Algae
Volume 19(3): 153-160, 2004

*cox*III 유전자 염기서열 분석에 의한 팔장고말 complex(녹조식물문)의 계통 연구

문병렬 · 이옥민*

(경기대학교 생물학과)

A Phylogenetic Study of *Staurastrum* Complex (Chlorophyta) Inferred from *cox*III Sequence Analysis

Byeong-Ryeol Moon and Ok-Min Lee*

Department of Biology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

The intergeneric relationship of *Staurastrum* complex including genus *Arthrodesmus* and *Xanthidium* was studied on the basis of mitochondrial *cox*III sequence variation. Teiling's suggestion that *Staurodesmus* was an independent genus apart from genus *Staurastrum*, *Arthrodesmus* and *Cosmarium* was also reevaluated. The phylogeny inferred from *cox*III gene was not consistent with morphological characteristics of *Staurastrum* complex. Genus *Staurastrum* was closely related to genus *Xanthidium* in the phylogenetic analysis of *cox*III, but distant to genus *Staurodesmus*. The taxonomic treatment of genus *Staurodesmus* as an independent entity could not be determined, because *Staurodesmus* did not firm a monophyletic clade. Therefore, genus *Staurodesmus* could not be treated as an independent genus as Prescott *et al.* (1982) claimed.

Key Words: *cox*III, *Staurastrum* complex, *Staurodesmus*

서 론

물먼지말류에 관한 연구는 19세기 중반 Meneghini(1840)와 Ralfs(1848)에 의해 기초가 확립되었다. 현재 국외에서는 식물상이 완성된 단계이나(West and West 1905; Krieger and Gerloff 1962, 1965; Prescott *et al.* 1975, 1977, 1981, 1982; Croasdale *et al.* 1983), 국내에서는 팔장고말속 (*Staurastrum*) 식물이 57종 32변종 6품종의 총 65분류군, 큰 가시장고말속 (*Xanthidium*) 식물이 6종 3변종의 9분류군 그리고 작은 가시장고말속(*Arthrodesmus*) 식물이 2종 3변종의 5분류군만이 보고 되었을 뿐 이에 대한 연구가 미흡한 실정이다(Chung 1993; 이 등 1996).

McCourt *et al.*(2000)은 *rbc*L 유전자 염기서열 분석을 통하여 접합 녹조류에 대한 계통수를 제안하였고, 접합 녹조류가 단계통임을 확인하였다. 그러나 Gontcharov *et al.*(2003)은 SSU rDNA 염기서열 분석을 통해 물먼지말류는 단계통이나, 물먼지말류 중 많은 속들이 다계통임을 제안하였다. 국내의 물먼지말류에 관한 연구는 핵 rDNA ITS에 의한 장고말속에 관한 연구(Lee 2001)와 엽록체 *rbc*L 유전자의 염기서열 분석에 의한 장고말속과 팔장고말속에 관한 연구가 있다(Nam and Lee 2001a, b). 또한 *cox*III 유전자 염기서열 분석에 의한 장고말속 등의 연구에서는 일부 팔장고말속 식물이 다른 팔장고말 식물들과 공통 분기를 형성하지 않고, 장고말속 식물들과 같은 분기를 형성하는 결과를 나타냈다(Moon and Lee 2003).

팔장고말속 식물은 크게 팔을 갖는 분류군과 갖지 않는 분류군으로 나뉜다. 팔을 갖는 분류군들은 타원형 또는 삼각형 이상의 다양한 극면 형태를 가지며(Division I), 팔이 없는 분류군들은 타원형을 제외한 삼각형 이상의 극면 형태를 갖는다(Division II)(Prescott *et al.* 1982). 팔장고말속 식물의 세포벽은 평활하거나 과립, 강모 등으로 장식되어 있다. 작은 가시장고말속 식물은 각 측연 상부에 한 개의 강모를 가지고, 극면이 타원형이며 세포벽은 평활하다. 큰 가시장고말속은 반세포 측연 상부에 한 쌍의 강모를 가지며, 세포벽은 평활하고, 반세포의 중앙부가 부풀어 있으며, 세포의 극면은 타

*Corresponding author (omlee@kyonggi.ac.kr)

원형이다(Prescott *et al.* 1982). 이와 같이 3속 식물들은 유사한 형태적 형질을 공유하기 때문에 형태적 형질에 의한 물먼지말류의 계통수에서 가장 근연한 집단에 속한다(Prescott *et al.* 1982).

Teiling(1948, 1967)은 대부분의 작은 가시장고말속 식물과 팔이 없고 단순한 강모와 평활한 세포벽을 갖는 팔장고말속 식물과 소수의 장고말속 식물을 *Staurodesmus*로 명명하였다. Prescott *et al.*(1982)은 북미의 물먼지말에 대한 연구에서 *Staurodesmus*속을 사용하지 않고 *Arthrodesmus*속, *Staurastrum*속, *Xanthidium*속, *Cosmarium*속으로 이명처리 하였다. 그러나 Gerrath(1993)는 *Arthrodesmus*속은 비합법적이며, 이 속의 대부분을 *Staurodesmus*속으로 사용해야 한다고 제안하였다. Brook(1981)과 Gontcharov *et al.*(2003)은 Gerrath(1993)와 같이 *Staurodesmus*속을 사용하였다.

본 연구에서는 Teiling(1948, 1967)이 제안한 *Staurodesmus*속으로 일부 분류군들이 서로 묶여 있는 팔장고말과 작은 가시장고말, 그리고 이 속들과 형태적 유사성을 공유하는 큰 가시장고말을 팔장고말속 complex로 지칭하였다. 팔장고말속 complex에 속하는 각 분류군들의 mitochondria *cox*III (cytochrome oxidase subunit III) 유전자 염기서열 비교를 통하여 3속 식물들 간의 유연관계를 파악하고, 팔장고말속의 형태적 형질에 의한 분류체계와 비교하고자 하였다. 또한 다른 속으로 이명 처리된 10분류군을 선별하여 *Staurodesmus*속에 대한 Teiling(1948, 1967)의 제안을 검토하고자 하였다.

재료와 방법

연구 대상 식물 5속 27분류군 중, 팔장고말속 13분류군과 장고말속 1분류군 그리고 *Actinotaenium*속 1분류군은 경상남도, 경기도, 강원도 일대의 호소에서 채집되었으며, 작은 가시장고말속과 큰 가시장고말속 그리고 일부 팔장고말속 식물은 독일 Hamburg대학의 접합조류 배양실(SVCK)로부터 분양받아 사용하였다(Table 1). SVCK로부터 분양받은 분류군들 중 4분류군의 팔장고말속 식물과 작은 가시장고말속 식물과 경상남도 창녕군 영산면 소재의 장척호에서 채집된 *Staurastrum dejectum* 그리고 경기도 장지리에서 채집된 *Cosmarium obsoletum*은 Teiling(1948, 1967)에 의해 제안된 *Staurodesmus*속에 포함되는 분류군들이다(Table 1). *Actinotaenium*속은 팔장고말속 complex와 같은 과에 속하는 한 속으로서 outgroup으로 사용되었다.

모든 대상 분류군 식물들은 25°C, 16:8의 일장주기와 40 μmol $m^{-2} \cdot s^{-1}$의 광조건 하에서 Bold's Basal 배지(Bold and Wynne 1978)와 WEES 배지(Kies 1967)를 사용하여 10-14일간 대량 배양하였다. 대량 배양하여 모아진 시료 0.1 g에 액체질소를 가하여 급속 냉동시킨 후, homogenizer를 사용하여 분말상태로 마쇄하고 DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)로 total genomic DNA를 추출하였다. 이렇게 추출된 mitochondrial DNA를 포함한 total genomic DNA를 주형으로 forward primer CF(5′-CTTAGGCGGTGTTATGTACA-3′)와 reverse primer CR(5′-TGCTTTG AAGTAAAATGACC-3′)을 이용하여 *cox*III 유전자의 증폭을 위한 PCR 과정을 수행하였다. Primer들은 물먼지말류 식물들의 mitochondrial *cox*III 염기서열(Moon and Lee 2003)을 기초로 하여 제작되었다. PCR과정을 위해 약 100 ng의 DNA와 각각 20 pmol의 primer, 2 μl의 10X buffer, 5 mM의 dNTP, *Taq* DNA polymerase 5 units를 멸균된 증류수를 이용하여 최종 부피 20 μl로 PCR 반응액을 제조하였다. 이렇게 제조된 시료는 최초 94°C에서 4분간 pre-denaturation 한 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 45°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension하는 과정을 30회 반복한 후 72°C에서 10분간 final-extension하는 과정을 거쳐 반응을 종결하였다. 증폭된 PCR 산물은 전기영동 과정을 거쳐 반응의 성공여부를 판별한 후 AccuPrep™ Gel Perification Kit(Bioneer, Korea)를 사용하여 정제하고 T4 DNA polymerase(MBI Fermentas, Lithuania)를 이용하여 pBlueXcm vector에 ligation한 후 *E. coli* strain DH5α에 형질 전환 하였다(Sambrook *et al.* 1989). AccuPrepTM Plasmid Extraction Kit(Bioneer, Korea)를 사용하여 형질전환이 확인된 *E. coli*의 배양액으로부터 plasmid DNA를 회수하였다. Automated DNA sequencing system(ABI 377: Applied Biosystem, Forster City, CA, USA)과 vector의 universal primer인 T3 primer와 T7 primer를 이용하여 회수된 plasmid DNA로부터 *cox*III 유전자의 염기서열을 확보하였다. 결정된 염기서열들은 Clustal X(Thompson *et al.* 1999)를 이용하여 정렬되었다. 염기서열 자료를 통한 각 분류군 간의 계통유연관계 분석을 위해 PAUP*4.0b8(Swofford 2002)의 최대절약분석(Maximum Parsimony analysis)과 최대유사분석(Maximum Likelihood analysis)을 실시하였으며, 이 때 얻어진 모든 형질을 동등한 값으로 사용하여 Branch and Bound search와 Heuristic search를 각각 실시하였다. 계통수의 topology에서 각 node에 대한 신뢰도를 측정하기 위해 bootstrap 분석(Felsenstein 1985)을 실시하였다. 또한 Kimura 2-parameter(Kimura 1980)에 의한 pairwise distance를 구하여 각 분류군 간의 염기서열 변이를 비교하였다.

결 과

팔장고말 complex에 속하는 분류군들의 속간, 속내의 계통유연관계를 분석하기 위하여 작은 가시장고말속 4분류군, 큰 가시장고말속 4분류군, 팔장고말속 17분류군, 장고말속 1분류군의 mitochondrial *cox*III 유전자 염기서열 분석을 실시

Table1. Information of strains and GenBank accession number of *cox*III sequences for this study

Taxon	Collection Site	Section[1]	GeneBank Acc. No.
Ingroup			
Arthrodesmus bulnhemii Raciborski	SVCK[2] 84		AY553562
(*Staurodesmus bulnhemii* (Racibo.) Brook			
A. convergens Ehrenberg *ex* Ralfs	SVCK 40		AY553561
(*Staurodesmus convergens* (Ehrenb.) Teil.)			
A. validus Scott & Gr nbld	SVCK 457		AY266343
(*Staurodesmus validus* (West et West) Thomasson)			
A. subulatus Kützing	SVCK 427		AY553563
(Staurodesmus triangularis (Lagerh.) Teiling			
Xanthidium antilopaeum (Brébis.) Kützing	SVCK 28		AY553571
X. armatum (Brébis.) Rabenh.	SVCK 161		AY553572
X. brebissonii Ralfs	SVCK 379		AY553574
X. hastiferum Turnner	SVCK 161		AY553573
Staurastrum clepsydra Nordstedt	SVCK 87	I-B	AY553564
(*Staurodesmus clepsydra* (Nordst.) Teiling)			
S. isthmosum (Heimerl) Coesel	SVCK 466	I-E	AY553566
(*Staurodesmus isthmosus* (Heimerl) Croasdale)			
S. o'maerii Archer	SVCK 467	I-E	AY553567
(*Staurodesmus o'maerii* (Archer) Teiling)			
S. dejectum Brébis. *ex* Ralfs Ⓐ	SVCK 200	I-E	AY553565
(*Staurodesmus dejectus* (Brébis.) Teiling)			
S. dejectum Brébis. *ex* Ralfs Ⓑ	Jangcheok lake, Gyeongsangnam-do	I-E	AY266344
(*Staurodesmus dejectus* (Brébis.) Teiling)			
S. dilatatum (Ehrenb.) Ralfs	Idong reservoir, Gyeonggi-do	I-C	AY553577
S. hexacerum var. *aversum* West *et* West	Beongae lake, Gyeongsangnam-do	II-K	AY553568
S. affine West et West	Seojije, Chungcheongnam-do	II-K	AY553882
S. iotanum Wolle	Tonggok reservoir, Gyeonggi-do	II-K	AY553575
S. margaritaceum Ralfs	Upo wetland, Gyeongsangnam-do	I-G	AY553569
S. crenulatum (Nägeli) Delponte Ⓐ	Beongae lake, Gyeongsangnam-do	II-K	AY553578
S. crenulatum (Nägeli) Delponte Ⓑ	Beongae lake, Gyeongsangnam-do	II-K	AY553581
S. punctulatum (Brébis.) Ralfs	Daesan-myeon, Gyeongsangnam-do	I-C	AY266342
S. punctulatum var. *pygmaeum* (Brébis.) West *et* West Ⓐ	Bugu lake, Gyeongsangnam-do	I-C	AY553579
S. punctulatum var. *pygmaeum* (Brébis.) West *et* West Ⓑ	Gwanggyo lake, Gyeonggi-do	I-C	AY553580
S. subgemmulatum West *et* West	Jangcheok lake, Gyeongsangnam-do	II-K	AY553576
S. natator West	Upo wetland, Gyeongsangnam-do	II-J	AY553570
Cosmarium obsoletum Hantzsch	Jangji-ri, Gyeonggi-do		AY553583
(*Staurodesmus obsoletus* (Hantzs.) Teiling)			
Outgroup			
Actinotaenium wollei (West et West)			
Teiling ex Růžička & Pouzar	Idong reservoir, Gyeonggi-do		AY553584

[1] Taxonomic treatment followed Prescott *et al.* (1982)
[2] SVCK; Sammlug von Conjugaten-Kulturen, University of Hamburg, Germany

하였고, *Actinotaenium*속 1분류군을 군외군으로 사용였다. 분석결과 유전자의 전체 염기서열 중 forward primer와 reverse primer의 염기서열을 제외한 107번째 염기에서부터 681번째 염기까지 총 575개의 염기서열을 확인하였다.

Kimura 2-parameter method(Kimura 1980)에 의해 얻어진 각 분류군들 간의 염기서열 차이의 평균은 작은 가시장고말속 식물들 사이에서는 10.3%로 나타났으며, 팔장고말속 식물 사이에서는 11.2%, 큰 가시장고말속 식물들 사이에서는 1.9%로 나타났다. 그리고 4분류군의 작은 가시장고말속 식물과 5분류군의 팔장고말속 식물과 1분류군의 장고말속 식물을 포함하는 *Staurodesmus* Teiling(1948) 속내 종간에는 16.7%로 나타났다. 팔장고말속은 작은 가시말속과 15.6%, 큰 가시장고말속과 8.9% 그리고 *Staurodesmus*속과는 18.9%의 차이를 보였다. 팔장고말속 식물과 *Cosmarium obsoletum*의 유전적 차이는 11.3%로 나타났다. 작은 가시장고말속과 큰 가시장고말속 간에는 13.5%, 작은 가시장고말속과

Table 2. Pairwise distance comparison among the 27 taxa analyzed in this study. The distances were calculated by Kimura 2-parameter method (Kimura 1980)

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
*1 *Arthrodesmus convergens*	-													
*2 *A. subulatus*	0.00174	-												
*3 *A. validus*	0.02475	0.02655	-											
4 *Staurastrum punctulatum* var. *pygmaeum* A	0.13526	0.13739	0.14577	-										
5 *S. punctulatum* var. *pygmaeum* B	0.13320	0.13533	0.14369	0.00174	-									
6 *S. subgemmulatum*	0.13327	0.13540	0.14376	0.00699	0.00524	-								
7 *S. punctulatum*	0.13327	0.13540	0.14376	0.00699	0.00524	0.00349	-							
8 *S. hexacerum var. aversum*	0.13988	0.14205	0.15048	0.01938	0.01760	0.01583	0.01583	-						
9 *S.* sp.	0.14186	0.14402	0.15248	0.02659	0.02480	0.02301	0.02301	0.02125	-					
10 *S. margaritaceum*	0.13157	0.13372	0.14620	0.03928	0.03745	0.03563	0.03200	0.04482	0.05231	-				
11 *S. dilatatum*	0.13138	0.13352	0.14601	0.03744	0.03562	0.03380	0.03018	0.04297	0.05043	0.00699	-			
12 *S. iotanum*	0.18116	0.18347	0.19422	0.12469	0.12265	0.12062	0.11864	0.13108	0.13961	0.11687	0.11080	-		
13 *S. crenulatum* A	0.12114	0.12325	0.13130	0.06163	0.05975	0.05787	0.05414	0.06551	0.07326	0.03933	0.03564	0.11055	-	
14 *S. crenulatum* B	0.12325	0.12537	0.13343	0.06353	0.06165	0.05977	0.05603	0.06744	0.07522	0.04118	0.03748	0.11260	0.00174	-
15 *S. natator*	0.12964	0.13178	0.13557	0.07116	0.07307	0.07116	0.06736	0.07512	0.08685	0.04858	0.04484	0.11869	0.01405	0.01583
16 *Xanthidium antilopaeum*	0.12731	0.12943	0.13988	0.07309	0.07119	0.06929	0.06551	0.07707	0.08685	0.05244	0.04498	0.13147	0.05424	0.05614
17 *X. brebissonii*	0.12528	0.12740	0.14195	0.07119	0.06929	0.06740	0.06363	0.07516	0.08492	0.05059	0.04315	0.12943	0.05239	0.05429
18 *X. hastiferum*	0.13352	0.13567	0.14620	0.07116	0.06926	0.06736	0.06359	0.07512	0.08091	0.05805	0.05054	0.13362	0.05805	0.05997
19 *X. armatum*	0.12308	0.12519	0.14168	0.08077	0.07884	0.07692	0.07309	0.08476	0.08864	0.05607	0.05417	0.13526	0.05975	0.06165
*20 *Cosmarium obsoletim*	0.13755	0.13970	0.14376	0.09659	0.09664	0.09860	0.09860	0.09872	0.10881	0.09286	0.09085	0.14810	0.09286	0.09488
21 *Actinotaenium wollei*	0.13755	0.13970	0.14376	0.09860	0.09866	0.10063	0.10063	0.10076	0.11087	0.09488	0.09286	0.15028	0.09488	0.09691
*22 *Arthrodesmus bulnhemii*	0.15268	0.15490	0.15923	0.12090	0.11889	0.12106	0.11913	0.12335	0.13598	0.11503	0.11087	0.16798	0.10881	0.11087
*23 *Staurastrum isthmosum*	0.18130	0.18361	0.19903	0.16123	0.15911	0.15923	0.15724	0.15501	0.17280	0.14900	0.14900	0.20200	0.15737	0.15737
*24 *S. omaerii*	0.17683	0.17913	0.19446	0.15689	0.15478	0.15490	0.15292	0.15070	0.16838	0.14472	0.14472	0.19946	0.15304	0.15304
*25 *S. dejectum* A	0.22037	0.22283	0.21113	0.20338	0.20114	0.19890	0.19681	0.19890	0.20126	0.19756	0.19252	0.20062	0.18508	0.18738
*26 *S. dejectum* B	0.19931	0.20168	0.19946	0.17852	0.17635	0.17646	0.17442	0.18130	0.18334	0.17280	0.16597	0.18980	0.17024	0.17252
*27 *S. clepsydra*	0.20888	0.21130	0.20154	0.19946	0.19961	0.20423	0.19978	0.20905	0.21599	0.19047	0.19018	0.21721	0.19252	0.19487

Species	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
15 *S. natator*	-												
16 *Xanthidium antilopaeum*	0.05997	-											
17 *X. brebissonii*	0.05810	0.00524	-										
18 *X. hastiferum*	0.06758	0.01052	0.01228	-									
19 *X. armatum*	0.06547	0.02655	0.02475	0.03379	-								
*20 *Cosmarium obsoletim*	0.08685	0.06753	0.06942	0.07522	0.06923	-							
21 *Actinotaenium wollei*	0.08884	0.06947	0.07136	0.07718	0.07116	0.00174	-						
*22 *Arthrodesmus bulnhemii*	0.11904	0.09067	0.09063	0.09468	0.09441	0.10242	0.10041	-					
*23 *Staurastrum isthmosum*	0.15514	0.14046	0.14252	0.14459	0.14021	0.15501	0.15280	0.14393	-				
*24 *S. omaerii*	0.15082	0.13623	0.13828	0.14033	0.13598	0.15070	0.14850	0.14168	0.00349	-			
*25 *S. dejectum* A	0.18489	0.19252	0.19238	0.19694	0.19434	0.18270	0.18270	0.19644	0.18738	0.18518	-		
*26 *S. dejectum* B	0.16798	0.15751	0.15737	0.15948	0.16347	0.15669	0.15449	0.17203	0.17226	0.16785	0.06748	-	
*27 *S. clepsydra*	0.18813	0.20514	0.20737	0.20475	0.21205	0.20154	0.20392	0.21656	0.21519	0.21052	0.21534	0.19917	-

* The taxa included in *Staurodesmus*

*Cosmarium obsoletum*은 14.3%, 큰 가시장고말속과 *Staurodesmus*속은 14.6%, 큰 가시장고말속과 *Cosmarium obsoletum*은 7.2%, *Staurodesmus*속과 *Cosmarium obsoletum*은 15.8%의 차이를 나타냈다(Table 2).

575 bp의 염기서열을 기초로 한 분류군간의 최대절약분석(Maximum Parsimony analysis) 결과 373개의 염기들은 보존되어 있었으며, 변이를 보인 202개의 염기 중 45개는 MP 분석에서 유의하지 않았고, 157개만이 계통분석에 있어 유의한 informative character인 것으로 나타났다. 분석결과 506 step의 9개 등가절약 계통수(most parsimonious tree)를 구하였으며, 이 계통수들을 근거로 엄밀합의 계통수(strict consensus tree)를 구하였다(Fig. 1). 이 계통수의 consistency index(CI)는 0.6107, retention index(RI)는 0.7481 그리고 rescaled consistency index(RC)는 0.4568이었다.

계통수에서 큰 가시장고말속 식물이 형성하는 분지와 *Cosmarium obsoletum*을 제외한 *Staurodesmus*속에 포함되는 식물이 형성하는 분지와 12분류군의 팔장고말속 식물이 형성하는 분지로 나뉘었으나 이와 같은 node는 bootstrap value에

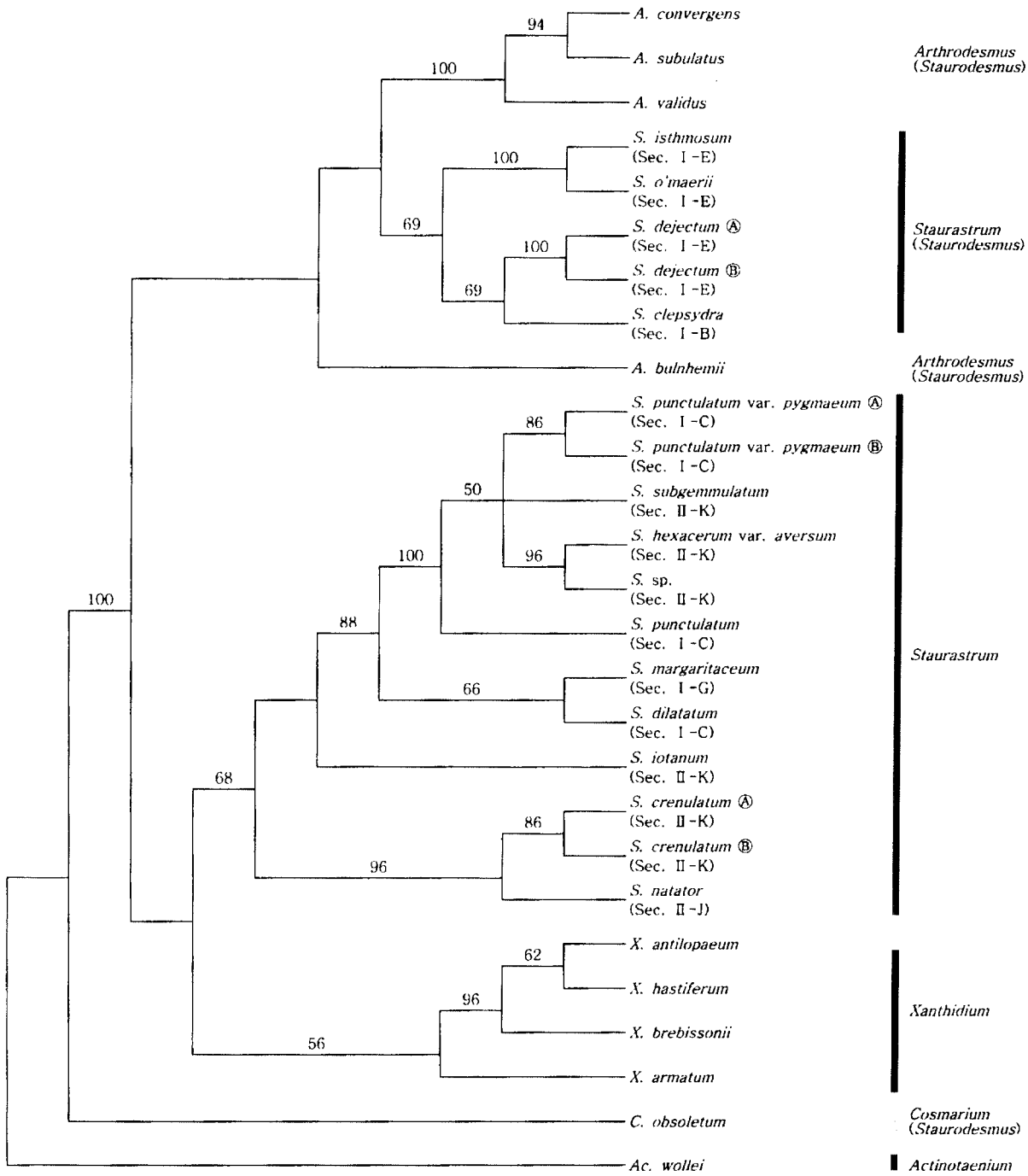

Fig. 1. Strict consensus tree of 9 most parsimonious trees obtained from aligned *cox*III sequences data of 27 taxa. Numbers above branches represent bootstrap values greater than 50%.

의하여 지지되지 않았다.

최대유사분석법(Maximum likelihood analysis)에 의해 구해진 계통수에서는 최대절약분석법 의해 구해진 계통수에서 나타나는 *Staurodesmus*속 식물이 형성하는 분지가 3분류군의 작은 가시장고말속 식물이 형성하는 분지와 1분류군의 작은 가시장고말속 식물과 5분류군의 팔장고말속 식물이 형성하는 분지로 분리되는 결과를 나타냈다(Fig. 2). 또한 17분류군의 팔장고말속 식물이 형성하고 있는 분지 내에서도 *Staurastrum iotanum*이 형성하는 분지에 차이가 있는 것으로 나타났다. 그러나 최대절약분석법 의해 구해진 계통수와 같이 큰 가시장고말속 식물과 *Staurodesmus*속에 포함되는 분류군들을 제외한 12분류군의 팔장고말속 식물이 각각 고유의 분지를 형성하는 것으로 나타났다(Fig. 2).

Bootstrap 분석 결과 *Arthrodesmus bulnhemii*를 제외한 3분류군의 작은 가시장고말속 식물이 형성하는 분지가 100%의 값으로 지지되는 것으로 나타났으며, *Staurastrum isthmosum*

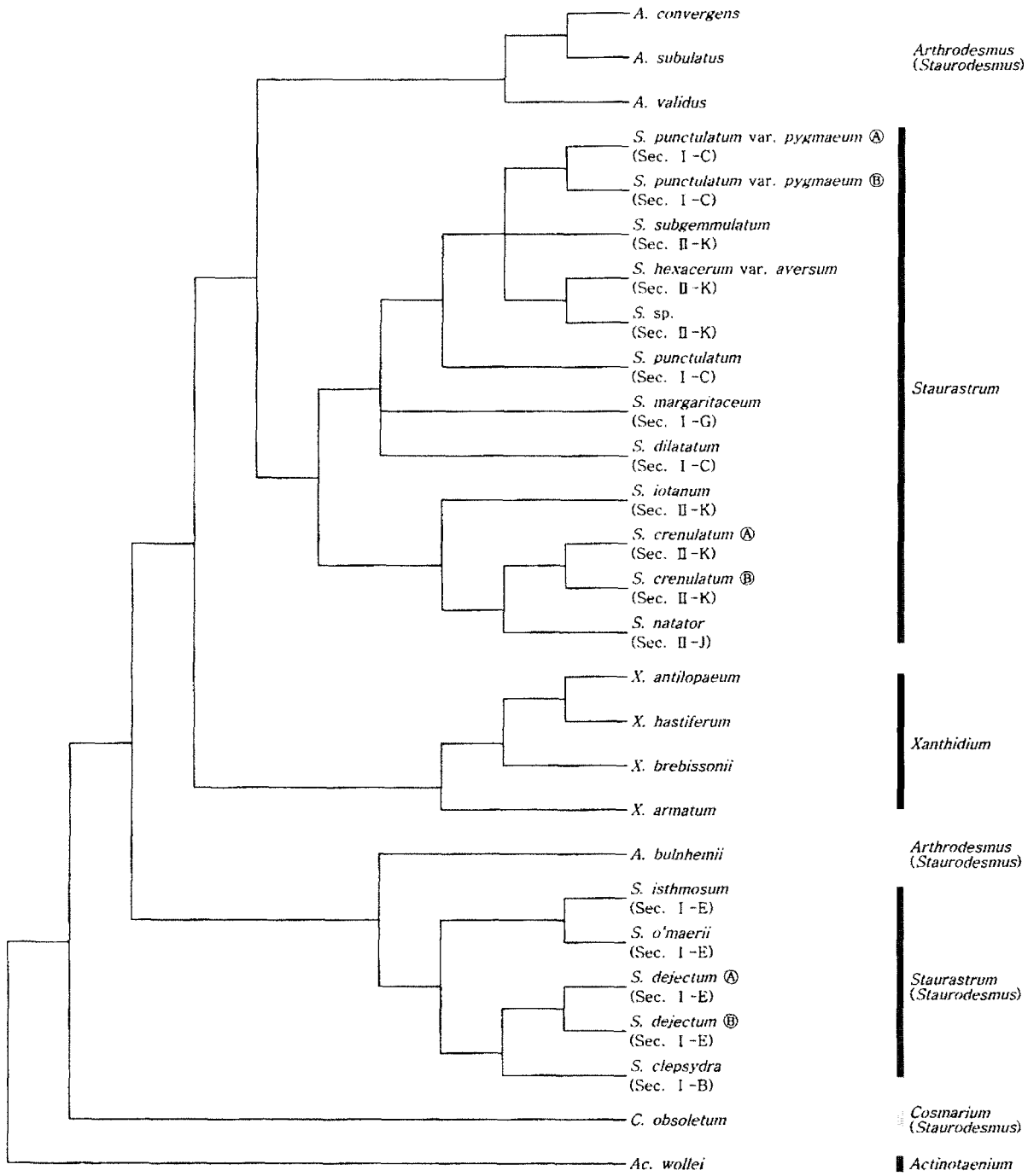

Fig. 2. The cladogram obtained from Maximum likelihood (-ln L = 3384.54832) analysis.

과 *S. o'maerii*가 이루는 분지와 *S. punctulatum* var. *pygmaeum* Ⓐ, Ⓑ와 *S. subgemmulatum*, *S. hexacerum* var. *aversum*, *Staurastrum* sp., *S. punctulatum*이 형성하는 분지가 100% 값으로 지지되었다(Fig. 2). 또한 *S. crenulatum*와 *S. natator*가 형성하는 분지와 *Xanthidium antilopaeum*, *X. brebissonii*, *X. hastiferum*이 형성하는 분지가 각각 bootstrap 값 96%로 강한 지지를 받는 것으로 나타났다(Fig. 2).

두 계통수에서 Prescott *et al.*(1982)의 팔장고말속에 대한 division과 section에 의한 분류체계는 *Staurastrum punctulatum* var. *pygmaeum*(I-C), *S. subgemmulatum*(II-K), *S. hexacerum* var. *aversum*(II-K), *Staurastrum* sp.(II-K), *S. punctulatum*(I-C), *S. margaritaceum*(I-G), *S. dilatatum*(I-C), *S. iotanum*, *S. crenulatum*, *S. natator*(II-J)가 같은 분지를 형성함으로써 division과 section이 서로 일치하지 않는 것으로 나타났다(Figs 1, 2).

고 찰

팔장고말 complex의 유연관계

팔장고말 complex 식물을 구성하고 있는 4속 식물은 팔장고말속 식물, *Staurodesmus*속 식물, 작은 가시장고말속 식물 그리고 큰 가시장고말속 식물의 순서로 유연관계를 형성하고 있는 것으로 알려져 왔다 (Prescott *et al.* 1972). 이러한 유연관계의 형성은 극면의 형태나 강모의 형태와 배열 상태, 팔의 유무와 같은 형태적 형질에 기초한 것이다. 그러나 이러한 유연관계는 이 후의 분자계통학적 연구들과 상당한 차이가 있음을 보여 왔다 (McCourt *et al.* 2000; Gontcharov *et al.* 2003). *cox*III 유전자 염기서열 분석을 통한 본 연구의 결과에서도 형태의 유사성으로 인해 가장 가까울 것으로 예상되는 팔장고말속 식물과 *Staurodesmus*속 식물의 유전적 거리가 18.9%로 다른 속 식물에 비해 예상되는 것으로 나타났으며, 오히려 유연관계가 가장 먼 것으로 보이는 팔장고말 식물과 큰 가시장고말속 식물이 8.9% 차이로 가장 가깝게 나타나는 결과를 보였다. 또한 최대절약분석법과 최대유사분석법에 의해 작성된 계통수에서도 팔장고말속 식물은 *Staurodesmus*속 식물과 공통 분지를 형성하지 않았다(Fig. 1). 그리고 *Staurodesmus*속 식물은 팔장고말속 식물만큼 가까울 것으로 예상되는 작은 가시장고말속 식물과 18.3%의 유전적 차이를 나타냈으며, 최대유사분석법에 의해 작성된 계통수에서는 같은 *Staurodesmus*속 식물 사이에서도 공통 분지를 형성하지 못하는 결과를 보였다(Fig. 2). 그리고 큰 가시장고말속보다 팔장고말속과 더 근연한 집단으로 제시된 작은 가시장고말속에 대한 분석 결과에서도 두 속간의 유전적 거리가 15.6%로, 큰 가시장고말속(13.5%)보다 먼 것으로 나타났다. 또한 두 가지 계통수에서 *Staurodesmus*속에 포함되는 분류군들을 제외한 12분류군의 팔장고말속 식물과 작은 가시장고말속 식물은 공통 분기를 형성하지 못하는 결과를 보였다.

따라서 형태적 유사성에 기초한 팔장고말 complex의 유연관계(Prescott *et al.* 1972)는 *cox*III 유전자 분석을 통한 결과와 큰 차이를 나타냈다.

*Staurodesmus*속에 대한 검토

Teiling(1948, 1967)은 팔장고말 complex 식물을 분류하는데 있어 극면의 형태는 유용하지 못한 형질로 인식하였다. 따라서 팔을 갖지 않고 측연 상부에 한 개의 강모와 평활한 세포벽을 갖는 팔장고말속 식물과 대부분의 작은 가시 장고말속 식물과 일부 장고말속 식물을 하나로 묶어 새로운 속인 *Staurodesmus*속을 제안 하였다(Teiling 1948, 1967). 본 연구에서도 팔장고말속 식물 중 *Staurodesmus*속에 포함되는 식물이 다른 팔장고말속 식물과 공통 분지를 형성하지 못하며(Figs 1, 2), 유전적 거리도 멀게 나타나는 결과(18.1%)를 보여, Teiling(1948, 1967)의 제안과 일치하는 것으로 나타났다. 그러나 *Staurodesmus*속 식물에 포함되는 팔장고말속 식물과 4분류군의 작은 가시장고말속 식물 그리고 장고말속 식물은 두 가지 계통수에서 공통 분기를 형성하지 못하였고(Figs 1, 2) 분류군 사이의 유전적 거리도 먼 것으로 나타났다(16.7%)(Table 2). 특히 *Staurodesmus obsoletus*로 명명되었던 *Cosmarium obsoletum*은 두 계통수 모두에서 초기에 분지되어 나왔으며(Figs 1, 2), 군외군으로 사용된 *Actinotaenium wollei*와 1개의 염기 차이만을 나타냄으로써 다른 분류군들에 비해 가까운 것으로 나타났다(Table 2). Gontcharov *et al.*(2003)의 결과에서도 *Staurodesmus*속 식물은 독립된 분지를 형성하지 못하고 큰 가시장고말속 식물이나 훈장장고말속(*Micrasterias*) 식물 또는 팔장고말속 식물과 같은 분지를 형성하는 결과를 나타냈다.

본 연구의 결과 Teiling(1948, 1967)이 제안한 *Staurodesmus*속은 Gontcharov *et al.*(2003)의 결과에서와 같이 독립된 하나의 계통으로 지지되지 않았으며, 앞으로 더 많은 분류군에 대한 연구를 통하여 *Staurodesmus*속에 대한 재검토 해야 할 것으로 사료된다.

팔장고말속 식물의 division과 section 분류

Prescott *et al.*(1981, 1982)에 의해 체계화된 장고말속 식물과 팔장고말속 식물의 division과 section은 중요한 형태적 형질에 의한 분류체계이다. Prescott *et al.*(1982)은 팔장고말속 식물을 팔의 유무에 따라 division I, II로 나눈 후, 각 division을 반세포의 형태에 따라 수 개의 section으로 세분하였다. 팔장고말속 식물의 division과 section에 의한 분류와 유전적 형질에 의한 분류의 연관성은 *rbc*L 유전자를 이용한 연구에서는 division에 의한 분류체계는 비교적 일치하는 것으로 나타났으나, section에 의한 분류는 연관성이 없는 것으로 나타났다(Nam and Lee 2001a). 그러나 본 연구에서는 팔장고말속 식물이 division 또는 section의 분류체계와 연관 없이, 다음과 같이 두 개의 집단으로 분리되는 결과를 보였다(Figs 1, 2). 첫 번째 집단은 타원형 이상의 다양한 극면 형태를 갖는 집단으로서, 팔을 갖고 세포 벽면에 무늬가 있는 분류군과 팔을 가지나 세포 벽면에 무늬가 없는 분류군(*Staurastrum iotanum*) 그리고 팔을 갖지 않고 세포벽면에 무늬를 갖는 분류군들을 포함한다. 두 번째 집단은 타원형을 제외한 삼각형 이상의 극면 형태를 갖는 집단으로서, 여기에 포함되는 분류군들은 팔을 갖지 않으며, 세포벽 무늬도 갖지 않는 분류군들이다. 이러한 결과는 Gontcharov *et al.*(2003)의 연구에서도 같은 결과를 보였다. 따라서 팔장고말속 식물의 division과 section에 의한 분류에서 사용된 형질인 팔의 유무와 반세포의 형태는 팔의 유무와 세포벽 무늬의 유무 등으로 수정되어

야 할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구에 사용된 12분류군의 물먼지말류를 분양해 준 독일 Hamburg 대학 접합조류 배양실(SVCK)의 Monica Engels 박사께 감사드립니다. 본 연구는 2002년 한국과학기술평가원(과제번호: M1-0219-00-0045)과 한국과학재단(과제번호: R05-000-10777-0)의 연구비 지원에 의해 수행되었다.

참고문헌

이인규, 최청일, 유종수, 이상돈. 1996. 한국 생물종 목록-국내 생물종 문헌 연구. 사단법인 자연보호중앙협의회. pp. 415-419.

Brook A.J. 1981. *The biology of desmids. Botanical Monographs*, Vol. 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 276 pp.

Bold H.C. and Wynne N.J. 1978. *Introduction to the algae.* Structure and reproduction. Prentice Hall, New Jersey. 572 pp.

Chung J. 1993. *Illustration of the freshwater algae of Korea.* Academy publishing, Seoul, Korea. 496 pp.

Croasdale H., Bicudo C.E.M. and Prescott G.W. 1983. *A synopsis of north American desmids.* Part II. Section 5. The University of Nebraska Press, Lincoln. 117 pp.

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39:** 783-791.

Gerrath J.F. 1993. The biology desmids: a decade of progress. In: Round F.E. and Chapman D.J. (eds), *Progress in phycological research*, Vol. 9. Biopress Ltd. pp. 79-192.

Gontcharov A., Marin B. and Melkonian M. 2003. Molecular phylogeny of conjugating green algae (Zygnemophyceae, Streptophyta) inferred from SSU rDNA sequence comparisons. *J. Mol. Evol.* **56:** 89-104.

Kies L. 1967. Über Zellteilung und Zygotenbildung bei *Roya obtusa* (Bréb.) West et West. Mitt. Staatsinst. *Allg. Bot.* **12:** 35-42.

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16:** 111-120.

Krieger W and Gerloff J. 1962. *Die Gattung Cosmarium. Lief. 1.* J. Cramer, Weinheim. pp. 112, Pls. 1-19.

Krieger W and Gerloff J. 1965. *Die Gattung Cosmarium. Lief. 2.* J. Cramer, Weinheim. pp. 113-240, Pls. 23-42.

Lee O.M. 2001. The nucleotide sequences variability in ITS and 5.8S regions of the nuclear rDNA among *Cosmarium* species. *Algae* **16:** 129-136.

McCourt R.M., Karol K.G., Bell J., Helm-Bychowski K.M., Grajewska A., Wojciechowski M.F. and Hoshaw R.W. 2000. Phylogeny of the conjugating green algae (Zygnemophyceae) based on *rbc*L sequences. *J. Phycol.* **36:** 747-758.

Meneghini G. 1840. Synopsis Desmidiearum hucusque cognitarum. In: Teiling E. 1967. The desmid genus *Staurodesmus*. A taxonomic study. *Ark. Bot.*, II **6:** 469-471.

Moon B.R and Lee O.M. 2003. A phylogenetic significance of several species from genus *Cosmarium* (Chlorophyta) of Korea based on mitochondria *cox*III gene sequences. *Algae* **18:** 199-205.

Nam M.R. and Lee O.M. 2001a. A comparative study of morphological characters and sequences of *rbc*L gene in *Staurastrum* of desmid. *Algae* **16:** 363-367.

Nam M.R. and Lee O.M. 2001b. A comparative study of morphological characters and sequence data of *rbc*L gene in *Cosmarium* species. *Algae* **16:** 349-361.

Prescott G.W., Bicudo C.E.M. and Vinyard W.C. 1982. *A synopsis of north American desmids.* Part II. Section 4. The University of Nebraska Press, Lincoln. pp. 88-345.

Prescott G.W., Croasdale H.T. and Vinyard W.C. 1972. *North American flora.* Series II. Part 6. *Desmidiales.* The New York Botanical Garden, New York. 84 pp.

Prescott G.W., Croasdale H.T. and Vinyard W.C. 1975. *A synopsis of north American desmids.* Part II. Section 1. The University of Nebraska Press, Lincoln. 413 pp.

Prescott G.W., Croasdale H.T. and Vinyard W.C. 1977. *A synopsis of north American desmids.* Part II. Section 2. The University of Nebraska Press, Lincoln. 413 pp.

Prescott G.W., Croasdale H.T. and Vinyard W.C. 1981. *A synopsis of north American desmids.* Part II. Section 3. The University of Nebraska Press, Lincoln. 720 pp.

Ralfs J. 1848. The British Desmideae. Wheldon & Wesley, Ltd., New York. xxii+226 pp. 35 pls.

Sambrook J., Fritsch E.F. and Maniatis T. 1989. Molecular cloning 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. pp. 1.53-1.105.

Swofford D.L. 2002. *PAUP*: Phylogentic analysis using parsimony (* and other methods).* V.4.0b8. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Teiling E. 1948. *Staurodesmus*, genus novum. Containing monospious desmids. *Bot. Not.* **1948:** 49-83, 72 figs.

Teiling E. 1967. The desmid genus *Staurodesmus*. A taxonomic study. *Ark. Bot.*, II **6:** 467-629, 31 pls.

Thompson J.D., Plewniak F. and Poch O. 1999. A comprehensive comparison of multiple sequence alignment programs. *Nucleic Acids Res.* **27:** 2682-2690.

West W. and West G.S. 1905. *A monograph of the British Desmidiaceae.* Vol II. Ray Soc., London. X+206 pp. 64 pls.

Received 7 June 2004
Accepted 23 July 2004