

한국산 여뀌속 *Persicaria*절(마디풀과)의 핵 리보오솜 ITS 염기서열 변이

곽명해** · 김민하 · 원호식 · 박종욱*

서울대학교 자연과학대학 생명과학부

본 연구에서는 한국산 여뀌속 *Persicaria*절 분류군들에 대한 핵 리보오솜 (nrDNA)의 ITS 염기서열 분석을 수행하여 본 절 분류군들의 유연관계를 추정하고자 하였다. 본 연구결과 본 절 분류군의 nrDNA ITS 구간 염기서열은 본 절 분류군의 분류학적 타당성, 한계 및 계급설정 및 분류군 간의 계통적 유연관계를 추정하는 데 있어 유용한 것으로 나타났다. ITS 염기서열 분석결과 얻어진 neighbor-joining tree에서 본 절 한국산 분류군들은 크게 *P. amphibium*과 나머지 분류군들을 포함하는 group의 2개의 계열로 구분되었다. 나머지 분류군들을 포함하는 두 번째 계열은 다시 (1) *P. lapathifolium*, (2) *P. persicaria*와 *P. viscoferum*, (3) *P. orientale* 및 *P. viscosum*, (4) *P. japonicum* 및 (5) *P. longisetum*, *P. erecto-minus* var. *koreense*, *P. caespitosum* var. *laxiflorum*, *P. hydropiper*, *P. pubescence*, *P. tinctorium*, *P. foliosum*, *P. trigonocarpum*을 포함하는 group으로 세분되었다. 이러한 결과는 과거 형태적 식별형질에 의해 제안되었던 본 절 분류군간의 유연관계와 근본적으로 일치하였다.

주요어: 한국산 여뀌속 *Persicaria*절, 핵 리보오솜 ITS, 유연관계

*Polygonum*속(*Polygonum* L. s. lat.) *Persicaria*절은 Miller (1754)에 의해 하나의 속(genus *Persicaria* Mill.)으로 설정되었던 분류군으로 극지방을 제외하고 전 세계적으로 약 100여 종이 분포하고 있다 (Graham & Wood, 1965). 본 절 식물들은 일년생 또는 다년생의 직립하는 초본, 피침형 내지 선형의 잎, 줄기를 완전히 감싸며 절두형인 탁엽, 수상화서를 닮은 축소된 원추화서 등의 특징에 의해 속내 다른 절 식물들과 뚜렷이 구분되며, 이러한 특징에 의거하여 일부학자들은 이를 하나의 독립된 속으로 인정하기도 한다. 그러나 본 연구에서는 본 분류군을 Danser (1926), Steward (1930), Komarov (1936) 및 Graham and Wood (1965)의 견해에 따라 *Polygonum*속의 한 절로 인식하였다.

*Persicaria*절 분류군들은 대부분 식물체의 크기, 잎의 형태 및 크기, 화서의 형태, flower

*교신저자: 전화 (02) 880-6681, 전송 (02) 872-6881, 전자우편: parkc@plaza.snu.ac.kr

**Current address: Department of Plant Science, University of California, Davis, CA 95616, USA

fascicle의 배열 상태, 꽃의 색, 수과 형태 및 털의 존재 유무 등의 형태적 차이에 그 근거를 두고 있으나, *Polygonum*속내 다른 종들과 마찬가지로 지역 및 환경에 따라 대부분의 식별형질에 있어 매우 복잡한 양상의 변이가 나타나고, 주요 식별형질 및 분류군의 한계 해석에 대한 학자간의 견해 차이로 인하여 이들의 분화정도, 분류학적 타당성, 한계 및 계급 설정 등에 있어서 많은 혼란이 있어왔다 (Meisner, 1856; Nakai, 1909, 1926; Danser, 1926; Steward, 1930; Komarov, 1936; Ohwi, 1984).

한반도에 분포하는 *Persicaria*절 분류군은 15종 2변종 2품종에서 19종 1변종이 분포하는 것으로 보고되어 있으며, 학자에 따라 그 분류학적 한계 및 계급설정에 있어 견해차이가 심하게 나타난다 (Chung, 1965; Park, 1974; Lee, T. B., 1980; Lee W. T., 1996; Lee Y. N., 1996). 예를 들어, Chung (1965)은 한반도에는 *Persicaria lapathifolia* (L.) Gray (= *Polygonum lapathifolium* L.)에 3변종 2품종이 분포하는 것으로 보고하였으나, Park (1974)은 3변종 1아종이 분포하는 것으로 인식하였다. 한편, Lee T. B. (1980)와 Lee W. T. (1996)은 Park (1974)이 *P. lapathifolium*의 아종으로 인식한 *P. lapathifolium* L. subsp. *nodosum* (Pers.) Kitam.를 독립된 종으로 인식하고, 각각 *P. lapathifolium*의 2변종과 3변종이 한반도에 분포하는 것으로 보고하였다. 또한, Nakai (1919)는 한반도 북부지방에서 채집된 표본을 근거로 선형의 잎과 화피에 반점이 생기는 특징에 의해 *Polygonum koreense* Nakai를 기재하였으나, Ito (1956)는 본 분류군의 수과 단면이 삼각형이고 표면이 검은색인 특징을 근거로 *Persicaria erecto-minor* (Makino) Nakai의 변종(*Persicaria erecto-minor* [Makino] Nakai var. *koreensis* [Nakai] I. Ito)으로, 그리고 Park (1974)은 본 분류군의 잎이 선형인 특징에 의거하여 *Polygonum amphibium* L.의 변종(*P. amphibium* var. *koreensis* [Nakai] M. Park)으로 각각 처리하였다. 한편, *Polygonum longisetum*은 *P. caespitosum*의 변종으로 (Steward, 1930), *P. caespitosum* var. *laxiflorum*은 *P. posumbu*의 변종 (*P. posumbu* var. *laxiflorum*; Hara, 1966) 또는 하나의 독립된 종 (*P. laxiflorum*; Makino, 1914)으로, *P. trigonocarpum*은 *P. erecto-minor*의 변종으로 (Ito, 1956) 각각 인식되기도 하였다. 또한, Timson (1964)는 *P. persicaria*가 *P. lapathifolium*과 형태적으로 유사한 점을 들어 *P. lapathifolium*의 autotetraploid인 것으로 추정할 바 있으며, *P. orientrale*는 본 절 다른 분류군들과는 달리 배의자엽 (incumbent cotyledon)을 갖는 특징에 의해 *Persicaria*절로부터 독립하여 하나의 독립된 속 (*Amblygonum* [Meisn.] Nakai, *Lagunea* Lour.) 또는 *Polygonum*속의 하나의 절로 구분되기도 하였다 (Loureiro, 1790; Nakai, 1929; Small 1933).

이와 같이 형태적 식별형질에 있어 매우 복잡한 양상의 변이를 나타내어 그 분류학적 타당성, 한계 및 계급 설정, 그리고 계통적 유연관계 해석 등에 있어서 많은 어려움이 누적되어 있는 본 절 분류군과 같은 경우, 진화속도가 빨라 속간, 혹은 속 이하 분류군간에서도 유전적 변이가 크게 나타나는 분자 marker를 사용한 분자계통학적 연구가 유용한 것으로 알려져 있다. 특히 nrDNA ITS 구간은 마디풀과 여뀌속을 (Suh *et al.*, 1997) 비롯한 다수의 현화식물에 있어 중간 유연관계를 밝히는 데 적절한 것으로 보고된 바 있다 (Baldwin *et al.*, 1995; Álvarez & Wendel, 2003; Bailey *et al.*, 2003; references therein). 따라서 본 연구에서는 한

국산 *Persicaria*질 분류군들을 대상으로 (1) ITS 구간의 염기서열을 결정하고, (2) 본 질 분류군에서 나타나는 ITS구간의 염기변이를 파악하며, (3) ITS구간의 염기서열 분석을 통해 본 질 분류군간의 유연관계를 추정하고자 하였다.

재 료 및 방 법

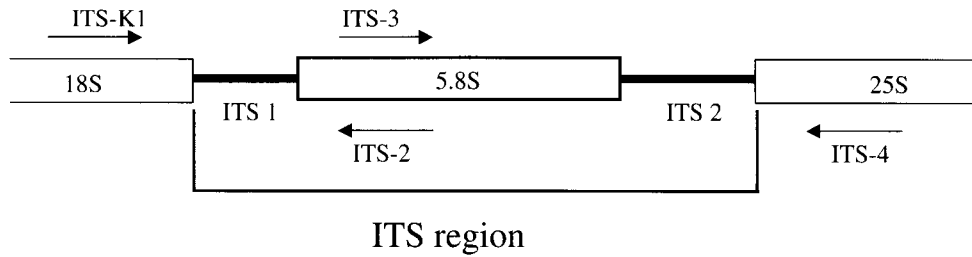
재료: 본 연구는 1998년부터 2000년 사이에 서울, 경기도 소요산, 경남 거제도, 우포늪, 주남저수지, 경북 영덕, 부산 가덕도, 인천 강화도, 충남 안면도 등 전국 각지에서 채집한 16분류군 24개체와 미국 New York주에서 채집한 1개체를 대상으로 수행하였다 (Table 1). DNA 추출을 위한 재료는 어린 잎을 사용하였으며, 야외에서 채취한 잎을 silica-gel을 이용하여 즉시 건조시키거나 혹은 실험실로 운반하여 -70℃에서 필요시까지 냉동 보관하였다. 한편, DNA 분석 재료를 확보하지 못한 *P. taquetii* H. Lévl.와 *P. foliosum* H. Lindb. var. *paludicolum* (Makino) Nakai는 분석에서 제외하였으며, 분석에 사용된 재료의 검증표본은 서울대학교 생명과학부 표본관(SNU)에 소장하였다.

DNA 추출: Total DNA 추출은 잎에서 엽병과 주맥을 제거한 다음 막자사발에 넣고 액체 질소와 함께 파쇄하여 분말로 만든 뒤 DNA의 추출은 DNeasy plant mini kit (QIAGEN; Germany)을 사용하여 수행하였다. 재료의 양은 생체의 경우 50-100 mg, 건조된 잎의 경우 20-40 mg을 사용하였으며, 모든 처리과정은 공급자의 manual (DNeasy Plant Mini Handbook, 1996; QIAGEN; Germany)을 따라 수행하였다. 추출한 DNA는 일부를 1.0% agarose gel에 전기영동한 뒤 ethidiumbromide (EtBr)로 염색하여 UV 조명하에서 marker와 형광의 밝기를 비교하여 농도를 확인하였다.

PCR (Polymerase Chain Reaction)에 의한 ITS의 증폭: ITS 부위의 증폭을 위한 PCR은 Hot Start PCR method (Chou *et al.*, 1992)를 변형하여 수행하였으며, template DNA의 2차 구조 형성을 막기 위해 반응용액에 10% dimethylsulfoxide(DMSO)를 첨가하였다. 반응용액은 0.6 ml microcentrifuge tube에 정제된 template DNA 10-50 ng, 10X PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 15 mM MgCl₂, 500 mM KCl, pH 8.3) 9 μ l, 2 mM dNTP 10 μ l, 10 μ M forward primer 2 μ l, 10 μ M reverse primer 3 μ l, DMSO 10 μ l를 혼합한 다음 D.D.W.로 총 부피를 90 μ l로 맞추어 만들었으며, 증발을 방지하기 위해 mineral oil 80 μ l를 반응용액 위에 첨가해 oil 층을 형성하였다. *Taq* DNA polymerase (AmpliTaq Gold DNA Polymerase; PE Applied Biosystems, CA, USA)는 2.5 unit에 1 μ l의 10X PCR buffer와 D.D.W.를 넣어 총 부피 10 μ l로 만들어 사용하였다. PCR 반응용액을 98℃에서 3분간 pre-denaturation시킨 후 95℃로 2분간 유지시키면서 첨가하였다. 이후의 PCR은 95℃에서 1분간의 denaturation,

Table 1. Vouchers for ITS sequencing of *Polygonum* sect. *Persicaria*

Taxon	Acronym	Voucher	Locality
<i>Polygonum</i> sect. <i>Persicaria</i>			
<i>P. amphibium</i> L.	AMP1	<i>Kwak 990813</i>	Korea. Gyeongnam
	AMP2	<i>Kwak 33</i>	Korea. Gyeongbuk
<i>P. erecto-minus</i> Makino			
var. <i>koreense</i> (Nakai) Kwak & Park (≡ <i>Persicaria erecto-minus</i> var. <i>koreensis</i>)	ERE-K1	<i>Kwak 99287</i>	Korea. Incheon
	ERE-K2	<i>Kwak et al. s.n.</i>	Korea. Gangwon
<i>P. foliosum</i> H. Lindb.	FOL1	<i>Kwak 99242</i>	Korea. Gyeongnam
<i>P. hydropiper</i> L.	HYD1	<i>Kwak 99278</i>	Korea. Incheon
	HYD2	<i>Kwak 99266</i>	Korea. Gyeongnam
<i>P. pubescence</i> Blume	PUB1	<i>Kwak 99330</i>	Korea. Gyeonggi
<i>P. japonicum</i> Meisn.	JAP1	<i>Kwak 99242</i>	Korea. Busan
	JAP2	<i>Kwak 99222</i>	Korea. Gyeongnam
<i>P. caespitosum</i> Blume var. <i>laxiflorum</i> Meisn.	CAE-L1	<i>Park et al. s.n.</i>	Korea. Jeonnam
<i>P. longisetum</i> Bruijn	LON1	<i>Kwak 99171</i>	Korea. Gyeongbuk
	LON2	<i>Kwak 99155</i>	Korea. Gyeonggi
<i>P. persicaria</i> L.	PES1	<i>Kwak 99204</i>	Korea. Seoul
<i>P. viscoferum</i> Makino			
var. <i>viscoferum</i>	VIF-V1	<i>Kwak 99271</i>	Korea. Busan
	VIF-V2	<i>Kwak 99187</i>	Korea. Gyeongbuk
var. <i>robustum</i> Makino	VIF-R1	<i>Kwak 99274</i>	Korea. Gyeonggi
<i>P. tinctorium</i> Aiton	TIN1	<i>Kwak 99327</i>	Korea. Seoul
<i>P. trigonocarpum</i> (Makino) Kudô & Masam.	TRI1	<i>Kwak 99241</i>	Korea. Gyeongnam
<i>P. lapathifolium</i> L.	LAP1	<i>Park 98-62</i>	USA. New York
	LAP2	<i>Kwak 99140</i>	Korea. Gyeonggi
<i>P. viscosum</i> Buch.-Ham. ex D. Don	VIS1	<i>Kwak 99184</i>	Korea. Gyeongbuk
	VIS2	<i>Kwak 99147</i>	Korea. Gyeonggi
<i>P. orientale</i> L.	ORI1	<i>Kwak 99214</i>	Korea. Seoul
	ORI2	<i>Kwak 99136</i>	Korea. Gyeonggi



ITS-K1 5'-TCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG-3' ITS-2 5'-GCTACGTTCTTCATCGATGC-3'
 ITS-3 5'-GCATCGATGAAGAACGTAGC-3' ITS-4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

Fig. 1. Organization of the ITS regions. Arrows indicate orientation and approximate position of primer sites. Sequence of primer 'ITS-K1' is obtained from K. J. Kim (pers. comm.) and those of other primers are from White *et al.* (1990).

54℃에서 30초간의 annealing, 72℃에서 45초간의 extension으로 이루어지는 thermal cycle을 35회 반복 수행하였으며, extension 시간은 첫 회의 45초 이후 매 cycle당 3초씩 증가시켰다. PCR primer로는 'ITS-K1' (K. J. Kim, pers. comm.)과 'ITS-4'(White *et al.*, 1990)를 각각 forward primer 및 reverse primer로 사용하였다 (Fig. 1).

ITS 부위의 sequencing: ITS 부위의 sequencing은 *P. erecto-minus* var. *koreense*와 *P. orientale* 및 *P. viscoferum* var. *viscoferum*은 manual sequencing의 방법으로 염기서열을 결정하였으며, 상기 분류군들을 제외한 나머지 분류군들은 automatic sequencing을 사용하여 염기서열을 결정하였다. ITS 부위의 manual sequencing은 Sequenase PCR Product Sequencing Kit (ver. 2.0; USB, OH, USA)을 사용하였으며, 모든 처리과정은 공급자의 manual (Protocols for Sequenase PCR Product Sequencing Kit, 2nd ed., 1997, USB, OH, USA)과 Winship (1989)의 방법을 변형하여 수행하였다. Automatic sequencing은 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Biosystems, CA, USA)을 사용하였으며, 모든 처리과정은 공급자의 manual (Protocols for ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, 1998; PE Biosystems, CA, USA)을 따라 수행하였다. Cyclic sequencing 반응은 0.6 ml tubes에 정제된 PCR product 20-30 ng, RRmix (Ready Reaction Mix) 4 µl, 3.2 µM primer 1 µl를 넣고, D.D.W.로 총 부피를 20 µl로 맞추는 반응용액을 DNA thermal cycler를 이용하여 96℃에서 30초간의 denaturation, 50℃에서 15초간의 annealing, 60℃에서 4분간의 extension의 thermal cycle을 25회 반복, 수행하였다. Sequencing primer는 manual sequencing과 동일한 것을 사용하였다. Cycle sequencing 결과 얻어진 product는 ethanol/sodium acetate precipitation 방법을 이용하

여 정제하였다. 즉, product에 3 M sodium acetate 2 μ l, 100% EtOH 50 μ l를 첨가하여 상온에 15분 두었다가 11,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 상침액을 제거한 후 70% EtOH 250 μ l를 넣어 11,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 세척한 후, EtOH를 제거하고 상온에서 pellet을 건조시켰다. 건조된 pellet에 TSR (Template Suppression Reagent) 20 μ l를 첨가하여 이를 용해시킨 후 92°C에서 2분간 denaturation하여, ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems, CA, USA)를 사용하여 ITS 부위의 염기서열을 결정하였다.

Data 분석: 본 절 16분류군 25개체로부터 얻어진 25개의 ITS 염기서열은 Clustal X program (Thompson *et al.*, 1997)을 사용하여 정렬하였으며, 육안으로 배열상태를 확인하고 조정하였다. ITS 1, 5.8S 및 ITS 2 영역은 다양한 식물에서 기존에 보고된 염기서열 (Baldwin, 1992; Kim & Jansen, 1994; Suh *et al.*, 1993, 1997; Sang *et al.*, 1994, 1995)과 비교하여 결정하였으며, ITS 1, 5.8S, ITS 2 부위의 G+C 비율은 PAUP program (ver. 4.0b10; Swofford, 2002)의 base frequency option을 사용하여 계산하였다. ITS 염기서열의 pairwise nucleotide differences는 PAUP program의 distance matrix option을 이용하여 산출하였으며, 염기변이(nucleotide divergence)는 상기 option을 이용, transition : transversion 비율을 2:1로 가정하여 two-parameter method (Kimura, 1980)로 계산하였다. 그 결과 산출된 염기 변이를 사용하여 PAUP program으로 neighbor-joining tree (Saitou & Nei, 1987)를 얻었다. 한편, bootstrap 분석은 neighbor-joining 분석과 동일한 조건으로 1000회의 re-sampling을 통해 수행하였다.

결 과 및 고 찰

nrDNA ITS의 염기서열: 본 연구 결과 *Persicaria*절 16분류군 24개체와 북미산 1개체의 ITS 부분의 염기서열이 결정되었으며, 밝혀진 ITS 부분의 길이는 Table 2에 제시하였다.

한국산 *Persicaria*절 분류군들의 ITS 길이는 ITS 1부분이 대부분의 분류군에서 241-242 bp, ITS 2부분이 240-247 bp이었으며, 5.8S 부분을 포함한 ITS 구간의 전체 길이는 646-652 bp로 밝혀졌다 (Table 2). 밝혀진 본 절 한국산 분류군들의 ITS 1과 ITS 2의 길이는 현재까지 현화식물에서 보고된 ITS 1 및 ITS 2의 크기 범주에 포함되는 것으로 나타났다 (Baldwin *et al.*, 1995; Bayer *et al.*, 1996; Möller & Cronk, 1997). 한편, 본 절 한국산 분류군의 ITS 길이는 마디풀과의 *Fallopia*속(557-572 bp; Won & Park, unpubl. data)과 *Muehlenbeckia*속(566-570 bp; Won & Park, unpubl. data) 및 *Polygonum*속 *Echinocaulon*절(590-646 bp; Park *et al.*, unpubl. data)에 비해 긴 편이나, *Cephalophilon*절(661-665 bp; Park *et al.*, unpubl. data)에 비해 짧고, *Tovara*절(647-648 bp; Suh *et al.*, 1997)과는 유사한 것으로 나타

Table 2. Lengths and G+C contents of ITS regions in the *Polygonum* sect. *Persicaria*

Taxon	Acronym	ITS 1		5.8S		ITS 2		ITS 1+ITS 2	
		Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)
<i>P. amphibium</i>	AMP1	242	64.0	164	56.1	240	68.3	482	66.2
	AMP2	242	64.0	164	56.1	240	68.3	482	66.2
<i>P. erecto-minus</i>									
var. <i>koreense</i>	ERE-K1	241	62.7	164	56.1	241	68.9	482	65.8
	ERE-K2	241	62.2	164	56.1	241	68.6	482	65.4
<i>P. foliosum</i>	FOL1	241	62.5	164	56.7	241	70.1	482	66.3
<i>P. hydropiper</i>	HYD1	241	62.2	164	56.1	241	68.3	482	65.3
	HYD2	241	62.2	164	56.1	241	68.5	482	65.4
<i>P. pubescence</i>	PUB1	241	62.2	164	56.1	241	68.5	482	65.4
<i>P. japonicum</i>	JAP1	241	59.6	164	56.1	241	70.1	482	64.9
	JAP2	241	59.3	164	56.1	241	70.4	482	64.9
<i>P. caespitosum</i>									
var. <i>laxiflorum</i>	CAE-L1	241	62.2	164	56.1	242	68.2	483	65.2
<i>P. longisetum</i>	LON1	241	61.4	164	56.1	241	68.5	482	64.9
	LON2	241	61.8	164	56.1	241	69.0	482	65.4
<i>P. persicaria</i>	PES1	241	62.1	164	56.1	241	65.6	482	63.8
<i>P. viscoferum</i>									
var. <i>viscoferum</i>	VIF-V1	241	61.8	164	56.1	241	65.6	482	63.7
	VIF-V2	241	61.8	164	56.1	241	65.6	482	63.7
var. <i>robustum</i>	VIF-R1	241	61.8	164	56.4	241	65.6	482	63.7
<i>P. tinctorium</i>	TIN1	241	61.3	164	56.1	241	67.6	482	64.5
<i>P. trigonocarpum</i>	TRI1	241	62.2	164	56.1	241	68.9	482	65.6
<i>P. lapathifolium</i>	LAP1	241	61.0	164	56.1	247	66.8	488	63.9
	LAP2	241	61.0	164	56.1	246	67.4	487	64.2
<i>P. viscosum</i>	VIS1	241	60.2	164	56.1	242	67.4	483	63.8
	VIS2	241	60.2	164	56.1	242	67.4	483	63.8
<i>P. orientale</i>	ORI1	241	61.4	164	56.7	241	66.8	482	64.1
	ORI2	241	61.4	164	56.1	241	66.7	482	64.0

났다.

본 절 한국산 분류군에 있어 ITS 부위의 길이는 분류군간 변이가 나타났다. ITS 1부분은 *P. amphibium*이 242 bp이었으며, 본 종을 제외한 한국산 나머지 분류군들의 경우 241 bp로 동일하였고, ITS 2부분은 240 bp (*P. amphibium*)-247 bp (*P. lapathifolium*)로 변이가 나타났다. 본 절 분류군들의 ITS 1과 ITS 2의 상대적 길이는 대부분의 분류군에서 동일하나, *P. lapathifolium*, *P. caespitosum* var. *laxiflorum*, *P. viscosum*은 ITS 2부분이, *P. amphibium*은 ITS 1부분이 약간 더 긴 것으로 밝혀졌다 (Table 2). 한편, *Polygonum*속의 *Cephalophylon*절, *Echinocaulon*절 및 *Bistorta*절은 ITS 2가 ITS 1에 비해 상대적으로 길며 (Park *et al.*, unpubl. data), *Fallopia*속과 *Muehlenbeckia*속의 일부 분류군들의 경우 ITS 1의 길이가 상대적으로 길다 (Won & Park, unpubl. data). 따라서, ITS 1과 ITS 2의 상대적 길이는 마디 풀과내에서 속간 및 속내 변이가 나타나는 것으로 판단되며, 이러한 현상은 콩과(Fabaceae), 벼과(Poaceae) 그리고 장미과(Rosaceae) 등 일부 과에서도 보고되어 있다 (Baldwin *et al.*, 1995).

본 절 한국산 분류군들의 G+C 비율은 ITS 1부분이 59.3 (*P. japonicum*)-64.0% (*P. amphibium*), ITS 2부분은 65.6 (*P. persicaria*, *P. viscoferum* var. *viscoferum*, *P. viscoferum* var. *robustum*)-68.9% (*P. erecto-minus* var. *koreense*, *P. trigonocarpum*)로 ITS 2 부분이 ITS 1 부분보다 높은 G+C 비율을 보였으며, 5.8S의 경우 56.1-56.7%로 ITS 1, ITS 2 부분에 비해 낮은 것으로 밝혀졌다 (Table 2). 한편, 현재까지 보고된 현화 식물들의 ITS 부위의 G+C 비율은 ITS 1이 51-60%, ITS 2가 50-60%경도로, 한국산 분류군들의 G+C 비율은 ITS 1의 경우 다른 현화식물들과 유사하나, ITS 2는 비교적 높은 수준인 것으로 밝혀졌다. *Polygonum*속 *Echinocaulon*절의 경우 G+C 비율은 ITS 1 부분이 61.8-67.0%, ITS 2 부분이 64.7-75.3%이고, *Cephalophylon*절의 경우 ITS 1 부분이 59.6-61.2%, ITS 2 부분이 63.1-66.8%, *Tovara*절은 ITS 1 부분이 62.7-66.5%, ITS 2 부분이 65.4-79.8% (Suh *et al.*, 1997; Park *et al.*, unpubl. data)로, 본 절 한국산 분류군의 G+C 비율은 속내 다른 분류군에 비해 비교적 낮은 편이며, 동일과에 속하는 *Fallopia*속과 *Muehlenbeckia*속의 G+C 비율은 ITS 1에서 70% 이상, ITS 2에서 75% 이상(Won & Park, unpubl. data)으로 이들 속에 비해서는 현저히 낮은 것으로 밝혀졌다.

본 연구에서 얻어진 16분류군 25개체의 ITS 염기서열을 정렬한 결과 ITS 1 부분이 243 bp, ITS 2 부분이 256 bp로 정렬되었으며, 5.8S 부분을 포함하여 총 657 bp로 정렬되었다. 정렬된 전체 ITS 염기서열 중 12부분에서 1-3 bp 길이의 indel이 나타났다. 한편, 정렬된 ITS 염기서열 657 bp 중 104 bp가 variable site로 판명되었으며, ITS 1 부분이 53 site (52.0%), ITS 2 부분이 49 site(48.0%)이었으며, informative site의 수는 총 90개로 ITS 1 부분이 49개 (54.4%), ITS 2 부분이 41개(45.6%)개로 ITS 1 부분이 ITS 2부분에 비해 informative site가 더 높은 비율로 나타났다.

ITS 염기서열 및 염기 변이 분석: 본 연구에서 얻어진 한국산 *Persicaria*절의 분류군간

Table 3. Sequence divergences of ITS regions from *Polygonum* sect. *Persicaria*. Observed numbers of nucleotide differences (pairwise comparisons) are shown below the diagonal, and sequence divergences corrected for multiple substitutions using two-parameter method (Kimura, 1980) are given above the diagonal. See Table 1 for acronyms.

ITS 1	AMP1	AMP2	ERE-K1	ERE-K2	FOL1	HVD1	HVD2	PUB1	JAP1	JAP2	CAE-L1	LOW1	LOW2	PES1	VIF-R1	TIM1	TR11	VIF-V1	VIF-V2	LAP1	LAP2	VIS1	VIS2	ORI1	ORI2
AMP1	-	0.0	12.4	11.6	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.9	12.0	12.0	12.0	12.4	12.4	12.4	12.4	12.0	12.4	12.4	13.3	13.3	13.3	12.4	12.4
AMP2		-	12.4	11.6	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.9	12.0	12.0	12.0	12.4	12.4	12.4	12.4	12.0	12.4	12.4	13.3	13.3	13.3	12.4	12.4
ERE-K1			-	0.4	3.7	3.7	3.7	3.7	2.9	3.3	1.2	0.4	0.8	5.4	5.4	0.8	0.4	5.4	5.4	5.0	5.0	4.6	4.6	4.1	4.1
ERE-K2				-	0.0	2.9	2.9	2.9	2.1	2.5	0.8	0.0	0.4	5.0	5.0	0.4	0.0	5.0	5.0	4.6	4.6	4.1	4.1	3.7	3.7
FOL1					-	2.9	2.9	2.9	2.5	2.9	0.4	0.0	0.4	4.6	4.6	0.4	0.0	4.6	4.6	4.1	4.1	4.1	4.1	3.7	3.7
HVD1						-	0.0	0.0	5.0	5.4	3.3	2.9	3.7	7.1	7.1	2.5	3.3	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	6.6	6.6
HVD2							-	0.0	5.0	5.4	3.3	2.9	3.7	7.1	7.1	2.5	3.3	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	6.6	6.6
PUB1								-	5.0	5.4	3.3	2.9	3.7	7.1	7.1	2.5	3.3	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	6.6	6.6
JAP1									-	0.0	3.3	1.7	2.9	5.4	5.4	2.1	2.5	5.4	5.4	5.4	5.4	4.1	4.1	5.0	5.0
JAP2										-	3.7	2.1	3.3	5.8	5.8	2.5	2.9	5.8	5.8	5.8	5.8	4.6	4.6	5.4	5.4
CAE-L1											-	0.8	1.2	5.0	5.0	1.2	0.8	5.0	5.0	4.6	4.6	5.0	5.0	4.6	4.6
LOW1												-	0.0	4.6	4.6	0.4	0.0	4.6	4.6	4.1	4.1	3.7	3.7	3.7	3.7
LOW2													-	5.4	5.4	0.8	0.4	5.4	5.4	5.0	5.0	4.6	4.6	4.1	4.1
PES1														-	0.0	5.0	5.0	0.0	0.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.4	5.4
VIF-R1															-	5.0	5.0	0.0	0.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.4	5.4
TIM1																-	0.4	5.0	5.0	4.6	4.6	3.7	3.7	3.7	3.7
TR11																	-	5.0	5.0	4.6	4.6	4.1	4.1	3.7	3.7
VIF-V1																		-	0.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.4	5.4
VIF-V2																			-	5.0	5.0	5.0	5.0	5.4	5.4
LAP1																				-	0.0	4.1	4.1	5.4	5.4
LAP2																					-	4.1	4.1	5.4	5.4
VIS1																						-	0.0	2.5	2.5
VIS2																							-	2.5	2.5
ORI1																								-	0.0
ORI2																									-

Table 3. (Continued)

ITS 2		AMP1	AMP2	ERE-K1	ERE-K2	FOL1	HVD1	HVD2	PUB1	JAP1	JAP2	CAE-L1	LON1	LON2	PES1	VIF-R1	TIM1	TRU1	VIF-V1	VIF-V2	LAP1	LAP2	VIS1	VIS2	ORI1	ORI2
AMP1	-	0.0	10.1	9.2	8.4	9.7	10.1	10.1	9.2	8.8	9.7	9.2	9.2	9.2	8.8	8.8	10.5	9.2	8.8	8.8	11.7	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
AMP2	0	-	10.0	9.2	8.4	9.6	10.0	10.0	9.2	8.8	9.6	9.2	9.2	9.2	8.8	8.8	10.5	9.2	8.8	8.8	11.7	10.5	10.0	10.0	10.5	10.5
ERE-K1	24	24	-	0.0	0.4	2.1	2.1	2.1	2.1	5.8	5.4	2.1	0.4	0.8	4.6	4.6	2.1	2.1	4.6	4.6	7.9	7.1	4.2	4.2	3.8	3.8
ERE-K2	22	22	0	-	0.4	0.8	0.8	0.8	4.6	4.6	4.1	1.2	0.0	0.0	3.8	3.8	1.2	0.8	3.8	3.8	7.1	6.3	2.9	2.9	2.5	2.5
FOL1	20	20	1	1	-	1.2	1.2	1.2	2.9	2.5	1.7	0.4	0.4	0.4	3.8	3.8	1.7	0.4	3.8	3.8	6.2	5.0	2.9	2.9	2.5	2.5
HVD1	23	23	5	2	3	-	0.0	0.0	5.0	4.6	2.5	1.2	1.2	1.2	4.2	4.2	2.5	0.8	4.2	4.2	8.3	7.5	3.8	3.8	3.3	3.3
HVD2	24	24	5	2	3	0	-	0.0	5.0	4.6	2.5	1.2	1.2	1.2	4.6	4.6	2.5	0.8	4.6	4.6	8.3	7.5	3.8	3.8	3.3	3.3
PUB1	24	24	5	2	3	0	0	-	5.0	4.6	2.5	1.2	1.2	1.2	4.6	4.6	2.5	0.8	4.6	4.6	8.3	7.5	3.8	3.8	3.3	3.3
JAP1	22	22	14	11	7	12	12	12	-	0.0	5.4	5.0	5.0	5.0	5.8	5.8	6.2	4.6	5.8	5.8	7.5	6.3	5.8	5.8	5.4	5.0
JAP2	21	21	13	10	6	11	11	11	11	0	-	5.0	4.6	4.6	5.4	5.4	5.8	4.1	5.4	5.4	7.1	5.8	5.4	5.4	5.0	5.0
CAE-L1	23	23	5	3	4	6	6	6	6	13	12	-	1.2	1.2	5.0	5.0	2.5	2.5	5.0	5.0	8.3	7.5	4.6	4.6	4.2	4.2
LON1	22	22	1	0	1	3	3	3	3	12	11	3	-	0.0	3.8	3.8	1.2	1.2	3.8	3.8	7.5	6.7	3.3	3.3	2.9	2.9
LON2	22	22	2	0	1	3	3	3	3	12	11	3	0	-	3.8	3.8	1.2	1.2	3.8	3.8	7.9	7.1	3.3	3.3	2.9	2.9
PES1	21	21	11	9	9	10	11	11	11	14	13	12	9	9	-	0.0	5.0	4.6	0.0	0.0	8.3	7.5	4.1	4.1	4.1	4.1
VIF-R1	21	21	11	9	9	10	11	11	11	14	13	12	9	9	0	-	5.0	4.6	0.0	0.0	8.3	7.5	4.1	4.1	4.1	4.1
TIM1	25	25	5	3	4	6	6	6	6	15	14	6	3	3	12	12	-	2.5	5.0	5.0	9.1	8.3	3.8	3.8	4.2	4.2
TRU1	22	22	5	2	1	2	2	2	2	11	10	6	3	3	11	11	6	-	4.6	4.6	8.3	7.1	3.8	3.8	3.3	3.3
VIF-V1	21	21	11	9	9	10	11	11	11	14	13	12	9	9	0	0	12	11	-	0.0	8.3	7.5	4.1	4.1	4.1	4.1
VIF-V2	21	21	11	9	9	10	11	11	11	14	13	12	9	9	0	0	12	11	0	-	8.3	7.5	4.1	4.1	4.1	4.1
LAP1	28	28	19	17	15	20	20	20	20	18	17	20	18	19	20	20	20	20	20	20	-	0.8	8.3	8.3	8.3	8.3
LAP2	25	25	17	15	12	18	18	18	18	15	14	18	16	17	18	18	20	17	18	18	2	-	7.5	7.5	7.5	7.5
VIS1	25	24	10	7	7	9	9	9	9	14	13	11	8	8	10	10	9	9	10	10	20	18	-	0.0	2.5	2.5
VIS2	25	24	10	7	7	9	9	9	9	14	13	11	8	8	10	10	9	9	10	10	20	18	0	-	2.5	2.5
ORI1	25	25	9	6	6	8	8	8	8	13	12	10	7	7	10	10	10	8	10	10	20	18	6	6	-	0.0
ORI2	25	25	9	6	6	8	8	8	8	12	12	10	7	7	10	10	10	8	10	10	20	18	6	6	-	0.0

Table 3. (Continued)

Total ITS (ITS 1 + 5.8S + ITS 2)		AMP1	AMP2	ERE-K1	ERE-K2	FOL1	HVD1	HVD2	PUB1	JAP1	JAP2	CAE-L1	LOW1	LOW2	PES1	VIF-R1	TINI	TRI1	VIF-V1	VIF-V2	LAP1	LAP2	VIS1	VIS2	ORI1	ORI2	
AMP1	- 0.0	8.4	7.8	7.6	9.0	9.2	9.2	9.2	8.9	8.9	8.9	8.1	7.9	8.1	7.9	8.1	7.9	8.6	7.9	7.9	9.3	8.9	8.9	8.9	8.7	8.6	
AMP2	0	- 8.4	7.8	7.6	9.0	9.2	9.2	9.2	8.9	8.9	8.9	8.1	7.9	8.1	7.9	8.1	7.9	8.5	7.9	7.9	9.3	8.9	8.9	8.7	8.7	8.5	
ERE-K1	54	- 0.2	0.5	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	3.3	3.3	3.3	1.2	0.3	0.6	3.7	3.7	1.1	0.9	3.7	3.7	4.8	4.5	3.3	3.3	3.1	2.9	
ERE-K2	50	1	- 0.3	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	2.5	2.5	2.5	0.8	0.0	0.2	3.3	3.3	0.6	0.3	3.3	3.3	4.3	4.0	2.6	2.6	2.5	2.3	
FOL1	49	49	3	2	- 1.7	1.7	1.7	1.7	2.2	2.2	2.2	0.9	0.3	0.5	3.3	3.3	0.9	0.2	3.3	3.3	4.0	3.6	2.8	2.8	2.6	2.5	
HVD1	58	58	14	9	11	- 0.0	0.0	0.0	3.7	3.7	3.7	2.2	1.5	1.9	4.2	4.2	1.9	1.5	4.2	4.2	5.7	5.4	4.0	4.0	3.9	3.7	
HVD2	59	59	14	9	11	0	- 0.0	0.0	3.7	3.7	3.7	2.2	1.5	1.9	4.3	4.3	1.9	1.5	4.3	4.3	5.7	5.4	4.0	4.0	3.9	3.7	
PUB1	59	59	14	9	11	0	0	- 3.7	3.7	3.7	2.2	1.5	1.9	2.9	4.2	4.2	3.1	2.6	4.2	4.2	4.8	4.3	3.7	3.7	4.0	3.7	
JAP1	57	57	21	16	14	24	24	24	0	- 0.0	3.3	2.5	2.9	2.9	4.2	4.2	3.1	2.6	4.2	4.2	4.8	4.3	3.7	3.7	4.0	3.9	
JAP2	57	57	21	16	14	24	24	24	0	- 3.3	2.5	2.9	2.9	2.9	4.2	4.2	3.1	2.6	4.2	4.2	4.8	4.3	3.7	3.7	4.0	3.9	
CAE-L1	52	52	8	5	6	14	14	14	21	21	21	- 0.8	0.9	0.9	3.7	3.7	1.4	1.2	3.7	3.7	4.8	4.5	3.6	3.6	3.4	3.3	
LOW1	51	51	2	0	2	10	10	10	16	16	16	5	- 0.0	0.3	3.1	3.1	0.6	0.5	3.1	3.1	4.3	4.0	2.6	2.6	2.6	2.5	
LOW2	52	52	4	1	3	12	12	12	19	19	19	6	0	- 3.4	3.4	0.8	0.6	3.4	3.4	4.8	4.5	2.9	2.9	2.8	2.6	2.6	
PES1	51	51	24	21	21	27	28	28	27	27	27	24	20	22	- 0.0	3.7	3.6	0.0	0.0	5.0	5.0	4.6	4.6	3.4	3.4	3.7	3.6
VIF-R1	51	51	24	21	21	27	28	28	27	27	27	24	20	22	0	- 3.7	3.6	0.0	0.0	5.0	5.0	4.6	4.6	3.4	3.4	3.7	3.6
TINI	55	55	7	4	6	12	12	12	20	20	20	9	4	5	24	24	- 1.1	3.7	3.7	5.1	4.8	2.8	2.8	3.1	2.9		
TRI1	51	51	6	2	1	10	10	10	17	17	17	8	3	4	23	23	7	- 3.6	3.6	4.8	4.3	2.9	2.9	2.8	2.6		
VIF-V1	51	51	24	21	21	27	28	28	27	27	27	24	20	22	0	0	24	23	- 0.0	5.0	5.0	4.6	4.6	3.4	3.4	3.7	3.6
VIF-V2	51	51	24	21	21	27	28	28	27	27	27	24	20	22	0	0	24	23	0	- 5.0	5.0	4.6	4.6	3.4	3.4	3.7	3.6
LAP1	60	60	31	28	26	37	37	37	31	31	31	31	28	31	32	32	33	31	32	32	- 0.3	4.6	4.6	5.3	5.1		
LAP2	57	57	29	26	23	35	35	35	28	28	28	29	26	29	30	30	31	28	30	30	2	- 4.3	4.3	5.0	4.8		
VIS1	57	56	21	17	18	26	26	26	24	24	24	23	17	19	22	22	18	19	22	22	30	28	- 0.0	2.0	1.9		
VIS2	57	56	21	17	18	26	26	26	24	24	24	23	17	19	22	22	18	19	22	22	30	28	0	- 2.0	1.9		
ORI1	56	56	20	16	17	25	25	25	26	26	26	22	17	18	24	24	20	18	24	24	34	32	13	13	- 0.2		
ORI2	55	55	19	15	16	24	24	24	24	24	24	25	21	16	17	23	23	19	17	23	33	31	12	12	1		

ITS 부위 염기 변이는 ITS 1에서 0.0-14.9%, ITS 2에서 0.0-11.7%, 전체구간에서 0.0-9.3%로 ITS 1의 염기 변이가 ITS 2보다 더 큰 것으로 나타났다 (Table 3). 본 절 한국산 분류군들의 염기변이는 *P. amphibium*과 나머지 분류군 사이를 제외하고는 분류군간의 염기변이 정도가 0.0-5.7%로 현재까지 알려진 마디풀과 다른 속 또는 절의 분류군간 염기변이에 비해 현저히 낮은 것으로 나타났다 (Table 3; Suh *et al.*, 1997; Park *et al.*, unpubl. data; Won & Park, unpubl. data). *Polygonum*속 *Echinocaulon* ITS 부위의 분류군간 염기변이는 0.5-11.6% (Park *et al.*, unpubl. data), *Tovara*절은 1.3-10.7% (Suh *et al.*, 1997), *Fallopia*속에서 0.9-12.1% (Won & Park, unpubl. data)로 보고되어 있어, 마디풀과의 경우 ITS 부위의 염기서열 변이 정도는 속간 및 절간에 차이가 있는 것으로 판단된다. 그러나, 본 연구에서 밝혀진 염기 변이 정도는 한국산 본 절 분류군들에 국한된 것으로 본 절의 염기 변이 정도 및 유연관계를 명확히 밝히기 위해서는 전세계산을 대상으로 연구를 수행해야 할 것이다.

ITS 염기서열의 유연관계 분석: 본 연구에서 얻어진 25개의 ITS 염기서열을 Kimura의 two-parameter method (Kimura, 1980)를 사용해 계산된 ITS 염기변이로부터 neighbor-joining tree (Saitou & Nei, 1987)를 산출하였다 (Fig. 2). 그 결과 얻어진 neighbor-joining tree에서 본 절 한국산 분류군들은 크게 *P. amphibium*과 나머지 분류군들을 포함하는 group의 두 개의 계열로 구분되었다. 나머지 분류군들을 포함하는 두 번째 계열은 다시 (1) *P. lapathifolium*, (2) *P. persicaria*와 *P. viscoferum*, (3) *P. orientale* 및 *P. viscosum*, (4) *P. japonicum*, (5) *P. longisetum*, *P. erecto-minus* var. *koreense*, *P. caespitosum* var. *laxiflorum*, *P. hydropiper*, *P. pubescence*, *P. tinctorium*, *P. foliosum*, *P. trigonocarpum*을 포함하는 group으로 세분되었다.

*Polygonum amphibium*은 유라시아 대륙과 북미 온대지역에 널리 분포하며, 다년생으로 지하경이 발달하며, 2.5-4 cm의 짧은 화축에 flower fascicle이 촘촘히 배열하는 화서의 형태, 1열로 배열된 5개의 수술 (Laubengayer, 1937; Ronse Decraene & Akeroyd, 1988) 등의 특징에 의해 본 절 나머지 분류군들과 형태적으로 뚜렷이 구분된다. 본 종은 ITS neighbor-joining tree에서 현저히 긴 branch length를 가지면서 본 절 나머지 한국산 분류군들과 뚜렷이 구분되었으며, 이러한 관계는 100%의 bootstrap 값에 의해 지지되었다 (Fig. 2). 본 종과 나머지 한국산 본 절 분류군간의 염기 변이는 7.6-9.2%정도로 *Echinocaulon*절과 *Tovara*절과의 염기변이 4.5-5.3%보다 높은 것으로 나타났다 (Table 3). 이상의 결과에서 *P. amphibium*은 한국산 본 절 분류군들과 뚜렷하게 분리되는 것으로 나타났으며, 본 종의 정확한 분류학적 위치를 규명하기 위해서는 전 세계에 분포하는 다양한 분류군을 포함하여 분석을 수행하여야 할 것으로 판단된다.

*Polygonum lapathifolium*은 극지방을 제외하고 전 세계적으로 분포하는 분류군으로 외화피편 중앙맥이 뚜렷하게 나타나며, 선단부가 갈고리 모양이며, 화피의 겉면에 구형의 다세포 선모가 산생하여 다른 분류군들과 형태적으로 뚜렷이 구분된다. 또한, 본 연구에서 조사된 본 분류군의 ITS 염기서열은 ITS 2 말단 부분에 3 bp의 특징적인 indel이 나타나, 본 절 다른

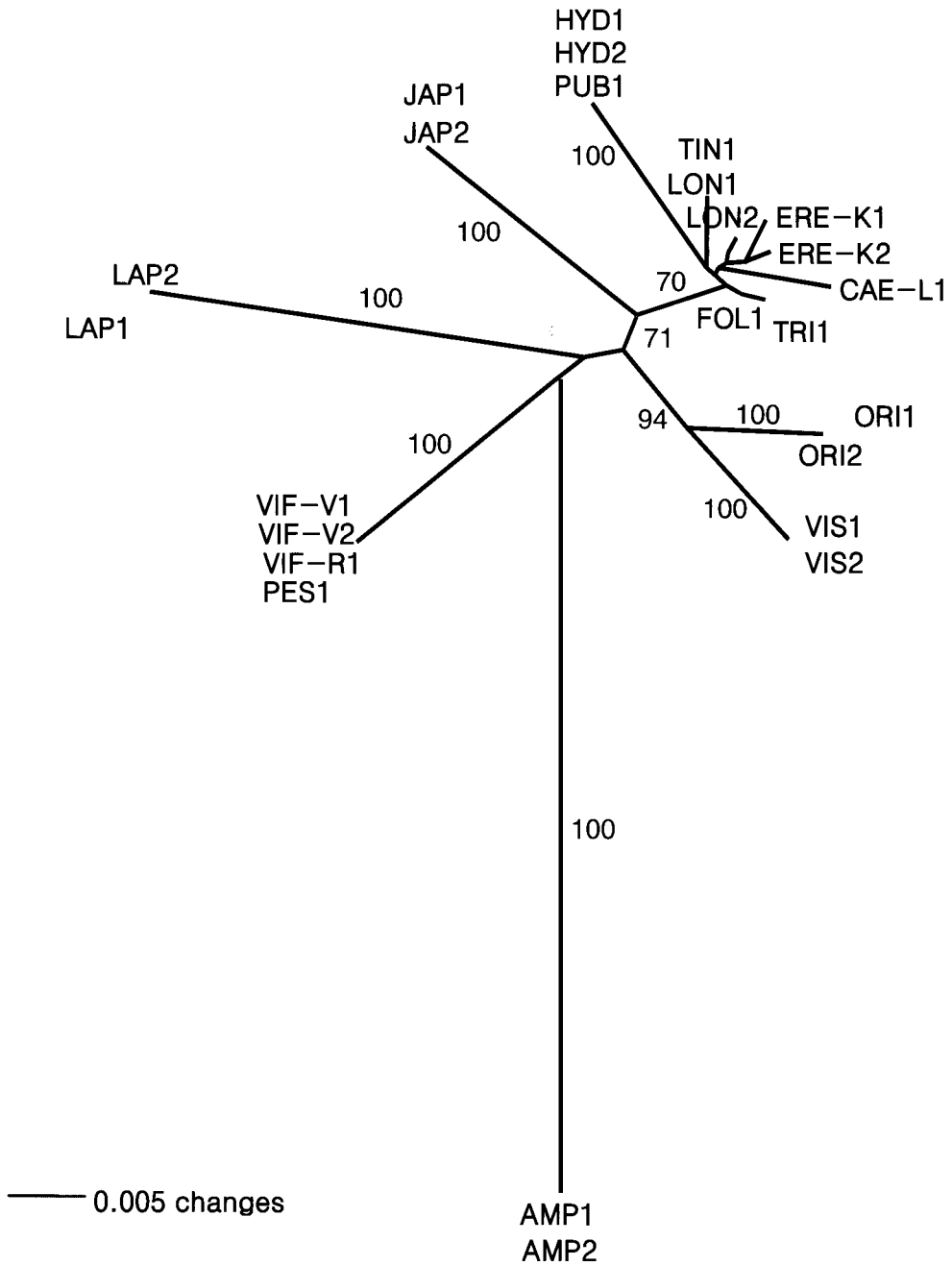


Fig. 2. Unrooted neighbor-joining tree obtained from the analysis of ITS data of *Polygonum* sect. *Persicaria*. Numbers next to branches are bootstrap values.

분류군들의 염기 서열과 뚜렷이 구분되며, neighbor-joining tree 상에서도 100%의 bootstrap 값에 의해 다른 분류군들과 뚜렷이 분리되었다. 본 분류군은 잎의 형태가 선형, 좁은 장타원형 내지 타원형 또는 피침형으로 잎의 형태가 다양하고, 잎의 양면 또는 뒷면에 융모가 분포하며 자루가 있는 다세포 선모 또는 다열의 다세포 털이 화축에 분포하거나 분포하지 않는 등 지역 및 환경에 따라 극심한 양상의 변이를 나타낸다. 한편, 조사된 북미산 분류군(LAP1)과 한국산(LAP2) 분류군은 잎의 형태 및 털의 분포 양상을 포함한 대부분의 형태적 형질에 있어 동일하였으나, 이들 간에는 2 bp의 염기서열변이를 나타내었다. 또한 본 연구에서 *P. lapathifolium* var. *salicifolium*과 잎의 크기가 비교적 큰 *P. lapathifolium* var. *lapathifolium*의 ITS 염기서열을 분석하였으나, 이들 개체는 ITS 2 부위에 서로 다른 길이의 ITS copy가 존재하여, 완전한 염기서열을 얻지 못하였고 분석에서 제외하였다. 이와 같이 동일한 genome 상에 서로 다른 ITS copy가 존재하는 경우는 이들의 genome 상에 있는 ITS loci가 잡종화, lineage sorting, 재조합 및 pseudogenization 등에 의해 동질화 되지 않은 경우로 (Álvarez & Wendel, 2003; Bailey *et al.*, 2003; references therein), 이들 ITS copy에 대한 보다 광범위한 조사 및 분석을 통해 이들 copy를 소유한 분류군들의 과거 역사를 추정할 수 있는 것으로 알려져 있다 (Bailey *et al.*, 2003; references therein). 따라서, *P. lapathifolium*에 인식되어온 다양한 종하위 분류군의 분류학적 타당성, 한계 및 계급설정을 위해서는 전세계에 분포하는 다양한 분류군에 대한 분석이 필요할 것으로 판단된다.

*Polygonum persicaria*는 줄기와 탁엽 및 잎의 양면에 가늘고 굽은 다열의 다세포털이 밀생하며 개화기가 5-7월로 다른 분류군에 비해 빠른 특징으로 구별된다. 한편, Timson (1964)은 그 형태적 유사성으로 인해 *P. laphathifolium*의 autotetraploid인 것으로 추정하였으나, 본 종은 *P. lapathifolium*과는 ITS 염기서열이 4.6-5.0%의 변이를 나타내는 반면, *P. viscoferum*과는 동일한 ITS 염기서열을 가지는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 형태형질에 의해 추론된 Timson (1964)의 견해를 지지하지 않으며, ITS 분석결과로 볼 때 본 종은 *P. viscoferum* 및 그 근연 분류군과 유연관계가 깊은 것으로 판단된다. 한편, 본 종과 *P. viscoferum*은 줄기와 잎 양면에 다열의 다세포 털이 산생 내지 밀생하며, flower fascicle이 연속적으로 배열되는 특징을 공유한다. 또한, *Polygonum persicaria*와 *P. viscoferum*은 ITS neighbor-joining tree 상에서 100%의 bootstrap 값에 의해 지지되는 group을 형성하였다.

*Polygonum orientale*는 본 절 나머지 분류군들과는 달리 배의자엽(incumbent cotyledon)을 가지며, 일부 학자들은 이러한 특징에 의거하여 본 종을 *Persicaria*절로부터 분리하여 하나의 독립된 속 또는 *Polygonum*속의 하나의 절로 구분하기도 하였다 (Loureiro, 1790; Nakai, 1929; Small, 1933). 그러나 본 연구에서 ITS 부위의 염기 서열을 분석한 결과, 본 종과 *P. amphibium*을 제외한 한국산 다른 분류군과의 염기 변이는 1.9-4.0%로 *P. amphibium*과 나머지 분류군 사이의 염기변이보다 훨씬 낮으며, *P. viscosum*과 가장 가깝게 유집되었다. 또한, ITS neighbor-joining tree상에서 *P. orientale*와 *P. viscosum*은 94%의 높은 bootstrap 값에 의해 지지되는 group을 형성하였다. *Polygonum orientale*는 본 절 나머지 분류군들과는 달리 탁엽의 선단에 녹색의 날개가 발달하는 특징을 나타내나, *P. viscosum*의 어린 개체의 경우

탁엽의 날개가 약하게 발달하나 성숙함에 따라 탁엽의 날개가 없어지는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때, *P. orientale*를 하나의 독립된 절 또는 속으로 인식한 이전의 학자들의 분류학적 처리는 타당성이 없는 것으로 판단된다.

*Polygonum japonicum*은 대만과 중국 동남부, 한국, 일본에 분포하며 다년생으로 지하경이 발달하고, 탁엽의 긴 털과 식물체에 epidermal cavity가 분포하는 특징으로 뚜렷이 구분된다. 본 분류군은 ITS neighbor-joining tree상에도 비교적 긴 branch length를 가지면서 독립된 계열로 분리되었다.

*Polygonum hydropiper*는 유라시아 대륙, 북미 및 호주에 분포하며, 잎과 화피에 epidermal cavity가 분포하고, flower fascicle의 배열상태가 interrupted panicle이며, 수과가 광택이 없고 표면에 반구형의 돌기로 이루어진 망상의 무늬가 존재하는 특징으로 본 절내 다른 한국산 분류군들과 구분된다. 한편, *P. pubescence*는 동북아시아에 분포하며, 화피 겉면에 epidermal cavity가 분포하고, 수과가 광택이 없으며, 표면에 반구형으로 이루어진 망상의 무늬가 있는 점 등에 의해 *P. hydropiper*와 형태적으로 유사하며, ITS 분석결과 역시 이들 간의 염기 서열은 동일한 것으로 나타나 형태적으로 추정된 이들 간의 깊은 유연관계와 일치하는 결과를 나타내었다.

한편, 상기 분류군들을 제외한 한국산 본 절 분류군들은 ITS neighbor-joining tree상에서 매우 가깝게 유집되었으며, 이러한 grouping은 70%의 비교적 높은 bootstrap 값에 의해 지지되었다. *Polygonum longisetum*과 *P. caespitosum* var. *laxiflorum*은 주로 동아시아 지역에 분포하며, 학자간의 견해 차이에 따라 이들 분류군들의 분류학적 계급 및 한계해석에 많은 혼란이 있어왔다. 또한, *P. erecto-minus* var. *koreense*, *P. trigonocarpum*와 *P. foliosum*은 잎이 선형 내지 좁은 피침형인 특징으로 기재된 분류군으로, *P. trigonocarpum*이 *Persicaria erecto-minor* (Makino) Nakai (\equiv *Polygonum erecto-minus*)의 변종으로 인식되는 등 (Ito, 1956), 이들 간의 형태적 유사성으로 인해 분류학적 계급설정 및 종의 한계해석에 많은 견해 차이가 있어왔다. 또한, ITS neighbor-joining tree상에서 *P. longisetum*, *P. erecto-minus* var. *koreense*, *P. caespitosum* var. *laxiflorum*, *P. foliosum* 및 *P. trigonocarpum*은 유연관계가 높은 것으로 나타났으며, 염기변이는 0.0-1.4% 정도로 매우 낮은 것으로 나타났다.

이상의 결과로 볼때 ITS 구간 염기서열은 본 절 분류군의 분류학적 타당성, 한계 및 계급 설정 및 분류군간의 계통적 유연관계를 추정하는 데 있어 유용한 것으로 나타났으며, 전세계 분류군을 대상으로 한 연구를 통해 본 절 분류군의 계통 및 진화적 유연관계를 보다 정확하게 파악할 수 있을 것으로 사료된다. 한편, ITS 구간의 염기서열 분석 결과 밝혀진 본 절 분류군간의 유연관계는 과거 형태적 식별형질에 의해 제안되었던 본 절 분류군간의 유연관계와 근본적으로 일치하는 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업의 연구비 지원(과제 번호 052-041-026)으로 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- Álvarez, I. and J. F. Wendel. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29: 417-434.
- Bailey, C. D., T. G. Carr, S. A. Harris, and C. E. Hughes. 2003. Characterization of angiosperm nrDNA polymorphism, paralogy, and pseudogenes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29: 435-455.
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the Compositae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 1: 3-16.
- Baldwin, B. G., M. J. Sanderson, J. M. Porter, M. F. Wojciechowski, C. S. Campbell, and M. J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence of angiosperm phylogeny. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 247-277.
- Chou, Q., M. Russel, D. E. Birch, J. Raymond, and W. Bloch. 1992. Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications. *Nucl. Acids. Res.* 20: 1717-1723.
- Chung, T. H. 1965. Illustrated Encyclopedia of Funa and Fora of Korea. Vol. 5. Tracheophyta. Ministry of Education, Korea.
- Danser, B. H. 1926. Die Polygonaceen Niederlaendisch-Ostindiens. *Bull. Jard. Bot. Buitenzorg, sér. 3.* 8: 117-261.
- Graham, S. A. and C. E. Wood, Jr. 1965. The genera of Polygonaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor.* 46: 91-121.
- Hara, H. 1966. Taxonomic comparison between corresponding taxa of spermatophyta in eastern Himalaya and Japan. *in The Flora of Eastern Himalaya.* Hara, H. (ed.), University of Tokyo, Japan. Pp. 627-657.
- Ito, I. 1956. Notes on *Persicaria erecto-minor* group of Japan. *J. Jap. Bot.* 31: 170-178.
- Kim, K.-J. and R. K. Jansen. 1994. Comparisons of phylogenetic hypotheses among different data sets in dwarf dandelions (*Krigia*, Asteraceae): Additional

- information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 190: 157-185.
- Kimura, M. 1980. A simple method form estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Molec. Evol.* 16: 111-120.
- Komarov, V. L. 1936. *Polygonum*. In *Flora of the U.S.S.R.* Vol. 5. Komarov, V. L. (ed.), Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad. Pp. 594-701.
- Laubengayer, R. A. 1937. Studies in the anatomy and morphology of the Polygonaceous flower. *Amer. J. Bot.* 24: 329-343.
- Lee, T. B. 1980. *Illustrated Flora of Korea*. Hyangmunsa, Seoul.
- Lee, W. T. 1996. *Lineamenta Florae Koreae* (in 2 parts). Academy, Seoul.
- Lee, Y. N. 1996. *Flora of Korea*. Kyo-Hak Publ. Co., Seoul.
- Loureiro, J. D. 1790. *Flora cochinchinensis*. Vol. 1.
- Makino, T. 1914. Observations on the Flora of Japan. *Bot. Mag. (Tokyo)* 28: 105-130.
- Meisner, C. F. 1856. Polygonaceae. In *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. A. de Candolle (ed.). 14: 1-186, 693-695.
- Miller, P. 1754. *The Gardeners Dictionary*. ed. 4. London.
- Möller, M. and Q. C. B. Cronk. 1997. Origin and relationships of *Saintpaulia* (Gesneriaceae) based on ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Amer. J. Bot.* 84: 956-965.
- Nakai, T. 1909. Polygonaceae of Japan, *Bot. Mag. (Tokyo)* 23: 367-397.
- _____. 1919. Notulae ad plantas Japoniae et Coreae XIX. *Bot. Mag. (Tokyo)* 33: 1-11.
- _____. 1926. A new classification of Linnaean *Polygonum*. *Sci. World (Japan)* 24: 289-301.
- _____. 1929. Notulae and plantas Japoniae & Koreae XXXVII. *Bot. Mag. (Tokyo)* 43: 439-459.
- Ohwi, J. 1984. *Flora of Japan*. Smithsonian Institute, Washington.
- Park, M.-K. 1974. *Keys to the Herbaceous Plants in Korea (Dicotyledoneae)*. Chunggeumsa, Seoul.
- Ronse Decraene, L.-P. and J. R. Akeroyd. 1988. Generic limits in *Polygonum* and related genera (Polygonaceae) on the basis of floral characters. *Bot. J. Linn. Soc.* 98: 21-371.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for

- reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Sang, T., D. J. Crawford., S.-C. Kim, and T. F. Stuessy. 1994. Radiation of the endemic genus *Dendroseris* (Asteraceae) on the Juan Fernandez Islands: Evidence from sequences of the ITS regions of nuclear ribosomal DNA. *Amer. J. Bot.* 81: 1494-1501.
- _____, D. J. Crawford., T. F. Stuessy, and M. O. Silva. 1995. ITS sequences and the phylogeny of the genus *Robinsonia* (Asteraceae). *Syst. Bot.* 20: 55-64.
- Small, J. K. 1933. *Manual of the Southeastern Flora*. University of North Carolina Press, New York.
- Steward, A. N. 1930. The Polygoneae of eastern Asia. *Contr. Gray Herb.* 5(88): 1-129.
- Suh, Y., L. B. Thien, H. E. Reeve, and E. A. Zimmer. 1993. Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA in Winteraceae. *Amer. J. Bot.* 80: 1042-1055.
- _____, S. Kim, and C.-W. Park. 1997. A phylogenetic study of *Polygonum* sect. *Tovara* (Polygonaceae) based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *J. Plant Biol.* 40: 47-52.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, and D. G. Higgins. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 25: 4876-4882.
- Timson, J. 1965. A Study of hybridization in *Polygonum* section *Persicaria*. *J. Linn. Soc. Bot.* 59: 155-161.
- White, T. J., T. Birns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, New York. Pp. 315-322.
- Winship, P. R. 1989. An improved method for directly sequencing PCR amplified material using dimethyl sulphoxide. *Nucl. Acids Res.* 17: 1266.

Variation of nuclear ribosomal ITS sequences of *Polygonum* section *Persicaria* (Polygonaceae) in Korea

Myounghai Kwak**, Min-Ha Kim, Hyosig Won, and Chong-Wook Park*

School of Biological Sciences, College of Natural Sciences, Seoul National University,
Seoul 151-742, Korea

We examined nrDNA ITS sequences from 16 taxa of *Polygonum* sect. *Persicaria* (Polygonaceae) in Korea to infer relationships among the taxa within the section. A neighbor-joining tree obtained from the analysis of the ITS sequences suggest that the ITS region was useful in inferring the phylogenetic relationships among the taxa. The neighbor-joining tree indicates that *P. amphibium* is clearly separated from the other Korean taxa. The tree also reveals the presence of five major groups in the Korean taxa of the section; 1) *P. lapathifolium* var. *lapathifolium*, 2) *P. persicaria* and *P. viscoferum*, 3) *P. orientale* and *P. viscosum*, 4) *P. japonicum*, and 5) a group including the remaining taxa. These relationships depicted on the ITS tree are largely congruent with those inferred from morphological and anatomical characters.

Key words: *Polygonum* sect. *Persicaria*, nuclear ribosomal ITS, phylogenetic relationship

*Corresponding author: Phone +82-2-880-6681, FAX +82-2-888-6276, parkc@plaza.snu.ac.kr

**Current address: Department of Plant Science, University of California, Davis, CA 95616, USA