

ITS 염기서열에 의한 한국산 쥐손이풀속(*Geranium*)의 계통학적 연구

우정현 · 박선주*

영남대학교 이과대학 생물학과

한국산 *Geranium*(쥐손이풀속) 16분류군과 3개의 군외군을 대상으로 진화와 유연관계를 평가하기 위하여 nuclear ribosomal DNA 중 internal transcribed spacer (ITS) 구간에 대한 계통 분류학적 분석을 수행하였다. 계통 분류학적 연구들은 bootstrapping, jackknifing을 포함한 parsimony 방법과 neighbor-joining 방법을 사용하였다. 그 결과 한국산 쥐손이풀속은 단계통군을 형성하였다. Parsimony tree에서 한라이질풀은 가장 기부에 위치하였으며 *Erianthum* group은 높은 지지도에 의해 하나의 분계조를 형성하였다(100% bootstrap과 jackknife values). *Krameri* group인 산쥐손이는 *Palustre* group인 섬쥐손이와 가까이 위치하였으나 그 지지도는 매우 낮았고(37% bootstrap과 44% jackknife values) strict tree에서는 clade가 붕괴되었다. *Wilfordii* group에 분류되었던 큰세잎쥐손이는 *Koreanum* group과 가까이 위치하였고, *Sibiricum* group인 쥐손이풀은 *Krameri* group인 삼쥐손이와 가까이 위치하였으며 또한 이 두 종은 역시 *Krameri* group인 선이질풀과 자매군을 이루었다. *Wilfordii* group인 줄쥐손이와 세잎쥐손이는 *Sibiricum* group인 산이질풀, 이질풀과 가까이 위치하였다. 이와 같은 결과는 많은 학자들에 의해 논란이 된 분류군들의 문제를 해결하는데 유용한 접근방법이라 생각되며, 전체 쥐손이풀속 수준에서의 계통분석에 유용한 도구로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

주요어 : 쥐손이풀속, ITS, 분자계통, nrDNA

쥐손이풀속(*Geranium*)은 쥐손이풀과(Geraniaceae), 쥐손이풀족(Geranieae)에 속하는 식물로 (Boissier, 1867), 특히 북반구 온대지역 및 열대의 고산지역을 중심으로 300여종이 널리 분포하고 있으며(Lawrence, 1951; Hutchison, 1909; Willis, 1973), 일부 분류군은 관상용과 약용의 가치가 높아 많은 연구의 대상이 되었다(Thomas, 1960; Forty, 1980; Crann, 1982).

한국산 쥐손이풀속에 관한 연구로는 Palibin(1898)이 *G. dahuricum* 1종을 기록한 것을 시작으로, Komarov가 1901년에 12종을 보고하였고, Mori (1921)는 일부 학명을 정리하여 13종, 4변종을 기재하였으며 정 등(1949)은 11종, 4변종을 정리하였다. Nakai는 1952년에 한국산 쥐

*교신저자: 전화: +82-53-810-2377, 전송: +82-53-810-4618, sjpark01@ynu.ac.kr
접수: 2006년 3월 22일, 완료: 2006년 6월 10일

Table 1. Taxonomic dispositions of Korean *Geranium* by previous authors.

Yeo (2001)	Park and Kim (1997)
Genus <i>Geranium</i> 쥐손이풀속	Genus <i>Geranium</i> 쥐손이풀속
Subgenus <i>Geranium</i> 쥐손이풀아속	Subgenus <i>Geranium</i> 쥐손이풀아속
Section <i>Geranium</i> 쥐손이풀절	Section <i>Geranium</i> 쥐손이풀절
The <i>Palustre</i> Group	The <i>Palustre</i> Group
<i>G. shikokianum</i> var. <i>quelpartense</i> 섬쥐손이	<i>G. shikokianum</i> var. <i>quelpaertense</i> 섬쥐손이
<i>G. koreanum</i> 둥근이질풀	
<i>G. koreanum</i> var. <i>hirsutum</i> 털둥근이질풀	
The <i>Krameri</i> Group	The <i>Krameri</i> Group
<i>G. soboliferum</i> 삼쥐손이	<i>G. soboliferum</i> 삼쥐손이
<i>G. krameri</i> 선이질풀	<i>G. krameri</i> 선이질풀
<i>G. dahuricum</i> 산쥐손이	<i>G. dahuricum</i> 산쥐손이
The <i>Sibiricum</i> Group	The <i>Sibiricum</i> Group
<i>G. nepalense</i> 산이질풀	<i>G. nepalense</i> 산이질풀
<i>G. sibiricum</i> 쥐손이풀	<i>G. sibiricum</i> 쥐손이풀
<i>G. thunbergii</i> 이질풀	<i>G. thunbergii</i> 이질풀
<i>G. wilfordii</i> 세잎쥐손이	
	The <i>Wilfordii</i> Group
	<i>G. wilfordii</i> 세잎쥐손이
	<i>G. tripartitum</i> 줌쥐손이
	<i>G. knuthii</i> 큰세잎쥐손이
	The <i>Erianthum</i> Group
	<i>G. eriostemon</i> 털쥐손이
	The <i>Koreanum</i> Group
	<i>G. taebaek</i> 태백이질풀
	<i>G. koreanum</i> 둥근이질풀
	<i>G. koreanum</i> var. <i>hirsutum</i> 털둥근이질풀

손이풀속을 10종 9변종으로 정리하였고 정(1965)은 7종, 6변종으로 기재하였으며 박(1974)은 7종, 5변종을, 오(1980)는 16종, 8변종, 6품종을, 이(1983)는 6종, 4변종을, 그리고 이(2003)는 13종, 5변종, 1아종을 각각 향명집 또는 식물지나 도감에 단순한 종 열거식으로 기재하였다.

한편 분류체계는 Park and Kim(1997), Yeo(2001) 등에 의해 연구되었는데(Table 1), Yeo의 분류체계에는 한국산 쥐손이풀속에 속하는 많은 분류군이 다루어지지 않았다. Park and Kim(1997)은 한국산 쥐손이풀속을 다음과 같이 6개의 group으로 분류하였다. *Erianthum* group은 다년생이며 식물체의 높이가 12 cm 이상으로 산형화서를 이루고, *Sibiricum* group은 화서가 0~2개로 산생하며 화판이 8 mm 를 넘지 않고 잎의 열편이 5개로 갈라지며, *Koreanum* group은 화판이 8 mm 를 넘고 소화경에 선모가 없으며 탁엽이 합생하는 특징을 가지고 있다. 또한 *Wilfordii* group은 탁엽이 이생하며 암술연결부의 길이가 1.5 mm 이하이고, *Krameri* group은 화판의 기부에 털이 있고 암술연결부의 길이가 1.5 mm 이하이며, *Palustre* group은 화판의 기부에 털이 없는 특징을 가지고 있다. 이상과 같은 Park and Kim(1997)의 분류체계는 표본재료를 대상으로 외부형태학적 분류형질을 재검토하고, 생체재료를 이용한 해부학적 방법과 화학학적 형질을 이용한 체계이다.

한국산 쥐손이풀속에 대한 연구는 외부형태나 해부학, 화학학적 형질 위주로 연구되었으나 속 이하의 분류군들은 분포지역에 따라 영양기관과 생식기관에서 조차 외부형태의 다형화현상이 나타나 정확한 종의 식별이 다소 힘든 분류군도 존재한다. 특히 *Erianthum* group에 속하는 *G. eriostemon* var. *megalantum*의 경우, 꽃 크기가 3.5 cm 정도 되는 형질에 의해 Nakai (1912)가 기록하였으나 동일집단 내에서 3.5 cm 이상인 것과 이하인 것이 동시에 나타나(Park and Kim, 1997) 혼돈이 있어 왔다.

본 연구에 사용된 nuclear ribosomal DNA의 internal transcribed spacer (ITS) 지역은 종간 또는 속간의 유연관계를 파악하는데 중요한 자료로 이용되어 왔으며(I. Álvarez and J. F. Wendel, 2003) 최근 Aedo *et al.*(2005)는 ITS 지역의 염기서열을 근거로 하여 쥐손이풀속 sect. *Dissecta*의 진화경향성 및 계통발생학적 유연관계를 파악하기 위하여 이용하기도 하였다. 따라서 국부적이지만 우선 한국산 쥐손이풀속에 대한 분류학적 문제점들을 검토하여, 정확한 종의 분류체계를 설정하고, 유연관계 및 진화경향성을 파악하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 total genomic DNA는 총 19분류군이다(Table 2). 이는 북한에 분포하는 분홍쥐손이(*G. maximowizii* Regel *et* Maack), 우단쥐손이(*G. vlassovianum* Fisch)와 채집을 통한 조사에서 발견하지 못한 참이질풀(*G. koraiense* Nakai), 부전쥐손이(*G. eriostemon* var. *glabrescens* Nakai), 흰털쥐손이(*G. eriostemon* var. *hyoleucum* Nakai)를 제외한 것이다. 이 중 참이질풀과 흰털쥐손이의 경우 Park and Kim(1997)의 연구에서도 발견하지 못한 분류군

Table 2. Plant materials used for this study. Vouchers are deposited at YNUH (Yeungnam University), SNUH (Seoul national University), SHM (The Shanghai Museum of Natural History) or SKKH (Sungkyunkwan University).

Taxon	Voucher	Locality	GenBank accession
Genus <i>Geranium</i> 쥐손이풀속			
Subgenus <i>Geranium</i> 쥐손이풀아속			
Section <i>Geranium</i> 쥐손이풀절			
The <i>Palustre</i> Group			
<i>G. shikokianum</i> var. <i>quelpaertense</i> 섬쥐손이	J. Woo 2040855 (YNUH)	Jeju Island, Mt. Halla	DQ192629
The <i>Krameri</i> Group			
<i>G. dahuricum</i> 산쥐손이	J. Woo 2040801 (YNUH)	Kyongsangnam-do, Mt. Gaya	DQ192625
<i>G. krameri</i> 선이질풀	H. Cha 73483 (SNUH)	Gyeonggi-do, Mt. Soyo	DQ192627
<i>G. soboliferum</i> 삼쥐손이	K. Huh et al. 28147 (SKKH)	Kangwon-do, Mt. Odae	DQ192626
The <i>Sibiricum</i> Group			
<i>G. nepalense</i> 산이질풀	J. Woo 2040558 (YNUH)	Kyongsangbuk-do, Mt. Ga	DQ192632
<i>G. sibiricum</i> 쥐손이풀	J. Woo 2040501 (YNUH)	Kyongsangbuk-do, Mt. Ga	DQ192634
<i>G. thunbergii</i> 이질풀	J. Woo 2040706 (YNUH)	Kyongsangbuk-do, Kyongsan	DQ192638
<i>G. nepalense</i> f. <i>palidum</i> 흰이질풀	J. Woo 2040811 (YNUH)	Kyongsangnam-do, Mt. Gaya	DQ192637
The <i>Erianthum</i> Group			
<i>G. eriostemon</i> 털쥐손이	J. Woo 2040529 (YNUH)	Kyongsangbuk-do, Mt. Ga	DQ192633
<i>G. eriostemon</i> var. <i>magalanthum</i> 꽃쥐손이	J. Woo 2050603 (YNUH)	Chollapuk-do, Mt. Deogyu	DQ192636
The <i>Koreanum</i> Group			
<i>G. koreanum</i> 둥근이질풀	J. Woo 2040908 (YNUH)	Daegu, Mt. Palgong	DQ192635
<i>G. koreanum</i> var. <i>hirsutum</i> 털둥근이질풀	J. Woo 2040715 (YNUH)	Kangwon-do, Hyangrhobong	DQ192630
The <i>Wilfordii</i> Group			
<i>G. wilfordii</i> 세잎쥐손이	J. Woo 2040805 (YNUH)	Kyongsangnam-do, Mt. Gaya	DQ192623
<i>G. tripartitum</i> 좁쥐손이	J. Woo 2040857 (YNUH)	Jeju Island, Mt. Halla	DQ192624
<i>G. knuthii</i> 큰세잎쥐손이	K. Huh et al. 28207 (SKKH)	Kangwon-do, Mt. Keibang	DQ192631
The <i>Koraiense</i> Group			
<i>G. koraiense</i> var. <i>hallasanense</i> 한라이질풀	J. Woo 2040816 (YNUH)	Jeju Island, Mt. Halla	DQ192628
Genus <i>Erodium</i>			
<i>E. stephanianum</i> 국화쥐손이	04310 (SHM)	Liaoning, Dalian-shi, China	DQ345327
<i>E. ×variabile</i> 풍로초	J. Woo 2050526 (YNUH)		DQ345328
Genus <i>Pelargonium</i>			
<i>Pelargonium zonale</i> 무늬제라늄	J. Woo 2050205 (YNUH)		DQ345326

으로 현재 분포지가 매우 제한된 종이 아닌가 생각된다. 비교군으로는 쥐손이풀속의 자매군으로 같은 쥐손이풀과(Geraniaceae)의 *Pelargonium*속에 속하는 무늬제라늄(*Pelargonium zonale* L'Hér)과 *Erodium*속의 국화쥐손이(*Erodium stephanianum* Willd.)와 풍로초(*Erodium×variable* A.C.Lesic)를 선정하였다.

DNA 추출, PCR 및 염기서열

DNA 추출은 생체 혹은 건조표본을 이용하였다. 야외에서 직접 채집한 생체의 경우, 실험실로 운반하여 즉시 잎을 채취하여 엽병과 주맥을 제거시킨 후 -70°C 에서 냉동 보관하였다. 액체 질소를 이용하여 분쇄시킨 후 Sanghai-Marroof *et al.* (1984)의 방법을 수정한 Doyle and Doyle (1987)의 CTAB 방법에 따라 추출하였다. 추출된 DNA는 cesium chloride/ethidium bromide 구배법(Sambrook J. and Russell D. W., 2001)에 의해 정제하였다. 건조표본에서 절취한 표본의 경우에는 Loockerman and Jansen (1996)의 방법으로 추출하였다. ITS 지역의 증폭을 위한 Polymerase chain reaction (PCR) 반응용액의 조성은 다음과 같다. 주형 DNA 20-50 ng, 10X *Taq* polymerase reaction buffer 5 μl , 25mM의 MgCl_2 4 μl , 각 10 mM의 dNTPs 4 μl , 25 pmol의 primers 각각 0.5 μl , 1.25 unit 의 *Taq* polymerase에 total volume 이 총 50 μl 이 되도록 증류수를 조절하여 첨가하였다. 이러한 반응액을 95°C 에서 3분 동안 initial denaturation한 후 denaturation 94°C 1분, annealing 53°C 1분, extension 72°C 1분으로 구성된 반응을 30회 반복한 후 최종적으로 72°C 에서 8분 간 extension하여 수행하였다. PCR 반응액은 Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega Corporation)으로 정제하였다. 이를 통해 얻어진 DNA는 ABI PRISM BigDye Terminator 3.1TM Cycle Sequencing Kit (PE Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 결정하기 위하여 cyclic sequencing reaction 과정을 수행하였다. Cyclic sequencing reaction 과정은 Bigdye Ready Reaction mix 매뉴얼을 수정하여 정제된 PCR product 15~25 ng, BigDye Ready Reaction Mix 4 μl , 3.2 pmol의 primer를 넣고 증류수로 총 부피가 10 μl 가 되게 조절하였다. Reaction condition은 96°C 에서 30초 간 denaturation을 수행한 후 annealing을 위해서 50°C 에서 15초 동안 반응을 시키고 extension은 60°C 에서 4분 간 수행하는 반응을 25회 반복하였다. Sequencing reaction 과정 수행 후 DNA를 침전시키기 위하여 원심분리기를 사용하였는데, 먼저 95%와 70% EtOH를 사용하여 차례로 정제한 후 90°C heat block에서 침전 및 건조를 시켰다. PCR과 염기서열 결정에는 White *et al.* (1990)에 의해 제작된 primer ITS 1, ITS 2, ITS 3, ITS 4, ITS 5를 사용하였다. 염기서열 분석은 automatic sequencer (ABI PRISM 3100)을 이용하였다.

염기서열의 정렬 및 계통수 분석

Forward와 reverse 방향의 각 염기서열들은 Sequencher 프로그램(Gene Code, USA)으로 조합하였고, MacClade 4.0 (Sinauer Associates, Inc.)을 사용하여 저장한 후 Clustal X (Thompson *et al.*, 1997)로 정렬하였으며, 다시 MacClade를 이용한 수작업을 거쳐 최종 정렬

하였다. 정렬 결과 발생한 gap은 missing data로 처리하였다. 정렬된 염기서열은 PAUP 4.0b (Swofford, 2002)으로 parsimony analysis를 하였으며, 분석방법으로는 Heuristic search를 이용하였다. Heuristic search의 option으로는 ACCTRAN, MULPARS, 그리고 TBR을 이용하였다. 또한 각 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 Bootstrap (Felsenstain, 1985)과 Jackknife (Farris *et al.*, 1996)을 이용하였다. 이러한 분석방법은 무작위로 1000회를 반복하였으며 이를 통해 계통수를 찾아내었다. Two-parameter methods(Kimura, 1980)로 계산된 염기변이 값을 기초로 하여 neighbor-joining tree(NJ)를 산출하였다(Saitou and Nei, 1987; Farris *et al.*, 1996).

결 과

염기서열의 변이

정렬한 19개의 ITS 염기서열은 5.8S 지역을 포함하여 총 645-647 bp로 ITS 1은 228-229 bp, ITS 2와 5.8S는 각각 229-230 bp, 164 bp로 거의 차이가 없었다. 모든 종에서 ITS 1과 ITS 2의 길이는 비슷하였으며, ITS 1이 가장 긴 종은 큰세잎쥐손이와 좁쥐손이었다. Ingroup에서의 ITS 1의 길이는 큰세잎쥐손이와 좁쥐손이를 제외한 모든 종이 228 bp로 동일하였다. ITS 2는 한라이질풀을 제외한 모든 종이 230 bp로 동일하였다. 총 염기의 길이가 가장 긴 종은 큰세잎쥐손이와 좁쥐손이로 총 647 bp의 염기를 가지고 있었다. Ingroup 중 가장 염기서열이 짧은 종은 산쥐손이, 꽃쥐손이, 한라이질풀로 총 645 bp의 염기를 가지고 있었다(Table 3). 정렬된 염기서열 651 position 중 454개의 염기는 변화가 없었고 나머지 197개의 염기는 변화가 있었다. 변화를 가지는 염기서열들 중 informative character는 127개였다. 전체분류군의 염기조성은 평균 A가 19.7%, G가 30.9%, C가 31.1%, T가 18.4%였고, G+C의 염기조성은 61.1-62.5%로 평균 62.0%를 나타내었다(Table 3). 전체 분류군의 염기변이는 평균 5.74%이었고 총 3분류군인 outgroup의 염기변이는 1.12-26.99%, 총 16분류군인 ingroup에서의 염기변이는 0-4.65%로 나타났다. Group 별 염기변이는 *Koreanum* group (2종)이 0.47%, *Krameri* group (3종)이 0.94-2.53%, *Sibiricum* group (4종)이 0-2.69%, *Erianthum* group (2종)이 0%, *Wilfordii* group (3종)이 1.57-3.02%로 나타났다. 정렬된 모든 염기서열 중 삽입 혹은 결실(indel) 돌연변이는 36부위에서 나타났으며 그 크기는 1-5 bp로 비교적 작았다. 이 중 ingroup 내에서 발생한 indel은 모두 1 bp였다.

계통학적 분석

Branch-swapping 방법으로 TBR을 이용하는 heuristic search를 PAUP 프로그램으로 수행하여 294 steps를 가지는 22개의 equally parsimonious trees를 얻었다. 이때의 CI (Consistency Index)는 0.871, RI (Retention Index)는 0.847, RC (Rescaled Consistency

Table 3. Size and G+C% of ITS 1, 2 and 5.8S of *Geranium*.

Taxon	ITS 1		5.8 S		ITS 2	
	length (bp)	G+C %	length (bp)	G+C %	length (bp)	G+C %
<i>Geranium eriostemon</i> Fisch. 털쥐손이	228	64.5	164	54.9	230	64.8
<i>Geranium eriostemon</i> var. <i>megalanthum</i> Nakai 꽃쥐손이	228	64.5	164	54.9	230	64.8
<i>Geranium soboliferum</i> Kom. 삼쥐손이	228	63.6	164	54.9	230	63.5
<i>Geranium krameri</i> Fr. et Sav. 선이질풀	228	63.6	164	54.9	230	65.2
<i>Geranium dahuricum</i> DC. 산쥐손이	228	64.1	164	54.9	230	65.7
<i>Geranium shikokianum</i> var. <i>quelpaertense</i> Nakai 섬쥐손이	228	64.1	164	54.9	230	64.8
<i>Geranium koraiense</i> var. <i>hallasanense</i> B. Woo et S. Park 한라이질풀	228	63.6	164	54.9	229	64.2
<i>Geranium koreanum</i> Kom. 둥근이질풀	228	64.5	164	54.9	230	64.8
<i>Geranium koreanum</i> var. <i>hirsutum</i> Nakai 털둥근이질풀	228	64.1	164	54.9	230	65.2
<i>Geranium sibiricum</i> L. 쥐손이풀	228	62.3	164	54.9	230	63.5
<i>Geranium nepalense</i> Sweet 산이질풀	228	62.3	164	54.9	230	64.3
<i>Geranium thunbergii</i> Sieb. et Zucc. 이질풀	228	62.7	164	54.9	230	64.3
<i>Geranium thunbergii</i> f. <i>pallidum</i> Nakai 흰이질풀	228	62.3	164	54.9	230	64.3
<i>Geranium wilfordii</i> Maxim. 세잎쥐손이	228	62.7	164	54.9	230	64.8
<i>Geranium knuthii</i> Nakai 큰세잎쥐손이	229	64.2	164	54.9	231	65.2
<i>Geranium tripartitum</i> R. Knuth 좁쥐손이	229	62.4	164	54.9	230	64.3
<i>Erodium stephanianum</i> Rilld. 국화쥐손이	213	69.5	164	54.9	230	68.4
<i>Erodium</i> x <i>variabile</i> A. C. Lesic 풍로초	213	69.5	164	54.9	232	67.7
<i>Pelargonium zonale</i> L'Hér. 무늬제라늄	223	61.4	164	54.9	247	66.0

index)는 0.737이었으며 g1 value는 -3.9414로 산출되었다.

Fig. 1은 parsimony tree 중 하나로 단계통을 형성하고 있다. 한국산 쥐손이풀속은 형태형질을 근거로 크게 6개의 group으로 나눌 수 있다(Park and Kim, 1997). 형태형질을 근거로 한 연구에서 다루어지지 않았던 *Koraiense* group을 제외한 6개의 group에 근거하여 parsimony tree의 분계조를 살펴보면, 첫 번째 분계조는 기부에 위치하는 한라이질풀이다. 한라이질풀에서 파생된 두 번째 분계조는 *Erianthum* group으로 5개의 공통파생형질로 하나의 분계조를 이루는데 이 분계조는 100% Bootstrap, 100% jackknife의 높은 지지도를 나타내고 있다. 이 group은 나머지 5개의 group과 자매군을 이룬다. 세 번째 분계조는 *Palustre* group

인 섬쥐손이풀과 *Krameri* group에 속하는 산쥐손이가 이루는 하나의 분계조이나 그 지지도는 bootstrap 37%, jackknife 44%로 상당히 낮다. 이 분계조는 *Koreanum*, *Krameri*, *Wilfordii*, *Sibiricum* group과 자매군을 이룬다. 네 번째 분계조는 *Wilfordii* group에 속하는 큰세잎쥐손이와 2개의 공통파생형질과 57% bootstrap, 73% jackknife 신뢰도로 하나의 분계조를 이루는 *Koreanum* group으로, *Koreanum* group에 속하는 분류군들은 다시 3개의 공통파생형질에 의하여 하나의 분계조를 이루며 64% bootstrap, 77% jackknife 신뢰도를 가진다. 또한 *Krameri* group 중 한 종인 삼쥐손이는 4개의 공통파생형질을 가지며 70% bootstrap, 81% jackknife의 지지도로 *Sibiricum* group 중 한 종인 쥐손이풀과 가장 가깝게 위치한다. 또한 이 두 종은 역시 *Krameri* group 중 한 종인 선이질풀과 5개의 공통파생형질을 가지고 69% bootstrap, 98% jackknife의 신뢰도로 자매군을 형성한다. 이들 3분류군이 다섯 번째 분계조이며, 마지막 여섯 번째 분계조는 큰세잎쥐손이를 제외한 *Wilfordii* group과 쥐손이풀을 제외한 *Sibiricum* group으로 이 중 큰세잎쥐손이를 제외한 *Wilfordii* group은 쥐손이풀 1종을 제외한 *Sibiricum* group과 자매군을 이룬다. 쥐손이풀을 제외한 *Sibiricum* group은 4개의 공통파생형질을 가지며 99% bootstrap, 100% jackknife의 높은 신뢰도를 가지고 쥐손이풀을 제외한 나머지 *Sibiricum* group에 속하는 분류군이 하나의 분계조로 연결되어 있다.

염기변이에 기초한 Neighbor-joining tree (NJ) 분석 결과에서 한국산 쥐손이풀속은 3개의 군외군에서부터 크게 2개의 분계조로 나뉜다(Fig. 2). 첫 번째 큰 분계조에 속하는 분류군은 *Sibiricum* group과 큰세잎쥐손이를 제외한 *Wilfordii* group, 산쥐손이를 제외한 *Krameri* group이고 나머지 큰 분계조에 속하는 분류군들은 *Koreanum*, *Palustre*, *Koraiense*, *Erianthum* group과 큰세잎쥐손이, 산쥐손이가 포함된다.

첫 번째 큰 분계조에 속하는 분류군 중 산이질풀과 흰이질풀은 67%의 신뢰도로 가장 가까운 유연관계를 나타내었고 이들은 이질풀과 유연관계가 가까웠으며 그 신뢰도는 98%로 매우 높았다. 큰세잎쥐손이를 제외한 *Wilfordii* group인 좁쥐손이와 세잎쥐손이는 각각 78%, 79%의 bootstrap value로 쥐손이풀을 제외한 *Sibiricum* group과 가장 가까운 유연관계를 나타내었다. 쥐손이풀은 *Krameri* group인 삼쥐손이와 68%의 신뢰도로 가장 가까운 유연관계를 나타내었고, 선이질풀은 이 두 분류군과 81%의 신뢰도로 가까운 유연관계를 나타내었다. 다른 큰 분계조에 속하는 분류군들 중 *Koreanum* group의 등근이질풀은 털등근이질풀과 가장 가까운 유연관계를 나타내었고 이때의 bootstrap value는 64%였다. 또한 이들 두 분류군은 *Wilfordii* group에 포함되었던 큰세잎쥐손이와 유연관계가 가까웠고 신뢰도는 비교적 낮은 50%였다. 다음으로 유연관계가 가까운 분류군은 섬쥐손이였으며 Outgroup과 가까운 유연관계를 나타내는 분류군은 *Erianthum* group에 속하는 털쥐손이와 꽃쥐손이로 이들 두 분류군은 99%의 높은 신뢰도로 하나의 분계조를 이루었다.

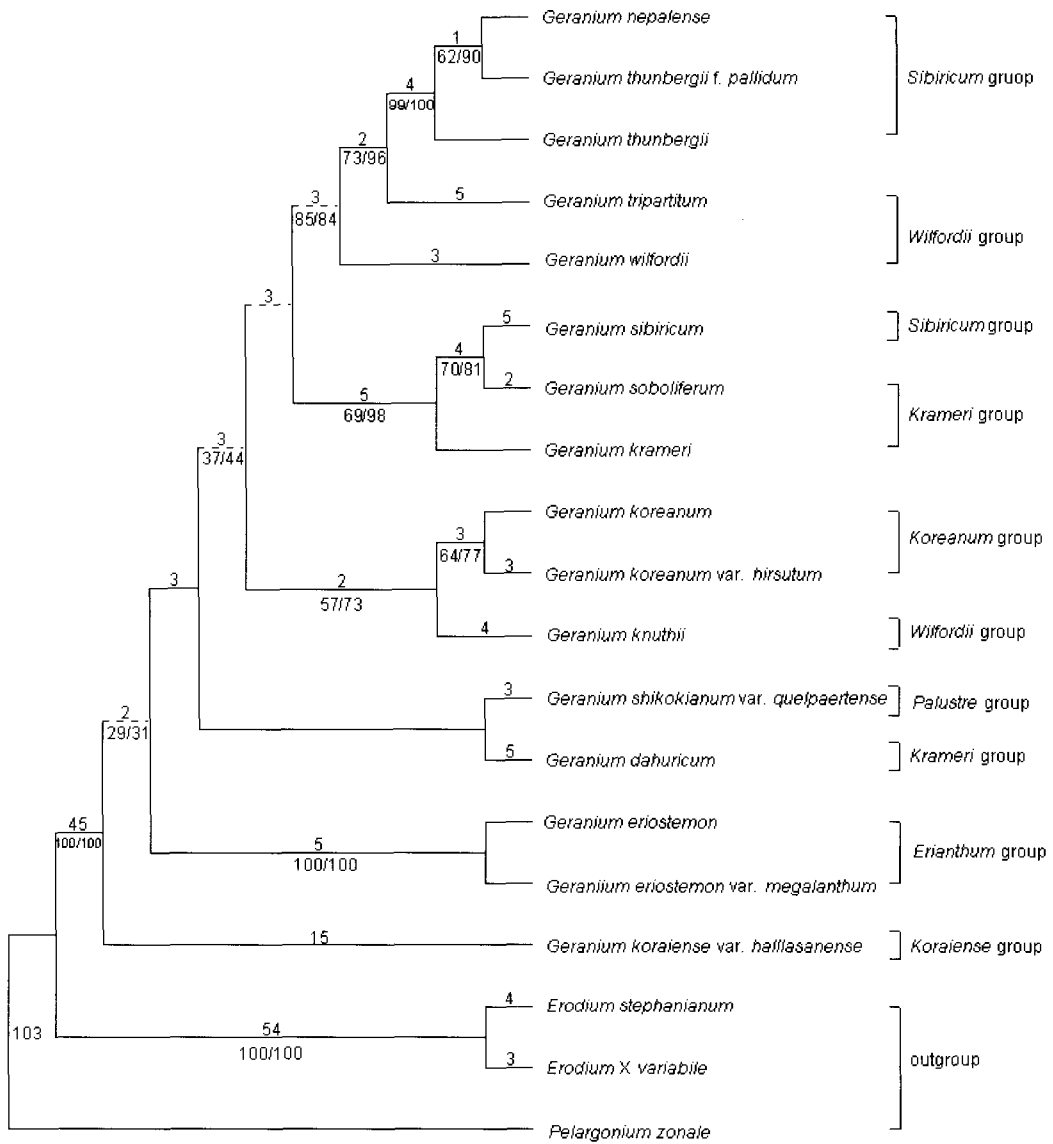


Fig. 1. One of the 22 parsimony tree (294 steps, CI = 0.871, RI = 0.847) based on 127 phylogenetically informative changes in ITS sequences of 19 taxa. The number of changes is indicated above branches and bootstrap/jackknife values are found below branches. Dashed lines indicate nodes that collapse in the strict consensus tree. Vertical bars indicate the taxonomic treatment of *Geranium* by Park and Kim (1997) except *Koraiense* group.

고 찰

ITS 염기서열의 분석을 통해 한국산 쥐손이풀속의 계통도를 얻을 수 있었다. 형태형질을 근거로 한 대표적인 쥐손이풀속의 분류는 Park and Kim(1997), Yeo(2001)의 분류체계를 들 수 있다(Table 1). Park and Kim(1997)은 6개의 group으로 나누었고 Yeo(2001)는 한국산 쥐손이풀속을 크게 3개의 group으로 나누었다. 가장 큰 차이점은 둥근이질풀인데 Park and Kim(1997)은 *Koreanum* group이라는 새로운 group으로 분류하였으나 Yeo(2001)는 섬쥐손이와 함께 *Palustre* group에 둥근이질풀을 분류하였다. 본 연구를 통해 얻은 ITS tree를 형태형질을 근거로 한 선행 연구 자료들과 비교하였다.

Sibiricum group

Park and Kim(1997)은 탁엽이 이생하며 암술연결부의 길이가 1.5 mm 이하인 특징으로 *Wilfordii* group이라는 새로운 group으로 분류하였으나 Yeo(2001)는 세잎쥐손이를 수술과 암술대가 매우 짧고 탁엽이 길게 갈라지며 화판의 길이가 10.5 mm 혹은 그 이하인 특징에 의해 *Sibiricum* group으로 분류하였다. 그러나 ITS tree에서 세잎쥐손이는 좁쥐손이와 함께 *Sibiricum* group과 자매군을 형성하여 Yeo(2001)의 분류체계 보다 Park and Kim(1997)의 분류체계와 더욱 유사한 결과를 나타내었다. 산이질풀과 흰이질풀은 독립과생형질을 하나도 가지고 있지 않았으며 염기서열에 있어서도 차이점이 없었다. 이러한 결과는 형태형질을 근거로 하여 이 두 종을 동일종으로 처리한 Park and Kim(2001)의 연구결과와 일치하는 것으로 산이질풀 중 흰색의 꽃이 피는 종은 산이질풀과 동일종일 가능성이 매우 높음을 암시하고 있다. 또한 이질풀은 선모가 없는 특징에 의해 산이질풀과 구분되는데(Park and Kim, 2001) 이 두 종은 1개의 독립과생형질을 가지며 62% Bootstrap, 90% Jackknife의 지지도로 자매군을 이루었다.

그러나 형태형질을 중심으로 한 Park and Kim(1997)과 Yeo(2001)의 연구에서 모두 *Sibiricum* group에 분류되었던 쥐손이풀은 *Sibiricum* group에 포함되지 않고 삼쥐손이와 함께 같은 분계조를 형성하였고, 5개의 공통과생형질을 가지며 69% Bootstrap, 98% Jackknife의 지지도에 의해 *Krameri* group과 가까운 양상을 보여주었다. 이는 쥐손이풀 잎의 특징과 연관 지어 생각할 수 있는데, 쥐손이풀 잎의 결각은 *Sibiricum* group에 속하는 다른 분류군들 보다 더욱 심열하여 *Krameri* group에 속하는 종들과 더 유사한 특징을 가지고 있다. 그러므로 쥐손이풀은 *Sibiricum* group으로 설정하기에는 다소 무리가 있으며 오히려 *Krameri* group으로 분류계급을 설정하는 것이 더 타당하다고 생각한다. 그러나 이러한 문제는 차후 다양한 분자 marker를 이용한 좀 더 객관적인 분류계급의 설정이 필요하다고 생각되어 본 연구에서는 쥐손이풀의 분류계급설정을 차후의 과제로 남기고자 한다.

NJ

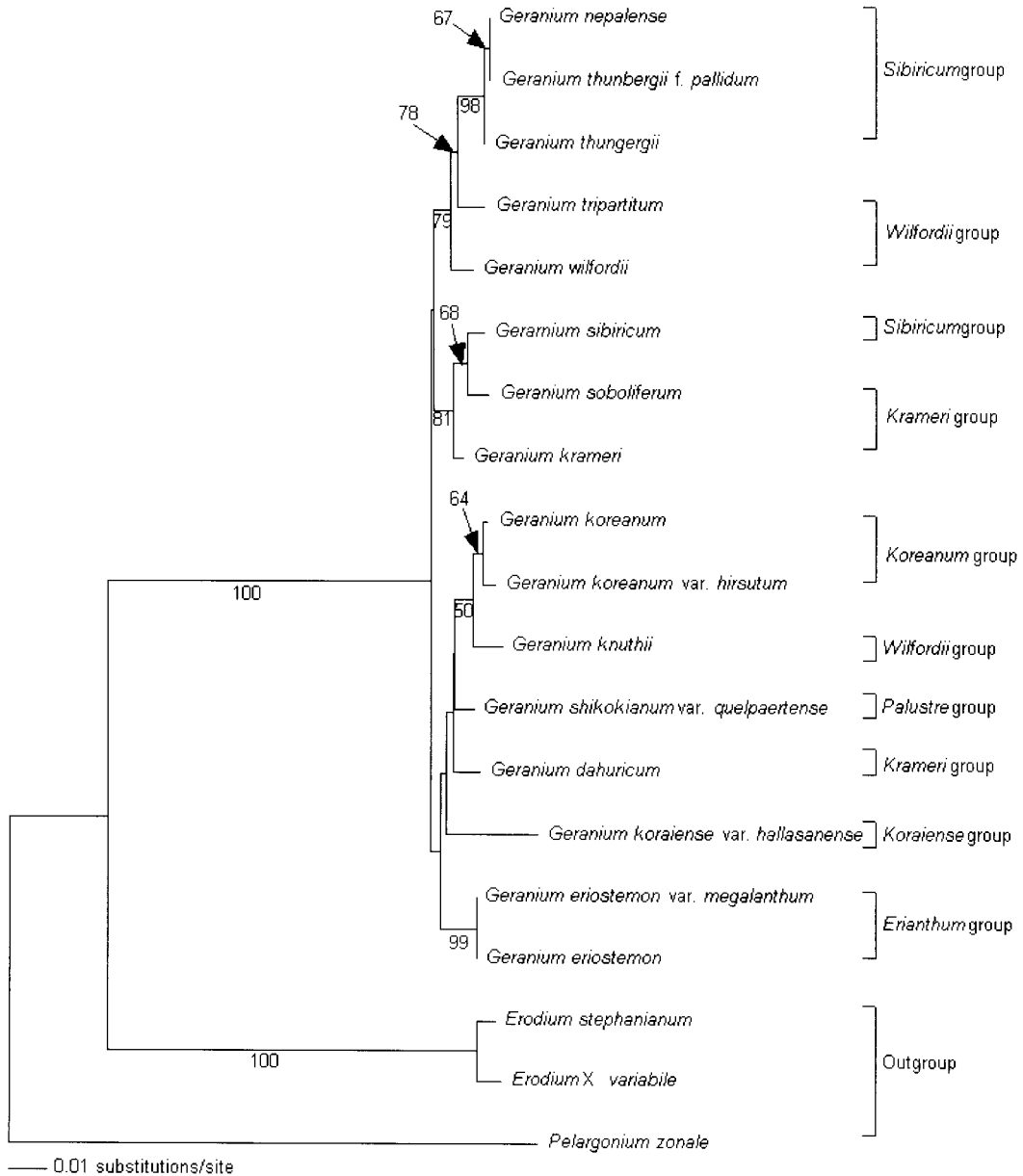


Fig. 2. Neighbor-joining (NJ) tree of ITS sequences of 19 taxa. The number of changes is indicated above or arrow pointed branches and bootstrap values are found below branches. Vertical bars indicate the taxonomic treatment of *Geranium* by Park and Kim (1997) except *Koraiense* group.

***Wilfordii* group**

Park and Kim(1997)은 *Wilfordii* group을 탁엽이 이생하며 암술연결부의 길이가 1.5 mm 이하인 특징으로 분류하였으나 이 group에 분류되어진 큰세잎쥐손이의 경우 탁엽이 합생하는 특징을 가지고 있다. ITS tree에서도 큰세잎쥐손이는 *Wilfordii* group에 분류되지 않았고, parsimony tree에서는 2개의 공통파생형질을 가지고 57% Bootstrap, 73% Jackknife의 지지도를 나타내며 *Koreanum* group에 포함되었다. 따라서 큰세잎쥐손이를 *Wilfordii* group으로 분류하기보다 화판이 8 mm 를 넘고 소화경에 선모가 없으며 탁엽이 합생하는 특징을 가지는 *Koreanum* group에 포함시키는 것이 타당하다고 사료된다.

***Krameri* group**

산쥐손이는 Park and Kim(1997), Yeo(2001)에 의해 *Krameri* group에 분류되었으나, parsimony tree에서는 3개의 공통파생형질을 가지면서 섬쥐손이와 함께 분계조를 이루었다. 이들 두 분류군은 잎 표면에 털이 거의 없고 잎의 결각은 중간 것이 가장 높으며 줄기에 하향모가 있는 특징을 공유하나 이러한 특징으로 두 분류군을 하나의 group으로 분류하는 것은 다소 무리가 따른다. Parsimony tree에서 형성하는 분계조의 지지도 또한 37% bootstrap, 44% jackknife로 매우 낮고 strict tree에서는 clade가 붕괴되었다. 한편 Park and Kim(1997), Yeo(2001)에 의해 *Krameri* group으로 분류된 산쥐손이는 앞에서 이미 언급한 것과 같이 쥐손이풀과 4개의 공통파생형질을 가지고 70% Bootstrap, 81% Jackknife의 지지도로 함께 분계조를 이루고 있으며, 또한 이 두 종은 다시 선이질풀의 자매군으로 묶이며, 이들 3종은 5개의 공통파생형질을 가지며 69% bootstrap, 98% jackknife의 신뢰도로 하나의 분계조를 이루고 있다. *Krameri* gorup 중 산쥐손이를 제외한 삼쥐손이와 선이질풀의 분류계급은 형태를 근거로 한 분류체계인 Park and Kim(1997), Yeo(2001)의 분류와 일치하였다.

***Koreanum* group**

Park and Kim(1997)은 화판이 8 mm를 넘고 소화경에 선모가 없으며 탁엽이 합생하는 특징으로 새롭게 *Koreanum* group에 분류하였으나, Yeo(2001)는 둥근이질풀과 털둥근이질풀을 화판 표면 대부분의 지역에 털이 없고 암술대가 상대적으로 꽃받침보다 짧으며 꽃의 크기에 비해 상대적으로 주두가 긴 특징에 의해 *Palustre* gorup으로 설정하였다. Parsimony tree에서 둥근이질풀과 털둥근이질풀은 서로 자매군을 형성하고 이 두 분류군은 다시 큰세잎쥐손이와 분계조를 형성하여 *Koreanum* group을 이루었다. *Palustre* group은 큰세잎쥐손이가 포함된 *Koreanum* group과 가까운 유연관계를 나타내었으나 그 신뢰도는 매우 높은 편이 아니고 clade도 붕괴되었다. 따라서 본 ITS 연구결과 둥근이질풀과 털둥근이질풀은 Yeo(2001)가 설정한 *Palustre* group 보다는 Park and Kim(1997)이 설정한 *Koreanum* group이 더 타당하다고 생각되나 clade가 붕괴되었으므로 더 많은 표본 확보를 통한 자세한 연구가 필요하다고 생각한다.

***Palustre* group**

Park and Kim(1997)은 섬쥐손이 한 분류군만을 본 group으로 분류하였으나, Yeo(2001)는 한국산 쥐손이풀속에 속하는 분류군 중 섬쥐손이, 둥근이질풀, 털둥근이질풀을 본 group으로 분류하였다. Parsimony tree에서 *Krameri* group에 속하는 산쥐손이와 *Palustre* group에 속하는 섬쥐손이는 하나의 분계조를 이루나 그 신뢰도는 매우 낮고 strict tree에서는 clade가 붕괴되었다. 따라서 Yeo(2001)가 설정한 *Palustre* group 중 둥근이질풀과 털둥근이질풀을 *Koreanum* group으로 설정하고 나머지 한 종인 섬쥐손이만 *Palustre* group으로 설정한 Park and Kim(1997)의 견해가 타당한 것으로 생각되며, 섬쥐손이는 산쥐손이와 잎 표면의 털, 잎의 결각, 줄기 하향모의 방향에 의해 가까운 분계조를 형성하였다고 생각된다. 그러므로 이들 두 종은 *Palustre* group과 하나의 분계조를 이루나 *Koreanum* group과 마찬가지로 clade의 붕괴로 인해 더욱 정확한 유연관계를 알기 위해서는 더 많은 종과 표본을 추가한 연구가 수행되어야 할 것이다.

***Erianthum* group**

꽃쥐손이와 털쥐손이는 5개의 공통파생형질을 가지고 100% bootstrap, 100% jackknife의 매우 높은 신뢰도로 하나의 분계조를 이룬다. 그러나 이 두 종의 형태적 차이점은 꽃의 크기에 있으나 ITS tree에서는 독립파생형질이 하나도 없으며 염기의 차이도 하나의 삽입(insertion) 돌연변이를 제외하고는 없었다. 따라서 이 두 종은 동일종일 가능성이 매우 높으며 이러한 결과는 두 종을 동일종으로 처리한 Park and Kim(1997)의 연구결과와도 일치한다.

***Koraiense* group**

한라이질풀은 참이질풀(*G. koraiense*)의 변종으로 참이질풀은 *Koreanum* group에 속해 있다(Park and Kim, 2002). Parsimony tree에서 참이질풀의 변종인 한라이질풀은 다른 group에 속해 있는 어떠한 종들과도 분계조를 이루지 않고 15개의 독립파생형질을 가지며 독립된 분계조를 형성함으로써 독립된 group의 가능성을 나타내고 있다. 그러나 strict tree에서는 clade가 붕괴되었고 원종인 참이질풀이 본 연구 수행에 포함되지 못했으므로 한라이질풀을 새로운 group인 *Koraiense* group으로 설정하는 것은 다양한 marker를 통한 연구가 수반되어야 한다고 생각된다.

유연관계 및 진화경향성

유연관계를 나타내 주는 NJ tree에서는 parsimony tree에서 가장 기부에 위치했던 한라이질풀이 *Erianthum* group보다 산쥐손이나 섬쥐손이와 더 가까운 유연관계를 나타내었다. 이는 *Erianthum* group에 속하는 분류군들이 분포지와 개화시기 등에서 다른 한국산 쥐손이풀속의 분류군들과 이질적인 특징을 가지고 있기 때문이라고 생각한다.

NJ tree의 세부적인 계통도는 parsimony tree와 동일하나, parsimony tree와 다르게 NJ tree는 크게 두 개의 분계조로 나누어진다. 이는 꽃의 형질에서 그 원인을 찾을 수 있다. 첫

번째 큰 분계조에 속하는 분류군은 삼쥐손이와 선이질풀을 제외하고 모두 지름이 1.5 cm 이하인 꽃을 가지며 두 번째 큰 분계조는 모든 분류군들은 지름이 2~3 cm인 꽃을 가진다.

화관의 색에서만 차이를 보이는 산이질풀과 흰이질풀은 67%의 신뢰도로 가장 가까운 유연관계를 나타내었고 이들은 이질풀과 98%의 신뢰도로 가까운 자매군을 형성하였다. 이질풀과 산이질풀은 형태적으로 유사하나 꽃받침, 암술 비후부, 분과의 선모 존재 유무 등의 차이를 가지고 있다. 큰세잎쥐손이를 제외한 *Wilfordii* group은, 쥐손이풀을 제외한 *Sibiricum* group과 79%의 bootstrap value로 가장 가까운 유연관계를 나타내었다. 쥐손이풀은 *Krameri* group인 삼쥐손이, 선이질풀과 각각 68%, 81%의 신뢰도로 가까운 유연관계를 나타내었으며 앞의 결과 역시 *Sibiricum* group 보다 *Krameri* group의 분류군과 더욱 유사한 양상을 나타낸다.

Koreanum group의 둥근이질풀은 소화경에 존재하는 털의 유무에 의해 변종으로 구분한 털둥근이질풀과 64% bootstrap value로 가장 가까운 유연관계를 나타내었고 이들 두 분류군은 *Wilfordii* group에 포함되었던 큰세잎쥐손이와 유연관계가 가까웠으며 그 신뢰도는 50%로 비교적 낮았다. 큰세잎쥐손이는 탁엽의 형태가 합생하여 *Koreanum* group에 속하는 분류군들과 동일한 형태의 탁엽을 가지고 있다. 다음으로 유연관계가 가까운 분류군은 섬쥐손이로 역시 합생하는 탁엽을 가지고 있다.

ITS 자료를 근거로 하여 다루어진 한국산 쥐손이풀속 16 분류군들은 참이질풀의 변종인 한라이질풀이 parsimony tree의 가장 기부에 위치하고 있으므로 참이질풀에서 파생되었을 가능성을 추측할 수 있으나 NJ tree에서는 그렇지 않으므로 기본종을 포함한 연구가 수행되어야 할 것이다. NJ tree에서 가장 기부에 위치하고 parsimony tree에서는 한라이질풀 다음으로 분화된 *Erianthum* group은 한국산 쥐손이풀속에 속한 나머지 종들에 비해 독특한 생태적 특징을 나타낸다. 분포지도 제한되어 있을 뿐 아니라 개화시기 역시 4월에서 5월로 나머지 종들에 비해 훨씬 빨랐다. 다음으로 분화된 분류군은 *Palustre* group과 산쥐손이로 모두 고산지역에 자생한다. 우리나라에 자생하고 있는 *Palustre* group은 섬쥐손이(*G. shikokianum* var. *quelpaertense*) 1종으로 분포지는 제주도 고산지역으로 제한되어 있으며 기본종(*G. shikokianum*)은 일본 남쪽지방에 자생한다. 다음으로 분화된 group은 큰세잎쥐손이를 포함한 *Koreanum* group으로 우리나라 전국에 걸쳐 분포하지만 역시 고산지역에 자생한다. 이상의 분류군들은 모두 꽃의 지름이 2~3 cm인 특징을 가진다. 그러나 clade가 붕괴되었으므로 정확한 진화경향성을 위해서는 더 많은 표본 확보와 유용한 marker를 통한 연구가 수행되어야 할 것이다. *Koreanum* group에서 분화된 group은 쥐손이풀을 포함한 *Krameri* group과 *Wilfordii*, *Sibiricum* group인데 이중 *Krameri* group은 고산지역에 자생하여 *Koreanum* group과 동일한 생태적 특징을 가지고 있는데 반해 *Wilfordii* group은 중저지역에 분포한다. 분포지가 가장 넓고 흔하게 서식하는 *Sibiricum* group의 이질풀과 산이질풀이 가장 마지막에 분화된 group으로 보이며 가장 최근에 분화된 것으로 추정되는 *Wilfordii* group과 *Sibiricum* group은 꽃의 지름이 1.5cm 이하인 특징을 가진다. 또한 한국산 쥐손이풀속에서 조사된 transition은 272-276 였고 transversions은 250-254으로 그 비율이 비슷하였다. 더욱 정확한

한국산 쥐손이풀속의 유연관계를 알아보기 위해서는, 참이질풀 뿐만 아니라 북한에 분포하고 있는 종들을 포함한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구수행에 도움을 준 영남대학교 생물학과 식물분자계통학연구실 연구조교인 박성준, 황규진 학생에게 고마움을 전합니다. 이 논문은 2003학년도 영남대학교 학술연구조성비 지원에 의한 것임.

인 용 문 헌

- Aedo C., Fiz O., Alarcón L. M., Navarro C., Aldasoro J. J. 2005. Taxonomic revision of *Geranium* sect. *Dissecta* (Geraniaceae). Systematic botany. 30(3): 533-558.
- Boissier, E. 1867. Flora Orientalis 2. Georg Basle, Berlin.
- Crann, M. 1982. *Geranium* traversii-hybrids and cultivars Geranium Group. New Harogate 6: 3-4.
- Doyle, J. J. and J. A. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. Bot. Soc. Amer. 19: 11-15.
- Farris J. S., Albert V. A., Källersjo M., Lipscomb D. and Kluge A. G. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighborjoining. Cladistics. 12: 99-124.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies : an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791
- Forty, J. 1980. A Survey of Hardy *Geraniums* in Cultivation. The Plantsman, London. 2: 67-68.
- Hutchison, J. 1909. The Families of Flowering Plants I. Dicotyledons. McMillan and Co. Ltd, London. Pp. 494-496.
- I. Álvarez and J. F. Wendel. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. Molec. Phylogenet. Evol. 29: 417-434.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16: 111-120.
- Komarov, V. L. 1901. Flora Manshuria II. Trudy Imp. S. -PetersbergSk. Bot. Sada. 18: 19.

- Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of Vascular Plants. McMillan Co., New York. Pp. 551.
- Lee, S. 1983. A taxonomic study on the genus *Geranium* in Korea. Kor. Jour. Pl. Tax. 1: 27-40.
- Lookerman, D. J. and R. K. Jansen. 1996. The use of herbarium material for DNA studies. In Sampling the green world. Stussey, T. J. and S. Sohmer (eds.), Columbia University Press, New York. Pp. 205-220.
- Mori, T. 1921. An Enumeration of plants hitherto known from Korea. Gov. Gen. Chos. Pp. 225-227.
- Nakai, T. 1912. Notule ad Plantas Japonicae et Corea. VII. Bot. Mag. (Tokyo) 26: 251-266.
- . 1952. A Synoptical Sketch of Korean Flora. Bull. Nat. Mus., Tokyo. Pp. 67.
- Oh S. Y. 1980. A review of the family Geraniaceae of Korea. Research Review of Kyungbook Univ. 30: 289-328.
- Palibin, J. 1898. Conspectus Florae Koreae. Trudy Imp. S. -Petersberg Sk. Bot. Sada. Pp. 683.
- Park, S. J. and Y. S. Kim. 1997. Taxonomy of *Geranium*, subgenus *Geranium* of Asia (Geraniaceae). Kor. J. Plant Tax. 27: 195-231 (in Korean).
- . 2001. Taxonomic reconsideration of the *G. nepalense* Sweet and *G. thunbergii* Sieb. et Zucc. Kor. J. Plant Tax. 31: 75-90
- Park, S. J. and K. J. Kim. 2002. A new variety of *Geranium* (Geraniaceae) : *G. koraiense* Nakai var. *chejuense* S.-J. Park et K.-J. Kim. Kor. J. Plant Tax. 32: 1-6
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis R., 2001. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Ed 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Saghai-Marooof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 8014-8018.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new for reconstructing Phylogenetic trees. Molec. Biol. Evol. 4: 406-425.
- Swofford D. L. 2002. PAUP : Phylogenetic analysis using parsimony and other methods (ver. 4.0), Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Thomas, G. S. 1960. '*Geranium* for ground cover' Gardeners chronicle, London. Pp. 147, 480-1, 504, 508-9.
- Thomas, G.S. 1960. '*Geraniums* for ground cover' Gardeners Chronicle. Pp. 147, 480-1, 504, 508-9

- Thompson J. D., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin F. and Higgins D. G. 1997. The Clustal X windows interface : Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25 : 4876-4882.
- Willis, J. C. 1973. *A Dictionary of the Flowering Plants & Fern.* Cambridge Univ., Cambridge. Pp. 374-376.
- 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*, Innis, M., D. Gelfand, J. Sninsky and T. White (eds.), Academic Press, San Diego. Pp. 315-322.
- Yeo, P. F. 2001. *Hardy Geraniums* second edition. Timber Press, Portland, Oregon. Pp. 1-196.
- 박만규. 1974. 한국쌍자엽식물지 (초본편). 정음사, 서울. Pp. 127-130.
- 이창복. 2003. 원색대한식물도감 (상). 향문사, 서울. Pp. 645-651.
- 정태현, 도봉섭, 이덕봉. 1949. 조선식물명집 (1) 초본. 조선생물학지, 서울. Pp. 77-79.
- 정태현. 1965. 한국동식물도감 제 5 권 식물편 (목·초분류). 문교부, 서울. Pp. 321-326.

Phylogenetic study of Korean *Geranium*(Geraniaceae) based on nrDNA ITS sequences

Woo, Jeong Hyeon and Seon-Joo Park*

Department of Biology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Phylogenetic analyses were conducted to evaluate evolution and relationship of 16 taxa of Korean *Geranium* including 3 outgroups using ITS (internal transcribed spacer) sequences of nuclear ribosomal DNA. Phylogenetic studies used most parsimony and neighbor-joining methods including bootstrapping and jackknifing analysis. As the result, Korean *Geranium* forms monophyletic group. In the parsimony tree *G. koraiense* var. *hallasanense* situated as the most basal clade and *Erianthum* group forms one clade by high bootstrap and jackknife values (100% of bootstrap and jackknife values). *G. dahuricum* as one of the *Krameri* group is closely related with *Palustre* group by very weak relationship (37% of bootstrap and 44% of jackknife values) and the node collapse in the strict tree. *G. knuthii* which was one of *Wilfordii* group is closely related with *Koreanum* group. *G. sibiricum*, one of *Sibiricum* group, is the most closest relationship with *G. soboliferum* and these species are sister to *G. krameri*. *G. tripartitum* and *G. wilfordii* which are *Wilfordii* group are linked to *G. nepalense*, *G. thunbergii* f. *pallidum* and *G. thunbergii*. This result suggested that the phylogenetic analysis of ITS sequences should be useful to address phylogenetic questions on the genus Korean *Geranium*.

Key words : *Geranium*, ITS, Molecular phylogeny, nrDNA

*Corresponding author: Phone +82-53-810-2377, Fax +82-53-810-4618, sjpark01@ynu.ac.kr