Algae
Volume 20(4): 261-270, 2005

*atp*B 유전자 염기서열을 이용한 *Staurastrum* 속과 *Staurodesmus* 속 (**Zygnemophyceae**, **Streptophyta**)의 계통학적 연구

문병렬 · 임안숙 · 안재현 · 박정훈 · 이옥민*

(경기대학교 생물학과)

Phylogenetic Study of Genera *Staurastrum* and *Staurodesmus* (Zygnemophyceae, Streptophyta) Inferred from *atp*B Sequences

Byeong Ryeol Moon, An Suk Lim, Jae Hyun Ahn, Jung Hoon Park and Ok-Min Lee*

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

We analyzed chloroplast ATP synthetase beta subunit(*atp*B) sequences from 32 strains of the zygnemophycean green algae, *Staurastrum*, *Staurodesmus*, and a single species of *Xanthidium*. A total of 42 *atp*B sequences including previously published ones was aligned for phylogenetic analyses. The phylogenies were validated with bootstrap analysis and Kishino-Hasegawa test. Taxa of *Staurastrum* excluding *S. muticum* indicate that they can be characterized by taxa having the ornamented cell wall or the process of cells. However, the genus *Staurodesmus* was grouped with taxa having the smooth cell wall and the absence of process or arms. The results suggest that the genus *Staurodesmus* could be extended to include *Staurastrum muticum*, *Desmidium*, *Onychonema* and *Xanthidium*. Further taxon sampling of *Staurodesmus* and putative relatives is necessary for a solid classification of the genus.

Key Words: *atp*B, phylogeny, *Staurastrum*, *Staurodesmus*

서 론

팔장고말(*Staurastrum*)속은 물먼지말류에 포함되는 분류군들 중 장고말속과 함께 많은 분류군을 보유하고 있는 속으로서 전 세계적으로 1,000여 분류군이 보고 되어있으며 (Ralfs 1848; West and West 1912; West *et al*. 1923; Prescott *et al*. 1982), 국내에는 77종 45변종 9품종 등 총 131분류군이 보고되어 있다 (정 1993; 이 등 1996; Chung *et al*. 1985, 1986; Lee 1994, 1995; Kim *et al*. 1995; Lee and Song 1995; Park *et al*. 1995; Kim 1996; *Kim et al*. 2000; Lee and Yoon 2003; Moon and Lee 2004a).

팔장고말속은 1829년 Myen에 의해 최초로 명명되었으나 물먼지말목 명명의 선취권에 따라 Ralfs(1848)의해 합법적으로 개정되었다. Eherenberg(1838)는 팔장고말속을 극면의 형태에 따라 *Desmidium*속(3각형), *Staurastrum*속(4각형) 그리고 *Pentasterias*속(5각형)의 3개 속으로 분류하였다. 이후 팔장고말속 분류군들이 극면 형태 뿐 만아니라 형태적 형질의 다양성을 가진 것으로 보고 되면서, 이들의 특정 형질을 기준으로 하여 속 이하의 분류군으로 세분하고자 하는 연구가 시도되어 왔다. Hirano(1955–1959)는 팔장고말속을 팔의 유무에 따라 *Prostaurastrum*과 *Eustaurastrum*의 2개 아속으로 세분하고, 이를 다시 수개의 절로 나누었다. West와 West(1912)와 Prescott 등 (1982)은 팔의 유무에 따라 2개의 division으로 나누고 각 division은 반세포의 형태, 세포벽 장식의 유무 또는 장식의 형태에 따라 section으로 세분하였다. 또한 Teiling (1948, 1967)은 팔장고말속 중 팔과 과립 등의 세포벽 무늬가 없고 반세포 정단각에 단순한 강모를 갖는 분류군들과 작은 가시장고말속(*Arthrodesmus*)과 일부 장고말속을 통합하여 *Staurodesmus*속을 제안하였다.

최근 팔장고말속의 분류학적 연구는 유전적 형질을 이용하여 수행되고 있다 (McCourt *et al*. 2000; Nam and Lee 2001; Gontcharov *et al*. 2003; Moon and Lee 2004b). *rbc*L 염기서열을 이용한 팔장고말속의 연구에서 팔장고말속의 팔의 유무

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

는 안정적인 형질로 인정되었으나 세포벽의 무늬, 반세포의 모양 그리고 중앙 협입부의 함입정도와 같은 형질은 불안정한 형질로 나타났다(Nam and Lee 2001). 그러나 미토콘드리아의 *cox*III 유전자 염기서열을 이용한 연구에서는 팔장고말속을 구분하는 형질은 팔의 유무와 함께 세포벽의 무늬도 중요한 형질로 나타났으며, 또한 *Staurodesmus* 속 중 장고말속에 속하는 분류군이 단계통성으로 나타나지 않았다(Moon and Lee 2004b). Gontcharov 등 (2003)은 SSU rDNA를 이용한 접합녹조류의 연구에서 4분류군의 *Staurodesmus*속을 분석하였으며, 이들은 훈장장고말속 등 각각의 다른 속의 분류군과 공통분지를 형성함으로써 단계통이 아닌 것으로 나타났다.

본 연구는 팔장고말속의 형태적 형질의 안정성을 고찰하고 팔장고말속으로부터 분리된 *Staurodesmus*속의 계통성을 확인하기 위하여 21분류군의 팔장고말속과 10분류군의 *Staurodesmus*속을 분석하였다. 팔장고말속의 대상 분류군들은 팔의 유무, 세포벽 무늬의 유무 등을 대표할 수 있는 분류군들이며, *Staurodesmus*속에 포함되는 작은가시장고말속 과 장고말속을 연구 대상으로 선정하였고, 이들의 엽록체 ATP synthase beta subunit(*atp*B)의 염기서열을 비교하였다. 이를 통하여 팔장고말속의 계통학적 위치를 고찰하고, 이들 식물의 중요 분류 형질을 찾고자 하였으며, 더불어 *Staurodesmus* 속과 팔장고말속 간의 유연관계를 재조명하고, *Staurodesmus* 속의 분류학적 안정성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

연구 대상 식물인 4과 12속 41분류군 중, 팔장고말속 21분류군과 *Staurodesmus*속 3분류군은 본 연구진에 의해 경상남도, 경기도, 강원도 일대의 호소에서 채집되어 경기대학교 생물학과 식물배양실에서 배양중인 분류군이다. 또한 7분류군의 *Staurodesmus*속과 1분류군의 큰가시장고말속(*Xanthidium*)은 독일 Hamburg대학의 접합조류 배양실(SVCK)로부터 분양받아 사용하였다. 또한 군외군으로 사용된 6속과 *Cosmocladium perissum*, *Desmidium* sp. 그리고 *Onychonema* sp.의 *atp*B 유전자 염기서열은 GenBank로부터 얻었다(Table 1, Karol *et al*. 2001; Karol 2002).

모든 대상 분류군들은 25℃, 16:$\overline{8}$의 일장주기와 40 μm $m^{-2}s^{-1}$의 광조건 하에서 Bold's Basal 배지(Bold and Wynne 1978)와 WEES 배지(Kies 1967)를 사용하여 10–14 일간 대량 배양하였다. 모아진 시료 0.1 g에 액체질소를 가하여 급속 냉동시킨 후, homogenizer를 사용하여 분말상태로 마쇄하고 G-spin™ IIp For Plant Genomic DNA Extraction Kit(Intron bio. Inc., Korea)를 이용하여 시료로부터 total genomic DNA를 추출하였다. 추출된 total genomic DNA와 forward primer MAF(5′-GAGTGCTACTGATGGTTTAAT-3′)와 reverse primer MAR (5′ -AAATTCCTTTTGCTGCTAA-ACCAC-3′)을 이용하여 *atp*B 유전자의 증폭을 위한 PCR과정을 수행하였다. PCR에 사용된 primer들은 이전의 연구(Karol *et al*. 2001; Karol 2002)에서 밝혀진 물먼지말류의 *atp*B 유전자 염기서열을 기초로 하여 제작하였다. 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 ℃에서 4분간 pre-denaturation 한 후, 94 ℃에서 30초간 denaturation, 45 ℃에서 30초간 annealing, 72 ℃에서 1분간 extension하는 과정을 30회 반복한 후 72 ℃에서 10분간 final-extension하는 과정을 거쳐 반응을 종결하였다. 증폭된 PCR산물은 전기영동 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 전환하였다(Sambrook *et al*. 1989). AccuPrep™ 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 *atp*B 유전자의 염기서열을 확보하였다.

결정된 염기서열들은 Clustal X(Thompson *et al*. 1999)를 이용하여 정렬하였다. 염기서열 자료를 통한 각 분류군 간의 계통유연관계 분석을 위해 PAUP*4.0b10(Swofford 2002)의 최대절약분석(Maximum Parsimony analysis)과 최대유사분석(Maximum Likelihood analysis)을 실시하였으며, 이 때 얻어진 모든 형질을 동등한 값으로 사용하여 heuristic search를 실시하였다. Modeltest 3.6 program(Posada and Crandall 2004)을 이용하여 최적의 진화 model을 구하였으며, 이때 구해진 모델을 이용하여 최대유사분석(Maximum Likelihood analysis)을 실시하였고, 최대절약분석(Maximum Parsimony analysis) 결과 나타난 수개의 계통수들로부터 최적의 계통수를 구하였다. 계통수의 topology에서 각 node에 대한 신뢰도를 측정하기 위해 maximum parsimony 분석의 heuristic search와 distance 분석의 neighbor-joining search에 의한 1,000회 bootstrap 분석(Felsenstein 1985)을 실시하였다. 또한 Kimura 2-parameter(Kimura 1980)에 의한 pairwise distance를 구하여 각 분류군 간의 염기서열 변이를 분석하였다.

결 과

GenBank로부터 얻은 9분류군을 제외한 32분류군으로부터

Table 1. Information of strains and their GenBank accession numbers of *atp*B sequences for this study. Sequences determined in this study are indicated by accession numbers in boldface.

Taxon	Source	[1]Section	GenBank Acce. No.
Ingroup taxa			
Staurastrum affine West et West	[2]ACKU 2-011	II-K	DQ028273
S. asteroideum West et West	ACKU 2-045	II-K	DQ028290
S. avicula var. *inerme* Irénée-Marie	ACKU 2-030	I-F	DQ028302
S. cerastes Lundell	ACKU 2-039	II-K	DQ028286
S. cyclacanthum West et West	ACKU 2-025	II-K	DQ028293
S. dilatatum(Ehrenb.) Ralfs	ACKU 2-044	I-C	DQ028291
S. gemelliparum Nordstedt	ACKU 2-046	I-G	DQ028304
S. gracile Ralfs *ex* Ralfs	ACKU 2-032	II-K	DQ028303
S. hantzschii Reinsch	ACKU 2-024	II-I	DQ028275
S. hexacerum var. *aversum* West et West	ACKU 2-019	II-K	DQ028274
S. iotanum Wolle	ACKU 2-027	II-K	DQ028301
S. javanicum(Nordst.) Turner	ACKU 2-092	II-K	DQ028296
S. laeve var. *lativergence* Scott & Grönbld	ACKU 2-118	II-H	DQ028280
S. lunatum Ralfs	ACKU 2-078	I-E	DQ028294
S. margaritaceum Ralfs	ACKU 2-013	I-G	DQ028298
S. muticum(Brébis.) Ralfs	ACKU 2-082	I-B	DQ028292
S. pseudotetracerum(Nordst.) West et West	ACKU 2-101	II-K	DQ028297
S. punctulatum(Brébis.) Ralfs	ACKU 2-034	I-C	DQ028282
S. punctulatum var. *pygmaeum*(Brébis.) West et West	ACKU 2-029	I-C	DQ028281
S. subavicula(West) West et West	ACKU 2-006	I-G	DQ028300
S. thunmarkii Teiling	ACKU 2-047	II-J	DQ028279
Staurodesmus clepsydra(Nordst.) Teiling (*Staurastrum clepsydra* Nordstedt)	[3]SVCK 87	I-B	DQ028289
S. dejectus(Brébis.) Teiling (*Staurastrum dejectum*(Bréb.) Ralfs)	ACKU 2-050	I-E	DQ028295
S. dickiei(Ralfs) Lillieroth (*Staurastrum dickiei* Ralfs)	ACKU 2-103	I-E	DQ028278
S. isthmosus(Heimerl) Croasdale (*Staurastrum isthmosum* (Heimerl) Coesel)	SVCK 466		DQ028285
S. o'maerii(Archer) Teiling (*Staurastrum o'maerii* Archer)	SVCK 467	I-E	DQ028277
S. bulnhemii(Racibo.) Brook (*Arthrodesmus bulnheimii* Raciborski	SVCK 84		DQ028288
S. convergens(Ehrenb.) Teiling (*Arthrodesmus convergens* Ehrenberg *ex* Ralfs)	SVCK 40		DQ028283
S. triangularis(Lagerh.) Teiling (*Arthrodesmus subulatus* Kützing)	SVCK 427		DQ028284
S. validus(West et West) Thomasson (*Arthrodesmus validus* Scott & Grönbld)	SVCK 457		DQ028276
S. obsoletus(Hantzs.) Teiling (*Cosmarium obsoletum* Hantzsch)	ACKU 1-183		DQ028287
Xanthidium antilopaeum(Brébis.) Kützing	SVCK 28		DQ028299
Cosmocladium perissum Roy & Bissett	Karol *et al*. 2002		AF408795
Desmidium sp.	Karol *et al*. 2001		AY093931
Onychonema sp.	Karol *et al*. 2001		AF408794
Outgroup taxa			
Entransia fimbriata Hughes	Karol *et al*. 2001		AF408804
Gonatozygon monotaenium de Bary	Karol *et al*. 2001		AF408796
Mesotaenium caldariorum(Lagerheim) Hansgirg	Karol *et al*. 2001		AF408798
Mougeotia sp.	Karol *et al*. 2001		AF408800
Spirogyra maxima(Hassall) Wittrock	Karol *et al*. 2001		AF408797
Zygnema peliosporum Wittrock	Karol *et al*. 2001		AF408799

[1] Taxonomic treatment followed Prescott *et al*. (1982)

[2] ACKU-Algal Culture collection of Kyonggi University of Suwon-si, Korea

[3] SVCK-Sammlug von Conjugaten-Kulturen, University of Hamburg, Germany

Fig. 1. Phylogenetic tree of genera *Staurastrum* and *Staurodesmus* based on MP analysis of *atp*B sequence data. Six taxa were used as outgroup for 45 taxa of desmids. Numbers above branches are shown NJ/MP bootstrap values greater than 50%. The five parts of shown in dotted line are collapsed in the strict consensus tree.

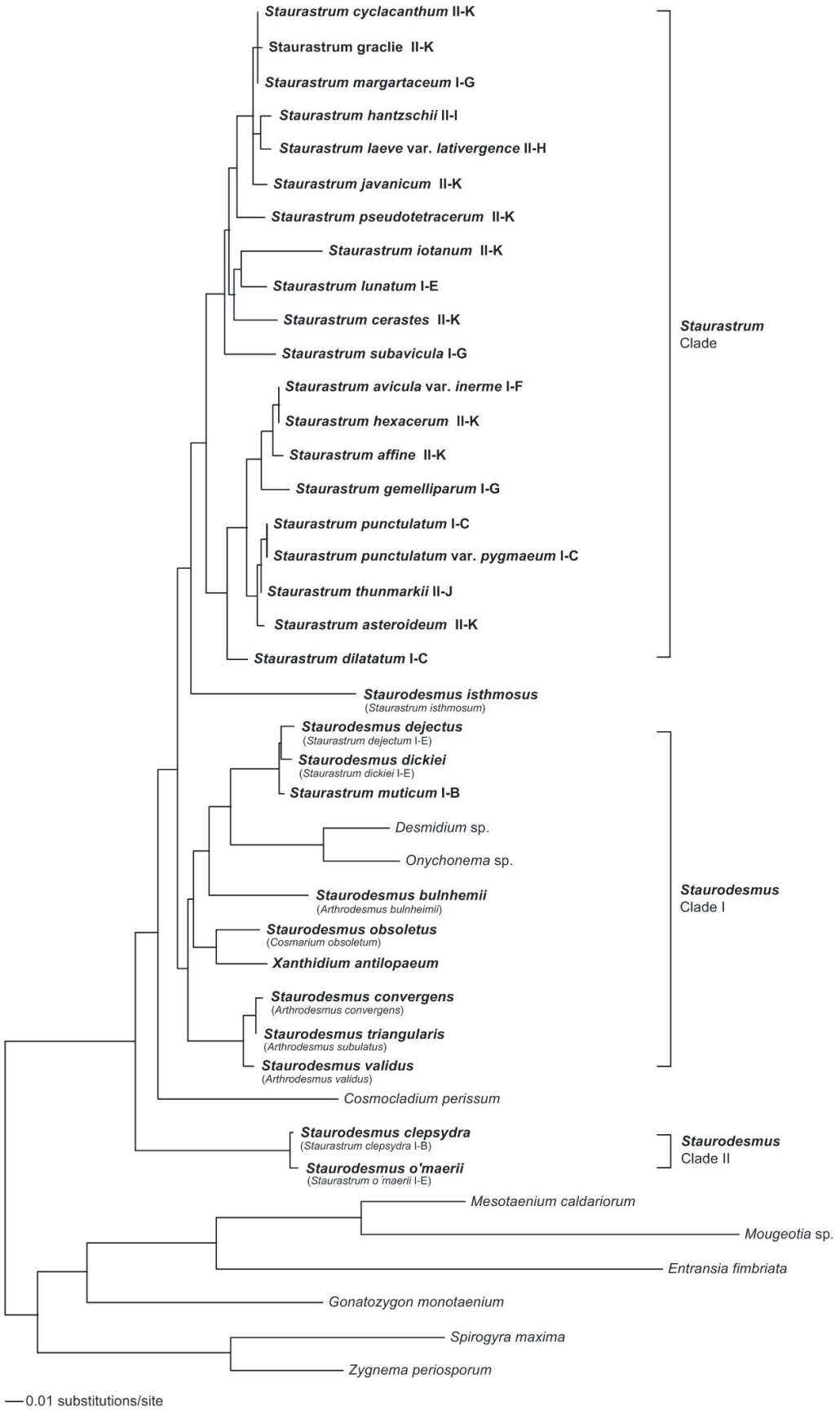

Fig. 2. The phylogram genera *Staurastrum* and *Staurodesmus*(Desmidiaceae) obtained from maximum likelihood (-ln L = 5617.90498) analysis using GTR + Γ + I model. Numbers above branches are shown NJ/MP bootstrap values greater than 50%.

734bp의 *atp*B 유전자 염기서열을 확보하였다. 734개의 형질 중 보존된 형질은 438개로 나타났으며, 변이를 보인 296개의 형질 중 203개의 형질만이 계통학적 해상력을 갖는 형질(informative character)로 나타났다. 각각의 형질을 동등한 값으로 놓고 최대절약분석(Maximum parsimony analysis)을 실시한 결과 992 step에서 125개의 계통수(most parsimonious tree)를 얻었다. GTR + I + Γ model을 적용하여 maximum likelihood 방법에 의거 Kishino-Hasegawa test(Kishino and Hasegawa 1989)를 실시한 결과 125개의 계통수 중 123번째 계통수가 최적의 계통수(Fig. 1)로 나타났다. 이때 계통수의 CI(Consistency Index)는 0.4738, RI (Retention Index)는 0.6209, 그리고 RC(Rescaled Consistency index)는 0.2942였다.

최적의 계통수에 의하면 본 연구대상인 35분류군들은 크게 3개의 clade를 형성하였다. Clade를 형성하는 node의 bootstrap 값이 90/68%(NJ/MP)로 강하게 지지되는 *Staurastrum* clade는 *Staurastrum muticum*을 제외한 20분류군의 팔장고말속으로 구성되어 있다. 이들의 외부 형태를 팔의 유무, 세포벽 장식의 유무 그리고 극면의 형태에 따라 살펴보면, *Staurastrum cyclacanthum*(II–K), *S. gracile*(II–K), *S. javanicum*(II–*K*), *S. pseudotetracerum*(II–*K*), *S. cerastes*(II–*K*), *S. thunmarkii*(II–J), *S. asteroideum*(II–K), *S. hexacerum* var. *aversum*(II–K) 그리고 *S. affine*(II–K)의 9분류군은 팔과 과립 등에 의한 세포벽 장식을 갖는 분류군들이다. 그리고 *S. hantzschii*(II–I), *S. laeve* var. *lativergence*(II–H) 그리고 *S. iotanum*(II–K)은 팔은 갖지만 세포벽 장식이 없는 분류군들이며, *S. margaritaceum*(I–G)과 *S. avicula* var. *inerme*(I–F)는 짧은 팔과 과립에 의해 장식된 세포벽을 갖는 분류군이다. 또한 *S. gemelliparum*(I–G)은 다수의 짧은 팔을 가지나 세포벽 장식이 없는 분류군이며, *S. lunatum*(I–E), *S. subavicula*(I–G), *S. punctulatum*(I–C), *S. punctulatum* var. *pygmaeum*(I–C) 그리고 *S. dilatatum*(I–C)은 팔을 갖지 않으며, 장식 있는 세포벽을 갖는 분류군들이다. 상기된 분류군들은 대부분 삼각형 이상의 극면 형태를 보이는 분류군들이나 *S. thunmarkii*(II–J)의 극면은 타원형이다.

최대절약분석과 최대유사분석 모두에서 불확실한 위치를 보인 *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)를 제외한 9분류군의 *Staurodesmus*속은 크게 두개의 clade (*Staurodesmus* clade I, II)를 형성하였다(Fig. 1, 2). *Staurodesmus* clade I은 *Staurodesmus dejectus*(*Staurastrum dejectum*)에서부터 *Xanthidium antilopaeum*까지의 11분류군들로 형성되며, 여기에는 8분류군의 *Staurodesmus*속과 각각 1분류군씩의 팔장고말속, *Xanthidium*속, *Desmidium*속 그리고 *Onychonema*속이 포함되었다. Clade를 형성하는 node가 bootstrap 값 100/100%(NJ/MP)로 강하게 지지되는 *Staurodesmus* clade II는 2분류군의 *Staurodesmus*속(*S. clepsydra*, *S. o'maerii*)에 의해 형성되었다.

S. isthmosus(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurodesmus* clade I과 II에 포함되는 모든 분류군들은 세포벽 장식을 갖지 않는 분류군들로서 극면의 형태는 원형, 타원형 그리고 삼각형으로 이루어져 있다. *Staurodesmus* clade I과 II를 형성하는 분류군들 중 9분류군의 *Staurodesmus* 속과 *S. isthmosus* (*Staurastrum isthmosum*)는 Teiling(1948, 1967) 이전의 분류체계에 따르면 팔장고말속, 작은 가시장고말속 그리고 장고말속에 속하는 식물들로서 이들은 모두 세포벽 장식을 갖지 않으며, 반세포 양쪽 정단각에 1개씩의 강모를 갖는다.

Neighbor-joining search와 maximum parsimony 분석의 heuristic search에 의한 Bootstrap 분석 결과 *Staurastrum* clade를 형성하는 node는 bootstrap value 90/68%(NJ/MP)로 강하게 지지되는 것으로 나타났다. *Staurodesmus* Clade의 *Staurodesmus dejectus*(*Staurastrum dejectum*), *S. dickiei* (*Staurastrum dickiei*), *Staurastrum muticum*이 형성하는 분지와 *Staurodesmus convergens*(*Arthrodesmus convergens*), *S. triangularis*(*Arthrodesmus subulatus*), *S. validus*(*Arthrodesmus validus*)가 형성하는 분지 그리고 *S. clepsydra* (*Staurastrum clepsydra*)와 *S. o'maerii*(*Staurastrum o'maerii*)가 형성하는 분지가 bootstrap value 100/100%(NJ/MP)으로 강하게 지지되는 것으로 나타났다.

GTR + I + Γ model을 적용하여 maximum likelihood 분석을 실시한 결과 나타난 계통수(Fig. 2)는 maximum parsimony 분석 결과 나타난 계통수(Fig. 1)와 큰 차이를 보이지 않았다.

Kimura 2-parameter(Kimura 1980)에 의한 각 분류군들 사이의 염기 변이율을 구한 결과(Table 2) *Staurastrum* clade를 구성하는 분류군들 사이에서는 4.14%의 차이가 있는 것으로 나타났으며, *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)를 포함한 *Staurodesmus* clade I과 II를 구성하는 분류군들 사이에서는 7.76%의 염기 변이가 있는 것으로 나타나 상대적으로 *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurodesmus* clade I과 II를 구성하는 분류군들 사이의 염기 변이가 *Staurastrum* clade를 구성하는 분류군들보다 큰 것으로 나타났다.

Staurodesmus isthmosus(*Staurastrum isthmosum*)를 포함한 10분류군의 *Staurodesmus*속 간에는 분기율이 8.11%로 나타나 *S. isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurodesmus* clade I과 II를 구성하는 전체 분류군들의 평균 염기 변이(7.76%) 보다 큰 것으로 나타났다. 작은가시장고말속에 속하는 4분류군의 *Staurodesmus*속 간의 염기 변이는 4.32%로 나타났으며, 장고말속에 속하는 *Staurodesmus obsoletus*(*Cosmarium obsoletum*)와 다른 *Staurodesmus*속 사이의 염기 변이는 7.65%로 나타났다.

Table 2. Pairwise divergence (%) comparison among the 35 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	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1 *Staurodesmus o'maerii*	-																																		
2 *S. clepsydra*	0.41	-																																	
3 *S. convergens*	11.18	11.03	-																																
4 *S. triangularis*	10.86	10.70	0.27	-																															
5 *S. validus*	10.71	10.55	1.51	1.24	-																														
6 *Staurastrum muticum*	9.90	9.44	6.85	6.55	6.11	-																													
7 *Staurodesmus dejectum*	10.22	9.76	7.30	7.00	6.56	1.10	-																												
8 *S. dickiei*	9.91	9.45	7.15	6.85	6.40	0.96	1.24	-																											
9 *Desmidium* sp.	12.14	11.83	10.53	10.21	9.43	8.06	8.52	8.52	-																										
10 *Onychonema* sp.	12.97	12.81	10.55	10.23	9.93	9.15	9.77	9.29	6.76	-																									
11 *S. bulnheimii*	12.00	11.68	7.94	7.63	7.32	7.46	8.07	7.76	10.09	10.61	-																								
12 *S. obsoletus*	9.45	9.15	6.28	5.98	5.98	4.93	5.81	5.51	8.66	10.28	7.20	-																							
13 *Xanthidium antilopaeum*	10.24	10.09	6.12	5.82	6.42	7.31	7.76	7.31	10.87	11.36	8.26	4.21	-																						
14 *Staurastrum hexacerum*	9.90	9.75	6.40	6.11	6.26	6.85	7.30	6.85	10.68	11.01	8.37	7.01	6.71	-																					
15 *S. aviculavar* var. *inerme*	9.90	9.75	6.40	6.11	6.26	6.85	7.30	6.85	10.68	11.01	8.37	7.01	6.71	0.00	-																				
16 *S. affine*	10.22	10.07	7.01	6.71	6.87	7.45	7.75	7.46	11.33	11.66	8.69	7.01	6.72	0.69	0.69	-																			
17 *S. punctulatum* var. *pygmaeum*	10.54	10.39	7.16	6.86	7.01	7.32	7.77	7.47	10.07	10.90	8.54	7.02	7.17	2.21	2.21	2.35	-																		
18 *S. punctulatum*	10.54	10.39	7.16	6.86	7.01	7.32	7.77	7.47	10.07	10.90	8.54	7.02	7.17	2.21	2.21	2.35	0.00	-																	
19 *S. thunmarkii*	10.23	10.07	6.86	6.55	6.71	7.01	7.47	7.17	9.76	10.57	8.23	6.71	6.87	1.93	1.93	2.07	0.27	0.27	-																
20 *S. asteroideum*	10.38	10.23	6.71	6.41	6.86	7.31	7.76	7.46	10.06	11.04	8.53	7.01	7.16	2.21	2.21	2.35	0.68	0.68	0.41	-															
21 *S. gemelliparum*	11.49	11.33	6.55	6.25	6.55	7.75	8.36	7.91	11.32	11.34	8.53	7.16	6.86	2.21	2.21	2.35	3.06	3.06	2.78	3.06	-														
22 *S. dilatatum*	10.72	10.40	6.56	6.26	6.56	6.85	7.30	6.85	9.44	9.62	8.08	6.42	6.26	3.35	3.35	3.78	2.93	2.93	2.64	2.78	3.35	-													
23 *S. cyclacanthum*	11.18	10.86	6.12	5.82	6.57	7.60	8.20	7.60	10.69	10.87	8.07	6.71	6.12	5.08	5.08	5.09	5.38	5.38	5.08	4.94	5.08	3.92	-												
24 *S. margaritaceum*	11.18	10.86	6.12	5.82	6.57	7.60	8.20	7.60	10.69	10.87	8.07	6.71	6.12	5.08	5.08	5.09	5.38	5.38	5.08	4.94	5.08	3.92	0.00	-											
25 *S. gracile*	11.02	10.70	5.97	5.67	6.42	7.75	8.36	7.75	10.53	11.03	8.23	6.86	6.27	5.08	5.08	5.09	5.23	5.23	4.94	4.79	5.08	4.06	0.14	0.14	-										
26 *S. hantzschii*	11.33	11.01	6.42	6.12	6.57	7.60	7.90	7.60	10.53	11.18	8.68	7.16	6.56	5.23	5.23	5.23	5.67	5.67	5.37	5.23	5.22	4.20	0.96	0.96	1.10	-									
27 *S. laeve* var. *lativergence*	10.70	10.38	6.71	6.41	6.86	7.75	8.05	7.45	10.53	11.02	8.52	7.16	6.71	5.37	5.37	5.38	5.82	5.82	5.52	5.38	5.37	4.35	1.10	1.10	1.24	0.96	-								
28 *S. javanicum*	11.16	10.85	6.42	6.12	6.87	7.60	8.51	7.90	11.00	10.86	8.68	7.31	6.71	5.67	5.67	5.67	5.97	5.97	5.67	5.52	5.52	4.49	0.82	0.82	0.96	1.51	1.65	-							
29 *S. pseudotetracerum*	11.03	11.02	7.01	6.71	6.86	7.00	7.90	7.00	10.85	11.19	8.37	7.31	7.02	5.52	5.52	5.82	5.68	5.68	5.38	5.67	5.67	4.50	2.35	2.35	2.50	2.92	3.06	2.64	-						
30 *S. subavicula*	10.85	10.70	7.61	7.31	7.16	7.76	8.22	7.77	10.87	11.68	9.30	7.76	7.17	5.52	5.52	5.97	5.69	5.69	5.39	5.83	5.38	4.94	3.49	3.49	3.63	3.77	4.06	3.77	3.77	-					
31 *S. cerastes*	10.37	10.21	6.27	5.97	6.72	7.30	8.21	7.60	10.68	11.65	8.99	7.61	6.56	5.37	5.37	5.67	5.97	5.97	5.67	5.97	5.38	5.23	3.21	3.21	3.06	3.77	3.63	3.49	3.92	4.06	-				
32 *S. lunatum*	10.07	9.92	6.58	6.27	6.42	7.45	7.90	7.45	9.58	10.86	8.08	6.57	5.83	4.64	4.64	5.23	5.68	5.68	5.38	5.67	5.23	4.64	3.35	3.35	3.50	3.78	3.63	3.92	3.21	3.77	3.35	-			
33 *S. iotanum*	11.68	11.53	9.32	9.00	9.16	8.67	9.28	8.67	11.47	12.13	9.61	8.54	8.55	6.86	6.86	7.47	7.47	7.47	7.16	7.46	7.31	6.26	5.52	5.52	5.67	6.11	6.26	5.81	5.38	6.10	5.38	4.80	-		
34 *Staurodesmus isthmosus*	13.10	12.94	9.90	9.59	9.44	10.21	10.52	9.90	12.80	11.97	11.02	10.55	10.23	8.82	8.82	9.14	9.92	9.92	9.60	9.92	10.07	9.14	9.60	9.60	9.76	9.75	9.91	10.23	9.60	9.45	9.90	9.29	10.53	-	
35 *Cosmocladium perisum*	12.61	12.45	10.69	10.37	9.76	10.53	11.01	10.69	12.28	13.92	11.81	9.43	9.90	9.59	9.59	9.91	10.86	10.86	10.54	10.86	9.90	9.59	10.06	10.06	10.22	10.22	9.75	10.69	10.53	10.06	10.22	9.59	11.17	12.75	-

그리고 *Staurodesmus obsoletus*(*Cosmarium obsoletum*)와 *Xanthidium antilopaeum*과의 염기 변이는 4.21%로 나타났다.

Staurodesmus clade I에서 2분류군의 *Staurodesmus*속과 공통 분지를 형성하는 *Staurastrum muticum*과 *Staurodesmus*속 사이의 염기 변이는 6.35%로 나타났으며, *Staurastrum muticum*과 *Staurastrum* clade를 구성하는 *Staurastrum*속의 염기 변이는 7.44%로 나타났다. *Staurodesmus* clade I과 II의 *Staurodesmus* 속 중 팔장고말속으로부터 분리되어 나온 4분류군 및 *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurastrum* clade를 구성하는 *Staurastrum* 속 사이의 염기 변이는 8.11%로 나타났다.

그리고 세포벽 장식의 차이를 제외한 대부분의 형태 형질에서 공통점을 보이는 *Staurastrum* clade의 *Staurastrum lunatum*과 *Staurodesmus* clade I의 *Staurodesmus dejectus* (*Staurastrum dejectum*) 그리고 *S. dickiei*(*Staurastrum dickiei*)사이의 염기 변이는 7.90%와 7.45%로 높게 나타났다(Table 2).

고 찰

팔장고말속. 본 연구에서 *Staurastrum muticum*을 제외하고 20분류군의 팔장고말속은 하나의 clade를 형성함으로써 단계통성을 나타냈다(Fig. 1). *S. muticum*은 *Staurodesmus* 속과 같이 팔과 세포벽 장식이 없으며, 강모가 없는 분류군으로서 *Staurodesmus* clade I에 속하였다. *Gontcharov* 등 (2003)의 연구에서 7분류군의 팔장고말속은 *Staurastrum tumidum*을 제외하고 약한 clade를 형성하였다. *S. tumidum*은 팔과 세포벽 장식이 없으며, 양측연에 강모가 있는 형태로 *Staurodesmus*로 분류되기도 하였다(Croasdale *et al*. 1994; Teiling 1948, 1967). 또한 *cox*III를 이용한 팔장고말속의 연구에서도 세포벽이 평활하고, 팔이 없는 분류군들은 팔장고말속으로부터 먼 유전적 거리를 나타냈다(Moon and Lee 2004b). 따라서 팔장고말속으로부터 팔이 없고 세포벽 장식이 없는 분류군들은 제외되어야 할 것으로 사료된다.

팔장고말속의 형태적 특징을 종합하면 팔이 있고 세포벽 장식이 있는 그룹과 팔이 있고 세포벽 장식이 없는 그룹, 팔이 없고 세포벽 장식이 있는 그룹으로 정리할 수 있다. 본 연구 결과 *Staurastrum* clade내에서 이 세가지의 형태적 그룹이 공통적 분지를 형성하지 않았고, 따라서 속이하의 분류를 위해서는 이와 같은 형태적 형질 외에 또 다른 형태적 형질이 필요한 것으로 사료된다.

팔장고말속은 팔의 유무에 따라 두개의 division으로 나뉘고, 각각은 팔과 세포벽 장식의 유무, 장식의 배열 상태 그리고 반세포의 형태 등에 따라 section으로 세분된다(West and West 1912; Hirano 1955–1959; Prescott *et al*. 1982). Prescott 등 (1982)은 팔장고말속 을 분류하는데 있어 세포벽 장식의 유무에 큰 비중을 두지 않았으며, *Staurodesmus*속을 인정하지 않았다. 따라서 세포벽 장식을 제외한 모든 형태 형질에서 높은 유사성을 보이는 *Staurodesmus dejectus* (*Staurastrum dejectum*), *Staurodesmus dickiei*(*Staurastrum dickiei*) 그리고 *Staurastrum lunatum*을 동일한 division과 section으로 분류하였다. 그러나 본 연구 결과 *Staurodesmus dejectus* (*Staurastrum dejectum*), *Staurodesmus dickiei*(*Staurastrum dickiei*) 그리고 *Staurastrum lunatum*의 계통수 내에서 위치(Fig. 1, 2)와 유전적 거리(7.90%, 7.45%; Table 2)가 매우 먼 것으로 나타났다. 따라서 형태 형질에 의해 속 이하의 분류군으로 팔장고말속을 세분하는 West와 West(1912), Hirano(1955–1959) 그리고 Prescott 등 (1982)의 분류체계는 이들의 계통학적 위치를 충분히 반영하지 못하는 것으로 사료된다. 본 연구의 결과에서도 팔의 유(Division I), 무 (Division II)에 의한 분류군간의 유연관계는 없는 것으로 나타났다. 또한 section 간의 유연관계도 나타나지 않았다. 이러한 결과는 *cox*III를 이용한 팔장고말속의 연구(Moon and Lee 2004b)와 일치하는 것이며, 따라서 팔의 유무, 세포벽 장식의 유무, 장식의 배열 상태 그리고 반세포의 형태 등에 따른 division과 section은 인위적인 것임을 알 수 있다.

***Staurodesmus*속.** 1987년 국제식물학회(Christensen 1987)의 조류명명위원회에서 작은가시장고말속(*Arthrodesmus*)을 보존하고자 하는 노력이 있었으나(Bicudo 1984) 지지받지 못하였고, 작은가시장고말속은 비합법적이며 따라서 이속에 속하는 분류군들은 *Staurodesmus*속으로 변경 되었다. *Staurodesmus*속은 Teiling(1948, 1967)과 Gerrath(1993), Croasdale 등 (1994)에 의해 지지되는 분류군으로, 극면은 타원형 또는 삼각형이며, 세포벽은 평활하고 각 반세포의 정단각에 1개의 강모를 갖는다. 반면 West와 West(1912), Hirose 등 (1977), Prescott 등 (1982)은 이 속을 인정하지 않고 팔장고말과 작은가시장고말 등으로 사용하였다.

본 연구에서 *Staurastrum* clade를 구성하는 20분류군의 팔장고말속에서는 4.14%의 염기 변이가 있으며, 계통수상에서 위치가 불확실한 *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurodesmus* clade I과 II를 구성하는 15분류군 사이의 염기 변이는 7.76%로 나타난 반면, *Staurastrum* clade와 *Staurodesmus isthmosus*(*Staurastrum isthmosum*)와 *Staurodesmus* clade I과 II의 팔장고말속의 염기 변이는 8.4%로 나타났다. 따라서 단순한 강모를 갖고, 세포벽 장식이 없는 분류군이 팔장고말속으로부터 분리되어 *Staurodesmus*속으로 이전하는 것이 타당한 것으로 사료된다. 이러한 연구 결과는 Gontcharov 등 (2003)의 연구 결과와도 일치하며, 본 연구의 대상 분류군을 포함한 *Staurastrum* complex의 *cox*III 유전자 염기서열을 이용한 Moon과 Lee(2004b)의 연구와도 일치하는 것이다.

또한 본 연구 결과 팔, 강모 그리고 세포벽 장식을 갖지 않는 팔장고말속(*Staurastrum muticum*)이 팔장고말속으로부터 분리되어 *Staurodesmus*속과 강하게 결합하는 결과를 보였다 (Fig. 1, 2). 따라서 *Staurodesmus* 속의 특징 중 세포 양측 정단부에 위치한 강모의 특징보다 평활한 세포벽과 팔이 없는 특징이 *Staurodesmus* 속을 구분하는 중요한 형질임을 알 수 있다.

Gontcharov 등 (2003)의 연구에서 *Staurodesmus* 속의 4분류군은 Desmidiaceae의 다른 속들과 각각의 분지를 형성함으로써 한 속으로서의 위치가 불확실한 것으로 나타났다. *Staurodesmus convergens*는 형태적으로 유사한 *Cosmarium contractum*과 강한 clade를 형성하였고, 이는 강모가 세포벽이나 팔보다 중요한 형질이 아님을 입증한 것이다. 또한 S. *dickiei*는 *Micrasterias crux-melitensis*와 30개의 염기 차이만이 있었다. 본 연구에서 *Staurodesmus* 속은 일부 분류군 사이에서는 강한 지지도를 가지는 clade를 나타냈지만 전체는 bootstrap value 50% 이하의 약한 지지도를 나타냈으며, *S. isthmosus* (*Staurastrum isthmosum*) 와 *Staurodesmus* clade I과 II의 염기 변이도 7.76%로 *Staurastrum* clade에 비해 높게 나타났다. 따라서 세포벽이 평활하고 팔이 없는 분류군들인 *Staurodesmus* 속은 팔장고말속으로부터 독립되어야 하지만 *Staurodesmus* 속에 대한 형태학적 재정립이 필요하다.

또한 작은 가시장고말속으로 동정되는 4분류군은 *S. bulnheimii*를 제외하고는 서로 강한 지지도의 clade를 형성하였으며 염기변이는 4.14%로 나타났다. 특히 장고말속과 큰가시장고말은 작은가시장고말과 약한 지지도의 clade를 형성하였는데, 이들은 극면세포가 타원형이라는 공통적 특징을 갖는다. 따라서 *Staurodesmus* 속 중 극면이 타원형인 분류군과 삼각형인 분류군에 대한 고찰이 필요한 것으로 사료된다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 더 많은 분류군에 대한 연구를 통하여 Teiling(1948, 1967)이 제시한 *Staurodesmus* 속에 대한 분류 기준을 수정하고, *Staurastrum muticum*과 같은 분류군들을 *Staurodesmus* 속에 추가하여야 할 것이며, 아울러 작은가시장고말과 장고말, 큰가시장고말 등의 근연 속에 대한 유연관계의 검토가 필요하다.

사 사

본 연구에 사용된 12분류군을 분양해 준 독일 Hamburg 대학 접합조류 배양실(SVCK)의 Dr. Monica Engels께 감사드립니다. 본 연구는 2003년도 정부재원 (교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단(C00489), 한국과학재단(M1-0219-00-0045), 경기대학교 2005년도 연구그룹 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

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

정준. 1993. 한국 담수조류도감. 아카데미 서적, 서울. 496 pp.

Bicudo C.E.M. 1984. Proposal for the conservation of the generic name *Arthrodesmus Archer*. Taxon **33:** 107-108.

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

Christensen T. 1987. Report of the committee for algae. *Taxon* **36:** 66-69.

Chung Y.H., Lee O.M. and Noh K.H. 1985. Annual (1984-'85) dynamics of phytoplaktons in Kum river estuary. *Bull*. of KACN **7:** 17-25.

Chung Y.H., Lee O.M. and Noh K.H. 1986. Flora and dynamics of phytoplankton in downstream of Yongsan river. *Bull*. of KACN **8:** 15-23.

Croasdale H.T., Flint E.A. and Racine M.M. 1994. *Flora of New Zealand. Freshwater algae, chlorophyta, dsemids Ⅲ*. Caxton Press, Christchurch. 132 pp. 27 pls.

Eherenberg C.G. 1838. *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen*. 548 pp. 64 pls.

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. Bristol. 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.

Hirano M. 1955-1959. *Flora Desmidiarum Japonicarum I-VI*. Contrib. Biol. Lab., Kyoto Univ. pp. 1-386.

Hirose H.M., Akiyama T., Imahori K., Kasaki H., Kumano S., Kobayasi H., Takahashi E., Tsumura T., Hirano M. and Yamagishi T. 1977. *Illusrations of the Japanese freshwater algae*. Uchidarokakuho Publishing Co., Ltd., Tokyo. 933 pp.

Karol K.G. 2002. Unpublished. In: GenBank http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/

Karol K.G., McCourt R.M., Cimino M.T. and Delwiche C.F. 2001. The closest living relatives of land plants. *Science* **294:** 2351-2353.

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

Kim H.S. 1996. Desmids(*Staurastrum* and *Staurodesmus*) from Kyongsangnam-Do, Korea. *Nova Hedwigia* **62:** 521-541.

Kim H.S., Choi J.S., Chung J. and Kim D.H. 1995. A study on the phytoplankton community in the Jinyang lake. *Kor. J. Limnol*. **28:** 345-357.

Kim J.H., Lee S.J. and Oh H.M. 2000. Dynamics of epilithic algal community in the Geum river, Korea. *Algae* **15:** 287-297.

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.

Kishino H. and Hasegawa M. 1989. Evolution of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data and the branching order of the Hominoidea. *J Mol Evol.* **29:** 170-179.

Lee K. and Yoon S.K. 2003. Ecological studies on Togyo reservoir in Chulwon, Korea VI. The list of phytoplankton and periphyton. *Algae* **18:** 263-272.

Lee O.M. 1994. The annual dynamics of standing crops and distribution of phytoplankton in Juam lake in 1992. Kor. *J. Limnol.* **27:** 327-337.

Lee O.M. 1995. The distribution and standing crop of phytoplankton at freshwater area in Youngkwang-gun, Cheonnam. *Proc. Basic Sci. Res. Inst. Kyonggi Univ.* **8:** 123-139.

Lee O.M. and Song H.Y. 1995. The annual dynamics of standing crops and distribution of phytoplankton of Juam lake in 1993. *Kor. J. Limnol.* **28:** 427-436.

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.

Meyen F.J.F. 1829. Beobachtungen ber einige niedere Algenformen. Nov. *Act. Acad. Caesar Leop. Carol. Nat. Cur.* **14:** 768-778. pls. 43.

Moon B.R. and Lee O.M. 2004a. A taxonomic study of genus *Staurastrum*(Chlorophyta) including Korean unrecorded species. *Kor. J. Limnol.* **37:** 282-296.

Moon B.R. and Lee O.M. 2004b. A phylogenetic study of Staurastrum complex (Chlorophyta) inferred from *cox*III sequence analysis. *Algae* **19:** 153-160.

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

Park J.W., Kim Y.J. and Chung J. 1995. Structure of phytoplankton community in the Kumho river. *Kor. J. Limnol.* **28:** 49-60.

Posada D. and Crandall K. 1998. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14:** 817-818.

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.

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. f. 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. 1912. *A monograph of the British Desmidiaceae. Vol.* IV. Ray Soc., London. P. 184, Pl. 128, Figs. 1, 2.

West W., West G.S. and Carter N. 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae. Vol. V*. Ray Soc., London. 300 pp. 38 pls.

Received 10 July 2005
Accepted 8 November 2005