

Phylogenic Study of Genus *Asarum* (Aristolochiaceae) in Korea by *trnL-trnT* RegionByeong Ryong Lee, Seon Hoan Kim¹ and Man Kyu Huh^{1*}*Department of Science Education, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea*¹*Department of Molecular Biology, Donggeui University, Busan 614-714, Korea*

Received September 15, 2010 / Accepted November 11, 2010

Asarum consists of low-growing herbs and is a genus in the Aristolochiaceae family with species found in the north temperate zones with most species in Asia. We evaluated the nine taxa with the *trnL - trnT* region of the chloroplast genome to estimate phenotypic relationships within genus *Asarum* in Korea. Alignment of the DNA sequences required the addition of numerous gaps. Sequence variation within the *Asarum* was mostly due to nucleotide inserts/deletions, although several indels and inserts were found. Another source of sequence divergence was length variation due to stretches of short repeats that occur at the *trnL - trnT* region in all the *Asarum*. A + T content for nine Korean species of genus *Asarum* ranged between 74.7% and 78.3%. These values were higher than those for the angiosperm alignments of the total *trnL* and *trnT* region (64.5~67.1%). Within genus *Asarum*, *A. patens* was strikingly different from the others in the three phylogenetic analyses (MP, ML, and NJ). However, some internal nodes were poorly supported. Within Korean *Asarum*, four species were unresolved portions. Possible reasons for the striking non-congruence between the previous morphological traits and the *trnL - trnT* based on phylogeny were discussed.

Key words : *Asarum*, *trnL - trnT*, phenotypic relationships

서 론

취방울덩굴과(Aristolochiaceae)에 속하는 죽도리풀속(*Asarum* L.) 식물은 북반구의 온대(한, 중, 일, 베트남)와 한대에 걸쳐 있으며 유럽에 1종과 북미에 일부 종이 분포되어 있는 것으로 알려져 있다[8]. 특히 생물 지리학적으로 죽도리풀속 식물의 기원은 아시아로 추정된다[10].

이 식물의 꽃이 죽도리 모양이라서 죽도리풀이라고 명명되었으며 우리나라에는 이 풀의 뿌리는 가늘고 땀다고 하여 예로부터 세신(細辛)이라 하여 약용으로 쓰였다[4]. 감기로 코가 막히거나 콧물이 흐를 때, 또 열이 심하고 두통이 있을 때, 만성기관지염이나 진해제로서도 쓰이고 구내염에도 효과가 있다고 하였다. 근래에는 2002년에 대한민국 특허청에 세신추출물을 함유하는 뇌 보호 및 기억력 증진용 조성물로 공개특허공보(특 2002-0073237)가 있다.

식물의 분자생물학적 분류에 사용되는 염록체 DNA에서 *trnL* 유전자를 포함하고 있는 *trnL-trnT* 부위는 한 개의 group I intron, 한 개의 intergenic spacer, 그리고 한 개의 *trnT* exon으로 구성되어 있다. Group I intron은 잘 보존된 핵심 구조로 pre-tRNA로부터 자가 스플라이싱을 촉매 하는 활성 자리를 암호화하고 있다[3,13]. *trnL* intron은 group I의 첫 번째 in-

tron이며 tRNA 유전자를 저해한다[2]. 식물에서 *trnL* 인트론은 보통 양측면의 *trnL* exons에서 보존된 부위이다. intergenic spacer에서 이차 구조 요소(secondary-structural elements) 스프라이싱 부위에서는 발견되지 않는다[2]. cpDNA spacer 부위의 일반적인 특징은 인델(indel)을 가지고 있는데 인델은 결실, 인접 서열의 중복, 스페이스의 비반복에서 발생한다[6].

우리나라에 자생하고 있는 죽도리풀속 식물은 2종에서부터 19종까지 분류학자들에 따라 많은 차이를 나타내고 있다[16,18,19]. 이는 자생지에 따라 차이가 나타날 수 있지만 특히 형태학적 가소성이 있는 것에 기인한다고 볼 수 있다[12]. 죽도리풀속 식물은 20 cm 정도의 작은 초본으로 심장모양의 잎은 턱잎이 결여되어있고 근경(rhizome)을 가지고 있다. 그 외 많은 형질이 분류학적 검색에 쓰이고 있으나 잎과 꽃에서 가소성을 가지고 있어 표현형적 변이를 유발한다.

Lee [8]은 상위 검색으로 잎의 표면에 흰 무늬가 있을 경우 *Asarum maculatum* (개죽도리풀), 잎이 녹색일 경우 *A. sieboldii* (죽도리풀)로 분류하였다. 그러나 최근 Oh [16]는 잎이 자주색이나 녹색이냐를 상위검색으로 설정한 바 있다.

특히 Oh [16]과 Kweon [12]는 ITS (nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences)를 이용하여 죽도리풀속 식물 9개 분류군에 대해 계통분석 연구를 수행한 바 있다. 그러나 ITS만으로는 일부 분지군이 분해되지 않은 점이 있었다. 그런데 앞서 ITS의 분류 결과에서 분해되지 않은 분류군이 *trnL-trnT*에 의한 본 연구 결과에서 분지가 있었다. 또한 형태

***Corresponding author**Tel : +82-51-890-1529, Fax : +82-51-890-1521
E-mail : mkhuh@deu.ac.kr

학적으로 너무 세분화된 결과라는 것을 입증하는지 ITS 결과와 비교하고자 하였다. 본 연구에서는 Oh [16]에서 분석하지 않은 3 분류군을 추가하여 선행 연구 결과와 비교하였다.

재료 및 방법

재료와 genomic DNA 추출

본 분석에 사용한 식물 분류군은 자주족도리풀(*A. siboldii* Miquel for. *koreanum* Y. Lee), 금오족도리풀(*A. patens* Yamaki), 서울족도리풀(*Asarum heterotropoides* var. *seoulense* (Nakai) Kitag.), 개족도리풀(*A. maculatum* Nakai), 민족도리풀(*A. siboldii* Miquel var. *manshuricum* Maximowicz), 민무늬족도리풀(*A. vericolor* (Yamaki) Y. Lee var. *non-vericolor* Y. Lee), 각시족도리풀(*Asarum siboldii* Miquel var. *manshuricum* Maximowicz for. *misandrum* Y. Lee), 족도리풀(*A. sieboldii* Miquel), 뿔도리풀(*A. siboldii* Miquel var. *cornutum* Y. Lee)로 자생지에서 직접 채집하여 사용하였다(Table 1).

각 식물체로부터 DNA를 추출하기 위하여 Plant DNA Zol Reagent (Life Technologies Inc., Grand Island, New York, USA)를 사용하였다. 추출방법은 사용자의 지침서에 의거하여 추출하였다. 추출된 DNA는 진공 흡입기로 5분간 건조시킨 후 TE 100 ul에 용해하여 3일간 냉장 보관하였다. 용해된 시료는 DNA 정량을 체크하였고 TE로 DNA 농도가 균질하게 조정하여 본 분석을 위해 사용하거나 -20°C 냉동고에

보관하였다.

trnL and *trnT* 분석

엽록체의 *trnL* intron과 *trnL* - *trnT* spacer 부위(Fig. 1)는 Taberlet 등[21]이 고안한 시발체(primer)로 PCR (polymerase chain reaction)을 이용하여 증폭시켰다.

PCR 반응을 위하여 추출한 각 분류군의 게놈 DNA 50 ng, 각 dNTP 100 uM, 시발체 각 0.2 uM, 1x enzyme buffer, Taq polymerase 2 unit를 넣고 증류수로 전체 50 ul volume이 되도록 추가하였다. 증폭반응은 초기 94°C에서 90 sec간 변성한 후, 28 사이클로 94°C에서 30 sec, 42°C에서 60 sec, 72°C에서 60 sec간 실시하였고, 추가로 72°C에서 5분간 연장하였다.

PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 분리하였는데 이때 절편들의 상대적 크기를 비교하기 위해 100 bp ladder DNA marker를 같이 loading시켰다. 전기영동 후 젤은 ethidium bromide로 염색하여 밴드를 현상하였다. 현상된 젤은 Alpha Image TM (Alpha Innotech Co, USA)을 사용하여 밴드 양상을 조사하였다. 이후 젤에서 DNA를 QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN)로 추출하였다. 추출된 DNA를 bluescript vector로 클로닝한 후 ABI Prism 377 Sequencer (Applied Biosystem, USA)로 염기서열을 분석하였다.

통계 분석

분류군간 유전적 거리(*J*)와 유전적 동질성(*D*)은 분류군간

Table 1. Taxa used in the molecular study of the genus *Asarum* including population locations

Code	Scientific Name	Geographic origin
1	<i>Asarum siboldii</i> Miquel for. <i>koreanum</i> Y. Lee	Jeong-eup, Jeollabuk-do
2	<i>A. patens</i> Yamaki	Cheongju-si, Chungcheongbuk-do
3	<i>A. heterotropoides</i> var. <i>seoulense</i> (Nakai) Kitag.	Pohang-si, Gyeongsangnam-do
4	<i>A. maculatum</i> Nakai	Mt. Halla, Jeju-do
5	<i>A. siboldii</i> Miquel var. <i>manshuricum</i> Maximowicz	Mt. Juwang, Gyeongsangbuk-do
6	<i>A. vericolor</i> (Yamaki) Y. Lee var. <i>non-vericolor</i> Y. Lee	Cheongju-si, Chungcheongbuk-do
7	<i>A. siboldii</i> Miquel var. <i>manshuricum</i> Maximowicz for. <i>misandrum</i> Y. Lee	Jeong-eup, Jeollabuk-do
8	<i>A. sieboldii</i> Miquel	Mt. Halla, Jeju-do
9	<i>A. siboldii</i> Miquel var. <i>cornutum</i> Y. Lee	Mt. Halla, Jeju-do

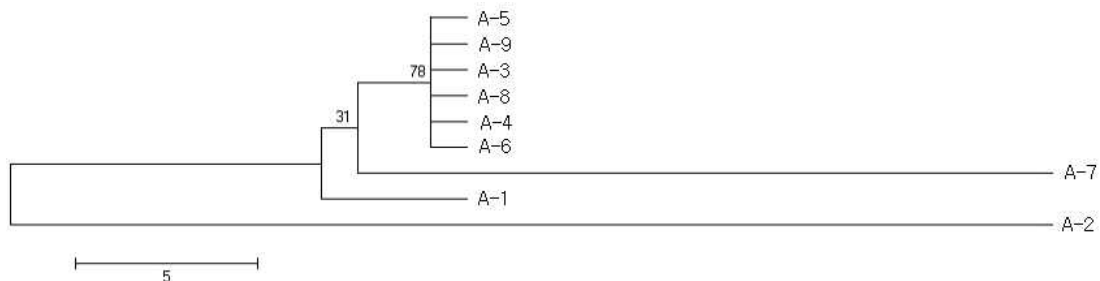


Fig. 1. The maximum parsimonious tree for genus *Asarum* based on *trnL* and *trnT* analysis using PAUP 4b10, exhaustive search, unweighted parsimony analysis, gaps=fifth state) from the 1011 aligned positions of the initial matrix. Symbols of taxa were added the numbers of Table 1 with A-.

염기쌍의 비교로 산출하였다[14]. PAUP에서 분류군간 핵산 차이에 의한 유의성 검증, 염기 빈도, 서열쌍 거리, uncorrected "p"에 의한 측정된 거리 등을 산출하였다[20]. 염기자리 당 서열 간 염기 조성 차이, 불일치 계수를 검증하였다[11].

서열간 코돈의 중립성 검증은 깍과 결손 서열을 제외하고 1,000회 반복으로 MEGA4로 실시하였다[15]. 타지마의 여러 통계치(M=number of sites, S=Number of segregating sites, ps=S/M, and π=nucleotide diversity. D=Tajima test statistic)를 산출하였다[22].

유연관계 분석

각 족도리풀 *trnL* - *trnT*에서 얻은 크로마토그램(chromatogram)은 소프트웨어 Sequence Navigator 1.0.1 (Applied Biosystems Inc.)로 편집하였다. 족도리풀 *trnL* - *trnT* 서열에서 결손부위를 포함한 서열 배당은 MEGA4 version 4.1과 Clustal X program으로 분석하였다[23]. 배당된 서열에서 gap의 부위는 missing data로 처리하였다. 그러나 계통학적으로 정보적인 인델은 이진법 처리로 data에 삽입하였다.

최절약법에 의한 tree (maximum parsimonious tree, MP)는 heuristic search, branch-swapping options, tree bisection-reconnection에 따랐다[20]. 최우법(maximum likelihood tree, ML), N-J법(neighbor-joining tree, NJ)으로 tree 작성을 실시하여 비교하였다. 계통분석의 분지는 PHYLIP version 3.57의 NEIGHBOR, neighbor-joining (NJ) 방법에 의해 구성하였다[5,17]. 분류군의 가지에 대한 Bootstrap 분석은 1000회 반복법으로 실시하였다.

결 과

족도리풀속 8개 분류군에 대한 *trnL* - *trnT* 부위의 profiles는 100 bp ladder DNA marker로 크기를 비교한 결과 모두 약 880 nucleotides (bp)의 크기를 가지고 있었다(Table 3). 이들 밴드를 purification하여 DNA 염기서열을 분석한 결과 족

도리풀속 식물은 874-897 bp였다. 최고와 최저의 24 bp 차이는 삽입과 결실에 의한 것이다(Appendix 1).

A+T 함량은 74.7-78.3%였으며(Table 3), 분류군간 염기 차이는 금오족도리풀의 염기 C에서만 1% 수준에서 유의성을 나타내었고, 다른 분류군의 염기에서는 유의성을 나타내지 않았다(Table 4). A+T 함량의 비율은 피자식물에서 *trnL*과 *trnT* 부위의 평균값(64.5%~67.1%)과 비교할 때 약간 높았다.

DNA 서열의 서열 배당은 많은 깍(gaps)을 필요로 하였다. 전체 934 특성(characters)이었으며 866 특성은 일정하였다. 63개 변이는 절약-비정보적이었고 단지 5개만 절약-정보적이었다. 7곳(위치 34, 35, 38, 42, 48, 53, 589)에서 한 염기의 삽입이 발견되었다. 3부위(위치 284~295, 599~619, 717~735)에서 긴 직렬 염기 삽입이 있었다. 염기 직렬 결실은 빨족도리풀에서 144~173 자리에서 었다. 또 다른 서열 변이는 짧은 염기들의 반복이 있었는데 TATTAGTTATTA였다(Table 5).

서열 쌍 거리 분석에서 개족도리풀과 민족도리풀이 가장 근연하였다(Table 6). 금오족도리풀은 나머지 분류군의 쌍에 비해 유전적 거리가 높았다.

모든 염기 자리 당 불일치 지수(disparity index) 또는 불균 등 지수를 산출하였다(Table 7). 0 보다 클 경우 서열 간 진화 분화의 차이가 유연에 의한 예상 값보다 염기 조성 편향에서 큰 차이를 나타내게 된다. 금오족도리풀과 각시족도리풀은 다른 분류군과 유의한 차이를 나타내었다.

DNA 서열에서 염기 치환이 같은 패턴으로 진화해왔다는 가설을 몬테-카를로 테스트(1000 반복)로 검증하였다(Table 8). 금오족도리풀은 다른 분류군과 유의한 차이를 나타내었으며 다른 분류군은 유의한 차이가 없었다.

타지마(Tajima)의 중립성 검증에서 자리 수는 9였으며 분리

Table 2. Synthetic primer sequencing (5'-3') used for the *trnL* and *trnT* analysis in this study

Name	Sequence 5'-3'	Code
a	CATTACAAATGCGATGCTCT	B48557
b	TCTACCGATTTCGCCATATC	A49291

Table 3. The base frequencies across taxa of genus *Asarum* using *trnL* and *trnT* analysis

Taxa	Base				Total
	A	C	G	T	
1	0.387	0.087	0.137	0.389	897
2	0.368	0.128	0.124	0.379	896
3	0.390	0.088	0.134	0.388	878
4	0.387	0.087	0.133	0.393	888
5	0.389	0.088	0.133	0.390	877
6	0.390	0.086	0.131	0.393	895
7	0.393	0.092	0.131	0.384	876
8	0.387	0.090	0.133	0.390	877
9	0.387	0.089	0.133	0.391	874
Mean	0.386	0.094	0.132	0.388	886.7

Table 4. The chi-square test of homogeneity of base frequencies across taxa of genus *Asarum* using *trnL* and *trnT* analysis

Taxa		A	χ^2	C	χ^2	G	χ^2	T	χ^2
1	Obs.	347		78		123		349	
	Exp.	346.49	0.001	83.30	0.337	118.58	0.165	348.63	0.000
2	Obs.	330		115		111		340	
	Exp.	346.11	0.750	83.20	12.154**	118.45	0.489	348.24	0.195
3	Obs.	342		77		118		341	
	Exp.	339.15	0.024	81.53	0.252	116.07	0.032	341.25	0.000
4	Obs.	344		77		118		349	
	Exp.	343.01	0.003	82.46	0.362	117.39	0.003	345.13	0.043
5	Obs.	341		77		117		342	
	Exp.	338.77	0.015	81.44	0.242	115.93	0.010	340.86	0.004
6	Obs.	349		77		117		352	
	Exp.	345.72	0.031	83.11	0.449	118.31	0.015	347.86	0.049
7	Obs.	344		81		115		336	
	Exp.	338.38	0.093	81.35	0.002	115.80	0.006	340.47	0.059
8	Obs.	339		79		117		342	
	Exp.	338.77	0.000	81.44	0.073	115.93	0.10	340.86	0.004
9	Obs.	338		78		116		342	
	Exp.	337.61	0.001	81.16	0.123	115.54	0.002	339.69	0.016

The taxon codes are the same as Table 1.

**= $p < 0.01$

Table 5. Stretches of short repeats at the *trnL* - *trnT* region in the *Asarum*

	600	610	620	630	670	680	690	700
1	TATTAATT--	-----	-----	A TTAATAATAA	ATATGAATAC	TATTAGAGTA	TTATAGTAAG	TATATGGTAT
2	C	C.....C
3G
4
5
6TTAATA-TTAA	TAATTAATTA
7A
8
9AT	TAATAATTAA	TTATTAAT-

The taxon codes from 1 to 8 are the same as Table 1.

Table 6. The sequence pair distances of sites between two sequences in a multiple alignment among species of genus *Asarum* using *trnL* and *trnT* analysis

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	-								
2	0.049	-							
3	0.007	0.047	-						
4	0.006	0.045	0.001	-					
5	0.006	0.045	0.001	0.000	-				
6	0.007	0.047	0.002	0.001	0.001	-			
7	0.028	0.070	0.027	0.026	0.026	0.027	-		
8	0.007	0.047	0.002	0.001	0.001	0.002	0.027	-	
9	0.007	0.047	0.002	0.001	0.001	0.002	0.027	0.002	-

The taxon codes of first line are the same as those of first column.

The taxon codes from 1 to 9 are the same as Table 1.

되는 자리 수는 61이었으며 이들의 비는 0.073이었고, 다양도는 0.017로 낮았다(Table 9). 중립설의 검증 결과는 도태에 의

한 중립가설보다는 삽입과 결실에 의한 결실돌연변이설로 설명된다(D=-1.825).

Table 7. The disparity index per site for all sequence pairs in genus *Asarum* using *trnL* and *trnT* analysis

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	-								
2	0.832	-							
3	0.000	0.893	-						
4	0.000	0.893	0.000	-					
5	0.000	0.893	0.000	0.000	-				
6	0.000	0.885	0.001	0.000	0.000	-			
7	0.004	0.725	0.005	0.008	0.008	0.018	-		
8	0.000	0.833	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	-	
9	0.000	0.833	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.000	-

The taxon codes of first line are the same as those of first column.
The taxon codes from 1 to 9 are the same as Table 1.

Table 8. Test of the homogeneity of substitution patterns between sequences

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	-								
2	0.000	-							
3	1.000	0.000	-						
4	1.000	0.000	1.000	-					
5	1.000	0.000	1.000	1.000	-				
6	1.000	0.000	0.463	1.000	1.000	-			
7	0.362	0.000	0.331	0.242	0.279	0.190	-		
8	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.296	-	
9	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.282	1.000	-

The taxon codes of first line are the same as those of first column.
The taxon codes from 1 to 9 are the same as Table 1.

Table 9. Results from Tajima's neutrality test for nine sequences

M	S	ps	π	D
9	61	0.073	0.017	-1.825

M=number of sites, S=Number of segregating sites, ps=S/M, and π=nucleotide diversity. D is the Tajima test statistic.

MP tree에서 서울족도리풀, 개족도리풀, 민족도리풀, 민무늬족도리풀, 족도리풀, 뿔족도리풀은 거의 분리되지 않았다(Fig. 1). 이들 그룹은 각시족도리풀과 자매군을 형성한다(지지도 78%). 이들 그룹은 자주족도리풀과는 낮은 지지도(31%)로 근연하며 금오족도리풀은 가장 분리된 분류군이였다. ML tree 역시

유사하나 자주족도리풀이 각시족도리풀과 같은 분지군을 형성하였다(Fig. 2). 이 계통도에서도 금오족도리풀은 가장 분리된 분류군이였다. NL tree는 MP tree보다 ML tree에 더 유사한 양상을 나타내었다(Fig. 3). 다만 민족도리풀이 높은 지지도(91%)로 개족도리풀, 서울족도리풀 등과 분리되었다. 자주족도리풀이 각시족도리풀과 같은 분지군을 형성하였다(Fig. 2). 이 계통도에서도 금오족도리풀은 가장 분리된 분류군이였다.

고 찰

한국 내 분포하는 족도리풀속 식물은 연구자들 간 일치된

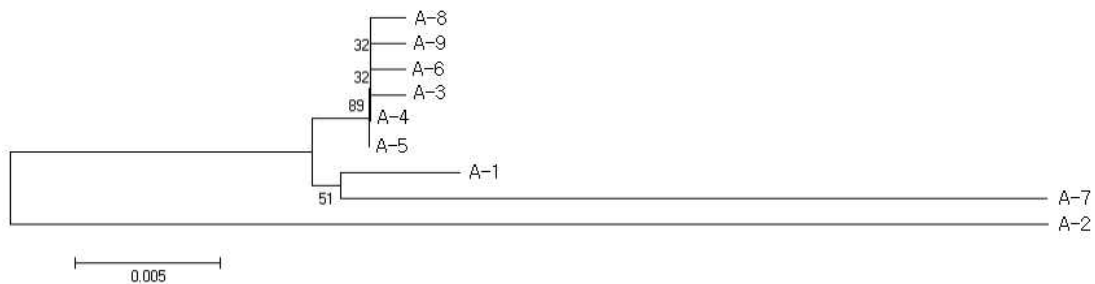


Fig. 2. The maximum likelihood tree for genus *Asarum* based on *trnL* and *trnT* analysis using PAUP 4b10. Symbols of taxa were added the numbers of Table 1 with A-.

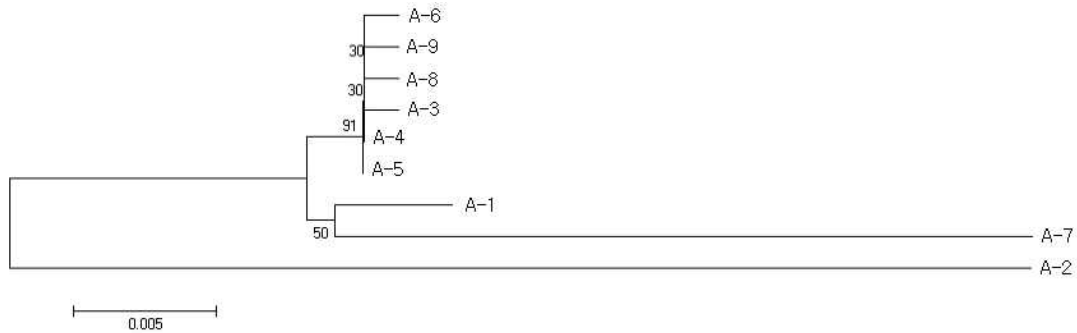


Fig. 3. The neighbor-joining tree for genus *Asarum* based on *trnL* and *trnT* analysis using MEGA 4x1. Symbols of taxa were added the numbers of Table 1 with A-.

검색분류표가 작성되어 있지 않아 분류하기 어려운 측면이 있다. 즉, 연구자에 의해 종의 동정부터 문제시 되어 도감마다 같은 종이라도 학명이 달라 누구의 견해를 취해야 할 지 문제시된다. 최근 Lee [9]의 개정된 도감과, So [18], So와 Kim [19], Oh [16]에 의해 많이 정리되었다. Lee [8]의 도감에는 많은 변종이 수록되어 지리적 집단 간 차이를 인정함으로써 지나치게 종을 세분한 면이 없지 않다. 다만 그간 두 종으로만 인식한 Lee[9]의 분류와 여러 학자나 원예용 죽도리풀속 재배자들이 임의로 국명을 부여하여 혼돈한 것에 대한 형태 형질을 정리한 점은 높이 평가된다[12]. 특히 최근 Oh [16]에 의해 한국산 죽도리풀의 형태학적 측면에서 분류학적 재검토에서 7종으로 정리하였고, Kweon [12]에 의해 분자생물학적 측면이 추가되었지만 아직도 학명이 서로 일치되지 않았다.

한편 앞서 핵 내 리보솜 서열(ITS) 연구 결과와 본 연구의 엽록체 *trnL* - *trnT* 결과는 형태학적 분류에 의한 결과와도 일치하지 않는다. 또한 *trnF* - *trnL*의 결과(미발표)도 형태나 ITS 결과와 일치하지 않아 역시 분류의 어려움을 모호하게 한다. 형태학적 분류로는 털죽도리풀과 더불어 잎이 녹색으로 자주색인 자주죽도리풀과 구별되고 더 하위 검색으로 악편은 편평하고 전체가 바깥으로 젖혀지며 악편 전체가 악통과 밀착하여 죽도리풀, 금오죽도리풀, 개죽도리풀, 무늬죽도리풀과 다른 계통으로 간주된다[16]. 따라서 ITS 결과에 의거한다면 앞에서 털의 유무가 더 상위 검색으로 설정되어 털이 결여된 각시죽도리풀과 털이 약간이라도 있는 나머지 전체 죽도리풀속 분류군과 구별된다. 본 연구 결과에서도 ITS, *trnF* - *trnL*와 더불어 많은 종이 형태 분류와 일치하지 않는다. 따라서 각기 독립된 종으로 세분하기 보다는 어떤 정립된 분류 검색에서 아종이나 변종으로 처리할 것과 일부는 통합할 것을 제시하고 있다.

한편, 앞서 연구된 ITS 결과에서 So [18]에 의하면 집단에 따라 여러 개체를 채집했을 때 같은 분류군 내 일부 개체들이 다른 분류군 내로 군집되는 것을 볼 수 있다. 즉, 죽도리풀의 일부는 자주죽도리풀과 빨죽도리풀에 같은 분지군을 형성하기도 하지만 일부 개체들은 선운산죽도리풀(*Asarum sonunsa-*

nense Y. Lee)과 같은 분지군을 형성하였다[12]. 털죽도리풀(*Asarum manshuricum*)도 마찬가지였다. 따라서 잎의 형질에서 많은 변이가 있음으로 향후 엽록체 DNA에 의한 분자마커로 보완할 필요가 있을 것이다. 따라서 잎과 꽃에 나타난 색상 형질이 중요한 특성이긴 하나 죽도리풀속의 가소성(plasticity)의 결과라면 분류 기준에서 제외하거나 여러 형질이 모여야 다른 변종으로 간주하는 것이 더 바람직할 수 있다. 물론 coding 부위는 진화속도가 non-coding 부위보다 느려 낮은 분류군에서 논쟁이 일부 발생하고 있는 것도 한 원인으로 볼 수 있다[1,7]. 그런데 Kelly [10]는 형태와 ITS에 의한 광범위한 죽도리풀속 분류를 시도한 바 있다. 그의 재료 중 죽도리풀이 포함되어 있는데 중국과 한국에서 채집한 것이다. 비록 한국에 분포하는 종으로는 한 종밖에 포함되어 있지 않지만 형태에 의한 결과와 ITS에 의한 결과가 매우 일치하는 것으로 나타나 본 연구와 So [18]의 결과와 대조적이다. 이는 지나치게 우리나라의 죽도리풀 식물을 세분한 것에 기인한다고 볼 수 있다.

References

1. Backmann, K. 2001. Evolving and the genetic analysis of populations: 1950-2000. *Taxon* **50**, 7-45.
2. Bonnard, G., F. Michel, J. H. Well, and A. Steinmetz. 1984. Nucleotide sequence of the tRNA^{Leu} gene from *Vicia faba* chloroplasts: evidence for structural homologies of the tRNA^{Leu} intron with intron from the autosplicable *Tetrahymena* ribosomal RNA precursor. *Mol. Gen. Genet.* **194**, 330-336.
3. Cech, T. R. 1988. Conserved sequences and structures of group I introns: building an active site for RNA catalysis - a review. *Gene* **73**, 259-271.
4. Choi, K. S. 2006. Ecological study on *Asarum* spp. MS, Kyungshung University, Busan, Korea.
5. Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5s, Distributed by the author. Department of Genetics, Univ. Washington, Seattle.
6. Golenberg, E. M., M. T. Clegg, M. L. Durbin, J. Doebley,

- and D. P. Ma. 1993. Evolution of a noncoding region of the chloroplast genome. *Mol. Phylogenet. Evol.* **2**, 52-64.
7. Holderegger, R. and R. Abbott. 2003. Phylogeography of the arctic-alpine *Saxifraga oppositifolia* (Saxifraceae) and some related taxa based on cpDNA and ITS sequences variation. *Am. J. Bot.* **90**, 931-936.
 8. Lee, T. B. 2003. Coloured Flora of Korea. Hyangmoon-sa, Seoul. Korea.
 9. Lee, Y. N. 2007. New Flora of Korea. Kyo-Hak Publishing Co., Seoul. Korea.
 10. Kelly, L. M. 1998. Phylogenetic relationships in *Asarum* (Aristolochiaceae) based on morphology and ITS sequences. *Am. J. Bot.* **85**, 1454-1467.
 11. Kumar, S. and S. R. Gadagkar. 2001. Disparity Index: A simple statistic to measure and test the homogeneity of substitution patterns between molecular sequences. *Genetics* **158**, 1321-1327.
 12. Kweon, E. J. 2009. Phylogeny study of genus *Asarum* (Aristolochiaceae) in Korea by internal transcribed spacer sequence (ITS). MS, Pusan Natl. University, Korea.
 13. Michel, F. and B. Dujon. 1983. Conservation of RNA secondary structures in two intron families including mitochondrial-, chloroplast- and nuclear-encoded members. *EMBO J.* **2**, 33-38.
 14. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **70**, 3321-3323.
 15. Nei, M. and T. Gojobori. 1986. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. *Mol. Biol. Evol.* **3**, 418-426.
 16. Oh, B. U. 2008. A taxonomic review of Korean *Asarum* (Aristolochiaceae). *Korean J. Pl.* **38**, 251-270.
 17. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406-425.
 18. So, S. 2008. A molecular phylogenetic study of the genus *Asarum* in Korea. MS, Chonbuk Natl. University, Korea.
 19. So, S. and M. Kim. 2008. A taxonomic study of *Asarum* (Aristolochiaceae) in Korea. *Korean J. Pl.* **38**, 121-149.
 20. Swofford, D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Version 4. Sunderland, Sinauer Associates, Inc. MA.
 21. Taberlet, P., L. Gielly, G. Pauton, and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* **17**, 1105-1109.
 22. Tajima, F. 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* **123**, 585-595.
 23. Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* **24**, 1596-1599.

초록 : *trnL-trnT* 부위에 의한 한국 족도리풀속 식물종의 계통분류학적 연구

이병룡 · 김선환¹ · 허만규^{1*}

(서원대학교 과학교육과, ¹동의대학교 분자생물학과)

족도리풀속은 쥐방울덩굴과에 속하는 키 작은 초본이며 아시아의 온대지역에서 많은 종이 주로 분포한다. 이 속에 속하는 우리나라 자생 식물 아홉 분류 간 계통 관계를 평가하기 위해 엽록체 계놈의 *trnL - trnT* 부위로 평가하였다. DNA 서열 배당은 많은 갭(gaps)을 가지고 있었다. 이 속 내 서열 변이는 일부 삽입과 결실이 발견되었지만 주로 핵산의 삽입/결실에 기인하였다. 서열 분화의 또 다른 원인은 이 속의 *trnL - trnT* 부위에서 발생한 짧은 반복 서열에 의한 길이 변화이다. 이 속의 9개 분류군에 대한 *trnL - trnT* 부위에서 A+T 함량은 74.7~78.3%로 피자식물의 평균(64.5~67.1%)보다 높았다. 이 속의 금오족도리풀은 세 계통도(MP, ML, and NJ)에서 모두 현저하게 차이가 났다. 그런데 일부 내부 분지마디는 낮은 지지도를 보였으며 네 종은 분리되지 않았다. 기존의 형태학적 특성과 *trnL - trnT*의 계통도 간 불일치에 대해 논의하였다.