석하는데 좋은 해상력을 제공하였다.

계통학적 분석은 조사된 모든 종에서 염기서열의 5.8S 부분을 제외하고 ITS 1과 ITS 2 구간의 염기서열만을 사용하여 수행하였다. 본 연구에서 *Cotinus coggygria*를 외군으로 사용하여 얻은 PAUP 분석결과, tree length는 183 step이었고, consistency index (CI)는 0.863이었으며, retention index (RI)는 0.848로 나타났다 (Fig. 1A). 먼저 계통수의 기부에서 *R. javanica*는 outgroup과 같은 clade (분지군)에 위치하였고, 다른 종들의 sister group (자매군)이 되었다. 그 다음으로 분지해 나온 것이 *R. ambigua* 이었으며, 다음으로 *R. succedanea*–*R. sylvestris* 군이 분지하여 이 두 종은 매우 근연인 것으로 나타났다. 마지막으로 *R. trichocarpa*와 *R. verniciflua*가 분지해 나왔다. 각기 다른 지방 (서울, 황성, 완도)에서 채집된 *R. verniciflua*는 지역적 차이에 의한 변이가 거의 없음을 확인할 수 있었다 (Fig. 1A, B & Tables 5, 6). Bootstrap 분석 결과, 50~100%의 bootstrap value가 나타나 비교적 안정성이 있는 것으로 밝혀졌다. *Rhus trichocarpa*와 *R. ambigua*가 *R. verniciflua*, *R. succedanea* 및 *R. sylvestris*의 sister group임을 나타내는 clade에서의 bootstrap value는 100%임을 나타내었다. 또한 *R. succedanea*와 *R. sylvestris*로 구성된 clade 역시 100%로 매우 강한 지지를 보여주어 상당히 근연종임을 나타내고 있다 (Fig. 1A).

한편, *rbcL*의 계통분석 결과, tree length는 30 step이었

고, consistency index (CI)는 0.83이었으며, retention index (RI)는 0.688로 나타났다. 개웃나무의 계통학적 위치는 *rbcL* 계통수에서 산검양옻나무–검양옻나무–개웃나무–옻나무 분지군으로 동일분지군에 포함되는데 반해서, ITS 계통수에서는 개웃나무가 산검양옻나무–검양옻나무–개웃나무 분지군의 자매군으로 위치한다 (Fig. 1A, B).

계통수 분석 결과, 우리나라에 자생하는 종들 중 붉나무를 제외한 5개종이 단계통을 나타냈으며, 이것은 Miller *et*

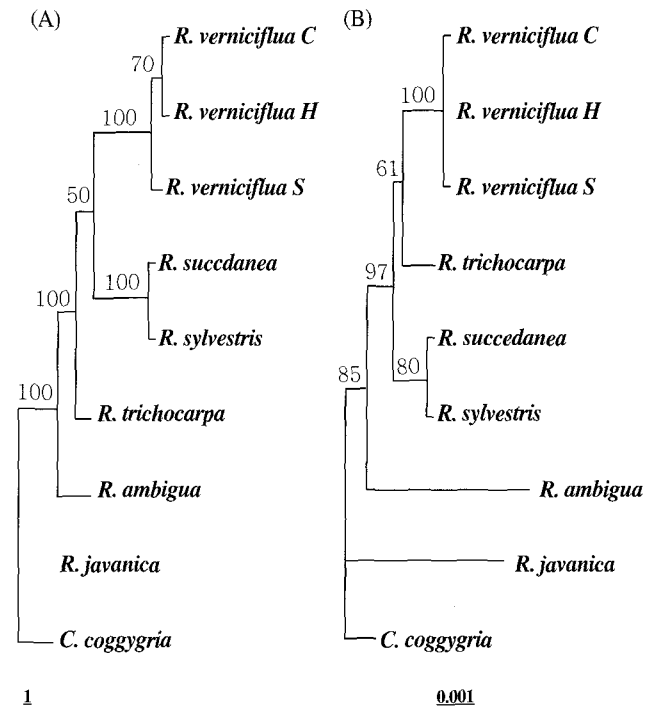


Fig. 1. The neighbor-joining trees of ITS sequences (A) and *rbcL* sequences (B). Numbers above branches indicate the bootstrap values higher than 50%.

al. (2001)의 연구와 일치하는 결과를 보여주었다. Miller et al. (2001)의 연구 결과를 보면, *Rhus*속은 형태학적으로 매우 복잡하고, 여러 속을 포함하고 있는 다계통군이며, 그 중 *Toxicodendron*속은 단계통임을 시사하고 있다.

Barkley (1937)는 옷나무속과 *Toxicodendron*속을 구분하는 특징으로 옷나무속은 붉은색 열매의 표면에 붉은색 선모를 갖고, 수지는 allergy 독성을 나타내지 않는 반면, *Toxicodendron*속의 열매는 광택이 나며 녹색 또는 흰색을 띠고, 수지는 allergy를 일으키는 것으로 정의하고 있다. 만일 Barkley (1937)의 기준에 따른다면, 우리나라에 분포하는 옷나무 속중에서 붉나무는 *Rhus*속으로, 그 외 옷나무, 개옷나무, 검양옷나무, 산검양옷나무, 덩굴옷나무는 *Toxicodendron*속으로 처리하여야 할 것이다. 본 연구에서 얻어진 계통수에서도 붉나무 (*R. javanica*)만을 제외하고 나머지 종들은 단계통을 구성하는 것으로 보아 Barkley의 분류기준을 지지하는 것으로 판단된다.

적 요

한국산 옷나무속 6종에 대하여 분자식물학적 방법으로 계통유연관계를 확인하기 위하여, nrDNA의 ITS 구간과 cpDNA *rbcl* 염기서열을 사용하여 계통분석한 결과 ITS 1의 길이는 246~253 bp이었고, ITS 2는 234~244 bp이었다. ITS 1의 길이는 *Rhus sylvestris*와 *R. succedanea*에서 246 bp로 가장 작았으며, *R. verniciflua*에서 253 bp로 가장 긴 것으로 나타났다. ITS 2의 길이는 *R. verniciflua*가 234 bp로 가장 짧았으며, *R. trichocarpa*가 244 bp로 가장 길게 나타났다. 이들 분류군의 G+C content는 ITS 1에서는 58.0~68.13%의 범위를 나타냈고, ITS 2에서는 59.75~68.46%로 나타나 두 구간이 비슷한 비율을 보이고 있었다. ITS 1에서의 G+C content는 *R. sylvestris*가 58.0%로 가장 낮았으며, 가장 높은 값은 *R. ambigua*가 68.13%로 확인되었다. ITS 2에서는 외국인 *Cotinus coggygria*가 59.75%로 가장 낮았으며, *R. ambigua*가 68.46%로 가장 높게 나타났다. 한국산 옷나무속에서 ITS 염기서열은 일반적으로 피자식물이 갖는 G+C content 범위 안에 포함되는 것으로 확인되었다. 한편, *rbcl*의 길이는 1,428 bp로 모든 종에서 동일하였다. 또한 *rbcl*의 G+C content는 43.56%~43.77%로 나타나 종간에 거의 차이가 없음을 확인하였다. 연구결과 *rbcl* gene은 옷나무속의 종간 계통유연관계를 해석하는데 유용하지 않았으며, ITS 1 구간의 염기서열 변이는 향후 옷나무속을 분류할 때 신속하게 분류할 수 있는 분류 marker로 이용할 수 있다고 판단되었다.

사 사

본 연구는 경기도 가평군과 가평축협이 옷을 활용한 기능성 축산물 생산사업 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사로 표하며, 익명의 심사위원 두 분에게도 감사한다.

LITERATURE CITED

- Barkley FA (1937) A monographic study of *Rhus* and its immediate allies in north and central America including the west Indies. Ann. Missouri Bot. Gard. 24:265-500.
- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wokciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ (1995) The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence of angiosperm phylogeny. Ann. Missouri Bot. Gard. 82:247-277.
- Chung JM, Kim SS (1997) Reconsideration of *Rhus* (Anacardiaceae) with respect to fruit, seed and inflorescence. J. Korean For. Soc. 86(3):288-300.
- Fernald ML (1950) Gray's manual of botany, 8th edition. American Book Company. p. 976-979.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evol. 39:783-791.
- Hoot SB (1995) Phylogeny of the Ranunculaceae based on preliminary *atpB*, *rbcl* and 18S nuclear ribosomal DNA sequence data. Plant Syst. Evol. [Suppl.] 9:241-251.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF (1999) Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. Sinauer Associates, Sunderland, MA U.S.A. p. 338-340.
- Käss E, Wink M (1996) Molecular evolution of the Leguminosae: phylogeny of the three subfamilies based on *rbcl* sequences. Biochem. Syst. & Ecology 24(5):365-378.
- Kim YK (1988) A study on the pollen morphology of Anacardiaceae in Korea. Master Thesis, Chonbuk National University.
- Kim SS, Chung JM (1995) Taxonomic characteristics of Korean native Anacardiaceae. J. Korean For. Soc. 84(2):151-165.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparable studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16:111-120.
- Lee TB (2003) Coloured Flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul, Korea. p. 684-687.
- Miller AJ, Young DA, Wen J (2001) Phylogeny and biogeography of *Rhus* (Anacardiaceae) based on ITS sequence data. J. Plant Sci. 162(6):1401-1407.
- Okamoto S (1994) Botanical World. Weekly Magazine of Asahi News Paper Co. Japan. 32:236-246.
- Olmstead RG, Reeves PA (1995) Evidence for the polyphyly of the Scrophulariaceae based in chloroplast *rbcl* and *ndhF* sequences. Ann. Missouri Bot. Gard. 82:176-193.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-termination inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74:5463-5467.

- Swofford DL** (1998) PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0.1 Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Takhtajan AL** (1997) Diversity and Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. p. 643.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG** (1997) The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876-4882.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J** (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* M. Innis, S. Gelfand, J. Sninsky, and T. White (eds.), *PCR Protocols: A guide to methods and application*. Academic Press, San Diego. p. 315-322.
- Yokota YI, Kawata T, Iida Y, Kata A, Tanifuji S** (1989) Nucleotide sequences of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions in carrot and broad bean ribosomal DNA. *J. Mol. Evol.* 29:294-301.