

ITS 염기서열에 의한 한국산 담배풀속(*Carpesium* L.)의 계통분류학적 연구

유광필, 박선주*
영남대학교 생명과학과

A Phylogenetic Study of Korean *Carpesium* L. Based on nrDNA ITS Sequences

Kwang Pil Yoo and Seon Joo Park*

Department of Life science, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract - Phylogenetic analyses were conducted to evaluate relationships of 7 taxa of Korean *Carpesium* including three outgroup (*Inula britannica* L., *Inula germanica* L., *Rhanteriospis lannginosa* (DC.) Rauschert) by using ITS (internal transcribed spacer) sequences of nuclear ribosomal DNA. Phylogenetic studies used maximum parsimony, neighbor-joining and maximum likelihood methods analysis. The length of the ITS sequences was 731 bp, and the lengths of the ITS1, ITS2 and 5.8S regions were 284~297 bp, 264~266 bp and 164 bp, respectively. The total number of variable sites was 111 for the entire sequences, and a parsimony informative sites of 64 are valid. Base change appeared variously in ITS1 rather than in ITS2. As the result, Korean *Carpesium* were formed monophyletic group and *C. abrotanoides* situated as the most basal clade. The results show that *C. macrocephalum* is closely related with *C. triste*. *C. rosulatum* has the closest relationship with *C. glossophyllum*. *C. cernuum* is close to *C. divaricatum*. These results suggest that the ITS data used in this study could be useful for the phylogenetic analysis of Korean *Carpesium*.

Key words - *Carpesium*, Phylogenetic analysis, ITS, Monophyletic group

서 언

담배풀속(*Carpesium* L.)은 Linnaeus(1753)에 의해 설정 되었으며, APG II분류체계로 피자식물문(Magnoliophyta), 진정국화군(Euasterids) II, 핵심진정쌍자엽군(Core eudicots), 국화목(Order Asterales), 국화과(Family Asteraceae)에 속하는 분류군으로(APG II, 2003), 전 세계적으로 약 25여 종이 동아시아와 유럽 지역을 중심으로 분포하고 있으며, 특히 한국, 중국, 일본에 18종이 분포하고 있다(Park, 2007).

한국산 담배풀속 연구는 Komarov(1903)가 *C. cernuum* L. (좁담배풀), *C. divaricatum* Siebold & Zucc. (긴담배풀), *C. eximium* C. Winkl. 및 *C. triste* Maxim. (두메담배풀) 등 4종을 기록으로, Nakai(1909)가 *C. erythrolepis* H.Lév., *C. hieracioides* H.Lév. 및 *C. taquetii* H.Lév. 등 3종을 기록

하였으며, Nakai(1911)가 *C. abrotanoides* L.(담배풀), *C. cernuum*, *C. divaricatum*, *C. macrocephalum* Franch. & Sav.(여우오줌) 및 *C. triste* 등 5종을 기록하였다. 이후 Makino(1922)가 *C. abrotanoides* var. *thunbergianum* (Siebold & Zucc.) Makino와 *C. koidzumii* Makino 등 2종을 기록하였으며, Chung *et al.*(1937)이 *C. abrotanoides*, *C. divaricatum* 등 2종을 기록하였고, Park(1949)이 *C. cernuum*, *C. glossophyllum* Maxim.(천일담배풀), *C. macrocephalum*, *C. rosulatum* Miq.(애기담배풀) 및 *C. triste* 등을 추가하였으며 7종을 기록하였다. Nakai(1952)가 1911년에 기록한 5종에 *C. glossophyllum*, *C. glosso-phyloides* Nakai 및 *C. rosulatum* 등을 추가하여 8종을 기록하였으며, Chung(1956), Lee(1980, 2003), Lee(1996), Lee(1996, 2006)는 *C. abrotanoides*, *C. divaricatum*, *C. cernuum*, *C. glossophyllum*, *C. macrocephalum*, *C.*

*교신저자(E-mail) : sjpark01@ynu.ac.kr

rosulatum 및 *C. triste* 등 7종을 기록하였다. 최근의 연구로 한국산 담배풀속은 1속 7분류군이 국내에 자생하고 있는 등(Park, 2007) 주로 도감이나 향명집에 종의 기재나 기록에 대한 연구가 대부분 이루어졌다. 또한 Arano(1962)가 *Carpesium*속 식물의 핵형분석을 바탕으로 한 세포학적 연구를 하였으며, Zarin *et al.*(2010)이 *Carpesium*속 식물 화분의 해부학적 연구를 하였고, 각 종마다 화학적 성분 분석의 연구가 대부분 이루어졌다.

외부형태학적으로 긴담배풀과 줄담배풀의 경우 잎의 연속적인 변이가 발견되어 외부형질만으로 두 분류군의 실제 파악에 대한 어려움이 있었다. 여우오줌과 두메담배풀의 경우 경엽의 엽병에 있는 날개의 폭이 줄기에 가까이 갈수록 좁아지는 두메담배풀과 날개의 폭이 좁아지지 않는 여우오줌으로 구별하는 등 단편적인 형질만으로 담배풀속 식물을 분류하고 있는 등 한국산 담배풀속 식물의 실체에 대한 연구가 이루어진 적이 없었다. 또한 외부형태형질이 비슷한 분류군들끼리 중간 유연관계가 어떠한지 알아보고자 형태형질과 분자형질을 비교하여 본 연구를 수행하였다.

본 연구에 사용된 nuclear ribosomal DNA(nrDNA)는 고등식물의 계통 분석에 널리 이용되고 있으며, ITS 지역은 nrDNA로 양친 유전성(biparental inheritance)을 가지고 coding지역보다 빠르게 진화하여 유전자간의 변이성이 높은 편이어서 중간 또는 속간의 유연관계와 진화경향성(Baldwin, 1992; Kim and Jansen, 1994; Álvarez and Wendel, 2003) 및 유전자 변이양상(Kim *et al.*, 2005; Son *et al.*, 2007)을 파악하는데 이용되고 있다.

따라서 본 연구는 nrDNA의 ITS 지역 염기서열을 비교 분석하여 국부적이지만 한국산 담배풀속 식물의 종 한계 설정과 중간 유연관계를 파악하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 재료는 2010년 8월부터 2011년 10월까지 국내 자생지에서 채집하였으며, 채집한 재료는 건조 표본으로 제작하여 영남대학교 식물표본관(YNUH)에 보관하였다. 채집하지 못한 재료에 대해서는 국내 강원대학교 식물표본관(KWNU), 성균관대학교 식물표본관(SKK), 국립수목원 식물표본관(KH) 및 안동대학교 식물표본관(ANH)에 소장된 표본을 이용하였다. 외군으로 Englund *et al.*

(2009)의 선행연구에 의해 담배풀속과 유연관계가 가까운 *Inula britannica* L., *Inula germanica* L., *Rhanterioopsis lannginosa*(DC.) Rauschert를 선정하였다(Table 1).

Total DNA 추출과 DNA 증폭

DNA 추출은 생체 또는 표본을 이용하여 Precellys[®]24 Homogeniser(Bertin Technologies, France)를 이용하여 분쇄시킨 후, Loockerman & Jansen(1996)의 방법으로 추출하였다. ITS 지역의 증폭을 위해서 PCR(Polymerase chain reaction)을 이용하였으며, primer ITS4, ITS5(White *et al.*, 1990)를 이용하였다. PCR 반응용액은 template DNA 20~50 ng, 10×*Diastar*[™] Taq DNA buffer 2.5 μl (Solgent Co., Korea), 10 mM dNTPs mix 0.5 μl(Solgent Co., Korea), 10 pmol primer ITS4, ITS5 각각 1 μl, 2.5 unit *Diastar*[™] Taq DNA polymerase 0.13 μl(Solgent Co., Korea)을 첨가하고 total volume이 25 μl가 되도록 멸균된 증류수로 조절하였다. PCR 반응은 95℃에서 2~3분 동안 initial denaturation한 후, denaturation 95℃ 20~30초, annealing 56℃ 40초, extension 72℃에서 1분으로 구성된 cycle을 30~40회 반복 수행 후 최종적으로 72℃에서 5분간 extension 하였다. PCR 반응용액은 Gel & PCR purification system(Solgent Co., Korea)으로 정제한 후 염기서열 분석은 automatic DNA analyzer system AMI PRISM 3730xl analyzer(Solgent Co., Korea)를 이용하였다.

계통학적 분석

Primer의 forward와 reverse 방향의 각 염기서열들은 Geneious pro ver. 5.5(Drummond *et al.*, 2011)로 조합하였으며, 세부적인 정렬은 Geneious pro ver. 5.5에서 수작업을 통하여 정렬하였다. 정렬된 염기서열은 PAUP^{*} ver. 4.0b10(Swofford, 2003)을 이용하여 Maximum parsimony (MP), Neighbor-joining(NJ) 및 maximum likelihood (ML)을 수행하였다. MP는 Heuristic search을 이용하였으며, option은 1000회 random addition sequence과 TBR branch-swapping algorithm을 적용하였고, Multrees 효과를 가지도록 수행하였다. 또한 gap 부분은 결여형질(missing character)로 처리하여 모든 형질에 같은 가중치를 부여하였으며, Consistency Index(CI; Kluge and Farris, 1969)와 Retention Index(RI; Farris, 1989)를 PAUP^{*} ver. 4.0b10에서 구하였다. NJ는 Kimura's two

Table 1. Materials and collection site of *Carpesium* taxa which were used for ITS regions analysis of nrDNA

Taxon / Abbreviation		Locality	Voucher	Data	Collection number	Genbank accession No.
<i>C. abrotanoides</i> (담배풀)	UM1	Mt. Unmun, Cheongdo-gun	YNUH	2010.09.19	100919007	JQ062529
	UM2	Mt. Unmun, Cheongdo-gun	YNUH	2010.09.19	100919008	JQ062530
	MJ1	Mt. Mujang, Gyeongju-si	YNUH	2010.10.25	101025015	JQ062528
<i>C. cernuum</i> (좁담배풀)	JJ2	Hill Dongbeak, Jeju-si	YNUH	2010.08.11	100810002	JQ062510
	JJ3	Hill Dongbeak, Jeju-si	YNUH	2010.08.11	100810003	JQ062511
	JJ4	Hill Dongbeak, Jeju-si	YNUH	2010.08.11	100810004	JQ062512
	JJ5	Hill Dongbeak, Jeju-si	YNUH	2010.08.11	100810005	JQ062513
	JJ6	Hill Dongbeak, Jeju-si	YNUH	2010.08.11	100810006	JQ062514
	MP1	Mt. Mupoo, Cheongsong-gun	YNUH	2010.09.26	100926012	JQ062515
	MP2	Mt. Mupoo, Cheongsong-gun	YNUH	2010.09.26	100926013	JQ062516
	MP3	Mt. Mupoo, Cheongsong-gun	YNUH	2010.09.26	100926014	JQ062517
	GC4	Mt. Gumbong, Samcheok-si	KWNU	2008.07.18	069197	JQ062509
<i>C. divaricatum</i> (긴담배풀)	UM4	Mt. Unmoon, Cheongdo-gun	YNUH	2010.09.19	100919010	JQ062518
	UM5	Mt. Unmoon, Cheongdo-gun	YNUH	2010.09.19	100919011	JQ062519
<i>C. glossophyllum</i> (애기담배풀)	AG1	Road Jungmun, Seogwipo-si	ANH	2009.08.12	00090812	JQ062520
	AG2	Road Jungmun, Seogwipo-si	ANH	2009.08.12	00090813	JQ062521
<i>C. macrocephalum</i> (여우오줌)	GM1	Mt. Bokgye, Cheorwon-gun	KWNU	2003.08.10	069985	JQ062527
	AM1	Mt. Guemdang, Pyeongchang-gun	ANH	2008.08.20	00080820	JQ062526
<i>C. rosulatum</i> (애기담배풀)	NR1	River Seojungcheon, Namjeju-gun	KH	2004.07.08	42142	JQ062523
	AR1	Road Jungmun, Seogwipo-si	ANH	2009.08.12	00080828	JQ062522
<i>C. triste</i> (두메담배풀)	GT1	Mt. Unmoo, Hoengseong-gun	KWNU	2009.09.03	072314	JQ062524
	GT3	Mt. Chungok, Donghae-si	KWNU	2008.08.30	070450	JQ062525
<i>I. britannica</i>	IB1		NCBI			GU724292
<i>I. germanica</i>	IG1		NCBI			FM995376
<i>R. lanuginosa</i>	RL1		NCBI			FM995406

parameter method(Kimura, 1980)로 수행하였다. ML은 Modeltest ver 3.7(Posada and Crandall, 1998)을 이용하여 적정 모델을 선정하였으며, hLRTs(hierarchical Likelihood Ratio Tests)의 기준을 적용하여 수행하였다. 각 분계도의 지지도는 무작위로 1000회 반복하여 Bootstrap(BS; Felsenstain, 1985)과 Jackknife(JK; Farris *et al.*, 1996) 값을 PAUP* ver. 4.0b10에서 구하였다.

결 과

ITS 염기서열 분석

염기치환모델은 GTR+G model로 나타났으며, 추측된

염기서열의 치환빈도는 A, G, C, T = 0.25, 염기치환율은 A-G = 1.52, C-T = 3.14, A-T, A-C, C-G 및 G-T = 1, gamma distribution shape parameter = 0.21로 나타났다. 7분류군의 ITS 염기서열을 정렬한 결과 길이는 총 731 bp로 나타났으며, 전체적으로 ITS1 지역이 ITS2 지역 보다 길어 다른 피자식물의 경우와 유사했다(Baldwin *et al.*, 1995; Suh *et al.*, 1993; Kim and Jansen, 1994; Sang *et al.*, 1995). ITS1에서 가장 짧은 분류군은 *C. triste*(GT3)가 284 bp였으며, *C. abrotanoides*(UM2)가 297 bp로 가장 긴 분류군 이었다. ITS2는 *C. abrotanoides*(UM1, UM2)가 266 bp로 가장 긴 분류군이며, *C. glossophyllum*(AG1)가 264 bp로 가장 짧은 분류군으로 나타났다. 5.8S는 모든

Table 2. Variation size and G+C% of ITS regions of *Carpesium* and related taxa

Taxon / abbreviation		ITS1		5.8S		ITS2		ITS	
		length (bp)	G+C (%)	length (bp)	G+C (%)	length (bp)	G+C (%)	length (bp)	G+C (%)
<i>C. abrotanoides</i> (담배풀)	UM1	296	51.7	164	55.5	266	53.8	726	52.9
	UM2	297	51.7	164	55.5	266	53.8	727	52.9
	MJ1	296	52.0	164	55.5	265	54.0	725	53.1
<i>C. cernuum</i> (좁담배풀)	JJ2	295	52.9	164	54.3	265	55.5	724	54.0
	JJ3	295	52.9	164	54.3	265	55.1	724	54.0
	JJ4	295	52.9	164	54.3	265	55.5	724	54.0
	JJ5	295	52.9	164	54.3	265	55.3	723	54.0
	JJ6	295	52.9	164	54.3	265	55.1	724	54.0
	MP1	295	52.9	164	54.3	265	55.1	724	54.0
	MP2	295	52.9	164	54.3	265	55.1	724	54.0
	MP3	295	52.9	164	54.3	265	55.1	724	54.0
	GC4	295	52.9	164	54.3	265	55.5	724	54.0
<i>C. divaricatum</i> (긴담배풀)	UM4	295	52.9	164	54.3	265	55.5	724	54.0
	UM5	295	52.9	164	54.3	265	55.5	724	54.0
<i>C. glossophyllum</i> (천일담배풀)	AG1	296	52.0	164	54.3	264	56.4	724	53.9
	AG2	296	52.4	164	54.3	265	56.2	725	53.9
<i>C. macrocephalum</i> (여우오줌)	GM1	295	52.2	164	54.3	265	55.1	724	53.5
	AM1	294	52.4	164	54.3	265	55.1	723	53.5
<i>C. rosulatum</i> (애기담배풀)	NR1	296	52.0	164	54.3	265	56.2	725	53.9
	AR1	296	52.0	164	54.3	265	56.2	725	53.9
<i>C. triste</i> (두메담배풀)	GT1	295	52.2	164	54.3	265	54.7	724	53.3
	GT3	284	51.4	164	54.3	265	54.7	713	53.0
<i>I. britannica</i>	IB1	293	52.2	164	54.9	261	55.9	718	54.0
<i>I. germanica</i>	IG1	294	52.7	164	55.5	265	54.7	723	54.1
<i>R. lanuginosa</i>	RL1	296	51.4	164	56.1	265	53.1	705	53.1

분류군이 164 bp로 동일하게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. DNA의 구조 및 물리적 특징을 결정하여 비율이 높을수록 안정적인 2차 구조를 가지고 있는 G+C(%)의 염기 조성비율은 ITS1에서 모든 *C. divaricatum*와 *C. cernuum*가 52.9%로 가장 높게 나타났으며, *C. triste*(GT3)가 51.4%로 가장 낮게 나타났다. ITS2는 *C. abrotanoides*(UM1, UM2)가 53.8%로 가장 낮게 나타났으며, *C. glossophyllum*(AG1)가 56.4%로 가장 높게 나타났다. 5.8S에서는 모든 *C. abrotanoides*가 55.5%로 가장 높게 나타났으며, 6분류군은 54.3%로 동일하게 나타났다(Table 2).

개체군간의 염기서열 분기도를 Kimura's two parameter

distance로 계산한 결과 내군에서는 *C. divaricatum*(UM4)와 *C. abrotanoides*(UM1)사이에서 6.684%로 가장 높으며, *C. divaricatum*와 *C. cernuum*사이 그리고 *C. glossophyllum*와 *C. rosulatum*사이의 변이가 없어 가장 낮게 나타났다. 외군과 내군에서는 *C. divaricatum*(UM4)와 *R. lanuginosa* 사이에서 9.917%로 가장 높으며, *C. abrotanoides*(MJ1)와 *I. germanica*사이에서 6.392%로 가장 낮게 나타나는 것으로 나타났다(Table 3).

계통학적 분석

정렬된 염기서열 731 bp 중 111개의 염기 변화를 가졌으

Table 3. Pairwise sequence distance of ITS regions between taxa examined. Sequence divergence values ($\times 100$) by Kimura's two parameter

	UM1	UM2	MJ1	JJ2	JJ3	JJ4	JJ5	JJ6	MP1	MP2	MP3	GC4	UM4	UM5	AG1	AG2	GM1	AM1	NR1	AR1	GT1	GT3	IB1	IG1	RL1	
UM1	-																									
UM2	0.000	-																								
MJ1	0.138	0.139	-																							
JJ2	6.676	6.667	6.537	-																						
JJ3	6.681	6.672	6.541	0.000	-																					
JJ4	6.676	6.667	6.537	0.000	0.000	-																				
JJ5	6.681	6.672	6.541	0.000	0.000	0.000	-																			
JJ6	6.681	6.672	6.541	0.000	0.000	0.000	0.000	-																		
MP1	6.681	6.672	6.541	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-																	
MP2	6.681	6.672	6.541	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-																
MP3	6.681	6.672	6.541	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-															
GC4	6.676	6.667	6.537	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-														
UM4	6.684	6.675	6.544	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-													
UM5	6.676	6.667	6.537	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-												
AG1	5.946	5.936	5.785	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	1.260	-											
AG2	6.081	6.071	5.940	1.398	1.398	1.398	1.398	1.398	1.398	1.398	1.398	1.398	1.401	1.398	0.138	-										
GM1	5.768	5.761	5.630	1.255	1.256	1.255	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.255	1.257	1.255	1.121	1.258	-									
AM1	5.769	5.767	5.630	1.256	1.257	1.256	1.257	1.257	1.257	1.257	1.257	1.256	1.259	1.256	1.124	1.261	0.000	-								
NR1	5.927	5.918	5.787	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.259	1.259	0.000	0.138	1.117	1.119	-							
AR1	5.927	5.918	5.787	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.256	1.259	1.256	0.000	0.138	1.117	1.119	0.000	-						
GT1	6.070	6.061	5.931	1.256	1.257	1.256	1.257	1.257	1.257	1.257	1.257	1.256	1.259	1.256	1.122	1.260	0.277	0.278	1.118	1.118	-					
GT3	6.020	6.010	5.880	1.280	1.280	1.280	1.280	1.280	1.280	1.280	1.280	1.283	1.280	1.144	1.286	0.281	0.282	1.140	1.140	0.000	-					
IB1	6.897	6.887	6.734	7.374	7.379	7.374	7.379	7.379	7.379	7.379	7.379	7.374	7.384	7.374	7.224	7.386	6.600	6.606	7.227	7.227	6.756	6.720	-			
IG1	6.534	6.526	6.392	7.474	7.480	7.474	7.480	7.480	7.480	7.480	7.480	7.474	7.484	7.474	6.881	7.020	6.699	6.706	6.864	6.864	6.860	6.823	4.608	-		
RL1	9.890	9.876	9.748	9.903	9.912	9.903	9.912	9.912	9.912	9.912	9.912	9.903	9.917	9.903	9.445	9.591	9.249	9.260	9.422	9.422	9.250	8.916	8.131	8.359	-	

며, 그 중 parsimony informative character는 64개로 약 8.75%로 나타나 Englund *et al.*(2009)의 32.7%보다 낮게 나타났다. MP분석결과 5개의 pasimonious tree (Tree length = 146, CI = 0.877, RI = 0.924)를 얻었으며, 50% Majority-rule consensus tree 결과를 Fig. 1에 표시하였다. 한국산 담배풀속 식물은 ITS 지역에서 하나의 단계를 형성하였다. 담배풀은 100% BS, JK 값으로 분계조를 이루었으며, 외군과 유연관계가 가장 가깝게 나타났다. 나머지 6분류군도 100% BS, JK 값으로 분계조를 이루었으며, 이후 비교적 낮은 수치인 54% BS 값으로 두메담배풀, 여우오줌이 분계조를 형성하고, 비교적 낮은 수치인 51% BS 값으로 천일담배풀, 애기담배풀, 쯤담배풀, 긴담배풀이 분계조를 형성하였다. 또한 천일담배풀과 애기담배풀은 91% BS 값과 81% JK 값으로 하나의 분계조를 형성하고 있었으며, 쯤담배풀과 긴담배풀은 99% BS 값과 98% JK 값으로 하나의 분계조를 형성하였다(Fig. 1). ML 분석결과(Fig. 2)는 50% majority consensus tree(Fig. 1)와 NJ tree(not shown)의 결과와 유사한 패턴으로 나타났다.

고 찰

본 논문은 nrDNA의 ITS 지역 염기서열을 이용하여 한국산 담배풀속(*Carpesium*) 식물의 실제파악과 종 한계 설정 및 유연관계를 파악하고자 하였다.

담배풀은 본 연구결과 100% BS, JK로 가장 기저부에 하나의 분계조를 이루고 있었다. 이는 형태학적으로 두개가 화경 없이 여러 개가 개화하여 나머지 6분류군과 형태적으로 확연한 차이를 가지고 있으며, 유사한 외부형태를 가지는 종이 없어, 독립된 종으로 판단된다.

여우오줌은 본 연구결과 하나의 독립된 분계조를 형성하였다. 이는 엽병에 날개가 있으며, 그 날개의 폭이 넓고, 줄기에 가까이 가도 좁아지지 않는 특징을 가지고 있어 독립된 종으로 판단된다.

두메담배풀은 본 연구결과 여우오줌과 같이 유집되어 형태학적으로 엽병에 날개가 있는 공통형질을 가지고 있어 두 분류군의 유연관계가 가까운 것으로 판단된다. 또한 여우오줌과 다른 분계조를 형성하여 변종이 아닌 하나의 독

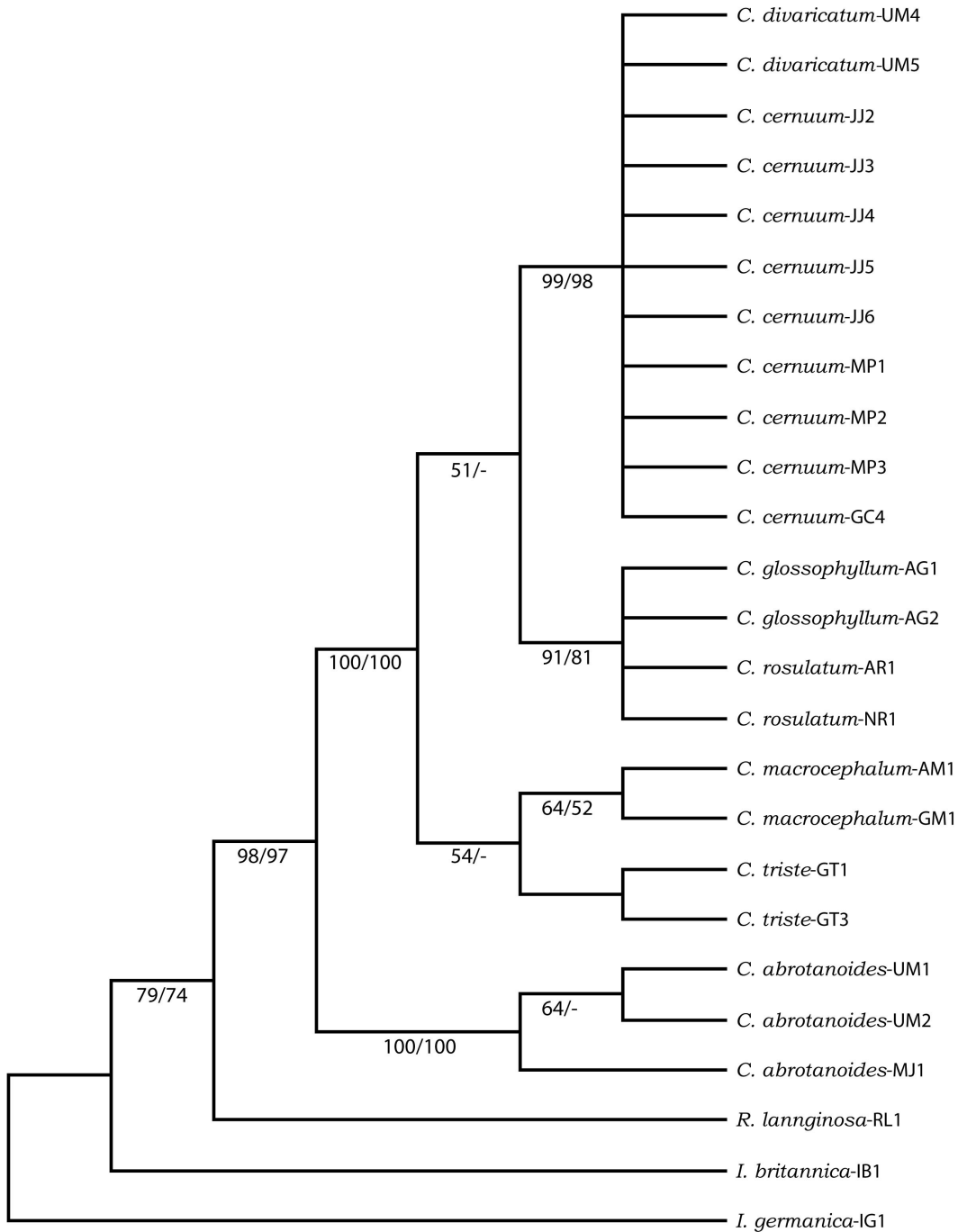


Fig. 1. 50% Majority-rule consensus tree (Length=146, CI=0.877, RI=0.924) based on 64 parsimony informative character changes in ITS sequences of 10 taxa. Bootstrap/Jackknife (1000 replicates) values are found below branches (<50%).

립된 종이라 판단된다. 이는 외부형태학적으로 여우오줌과 다르게 엽병 날개의 폭이 줄기로 가까이 갈수록 좁아지며, 두화의 크기가 작고, 두화의 개수가 많은 차이점을 가지고 있었다.

애기담배풀과 천일담배풀은 본 연구결과 높은 값의 BS

와 JK 값을 가지며 유집되어 형태학적으로 두화의 개화 시 근엽이 남아있는 공통형질을 가지고 있어 두 분류군의 유연관계가 매우 가까운 것으로 판단된다. 또한 애기담배풀과 천일담배풀은 병계원을 형성하여 분지하고 있었으며, 염기서열 간의 유전적 거리의 차이가 거의 없어 nrDNA의

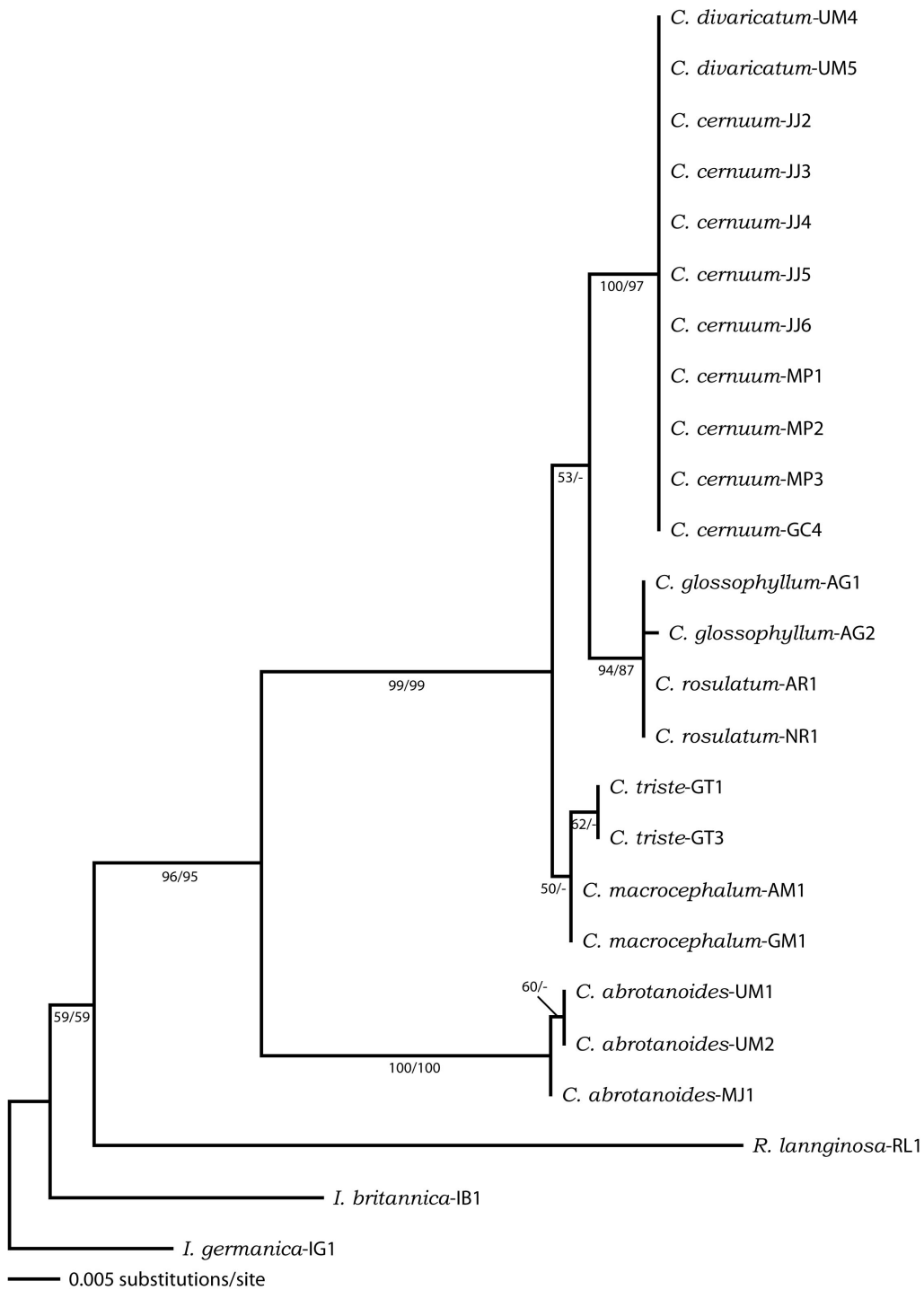


Fig. 2. Maximum likelihood (ML) tree (Phylogram) of ITS sequences of 10 taxa. Bootstrap/Jackknife values are found below branches (<50%).

ITS 지역에서는 분자적으로 두 분류군이 독립적인 종인지 판단할 수 없었다. 이는 형태형질로 애기담배풀은 근엽이 주걱형, 거치 있고, 천일담배풀은 근엽이 피침형, 거치가

거의 없는 형태로 두 분류군을 구별하였으나, 앞의 형태로만 구별하고 있어 nrDNA의 ITS 지역 이외의 다른 marker를 이용한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

좁담배풀과 긴담배풀은 기존 문헌상에서 잎의 엽병과 날개 유무의 차이로 구별하였으나 두 분류군 사이에서 연속적인 변이가 발견되었다. 본 연구결과 높은 BS와 JK 값으로 유집되었으며, 형태형질이 대부분 연속적인 변이를 보이고 있어 두 분류군의 유연관계는 매우 가까운 것으로 판단된다. 또한 좁담배풀과 긴담배풀은 병계원을 형성하고 있었으며, 염기서열 간의 유전적 거리의 차이가 없어 nrDNA의 ITS 지역에서는 분자적으로 두 분류군이 독립적인 종인지 판단할 수 없었다. 이는 형태형질로 좁담배풀은 원추화서의 형태, 긴담배풀은 총상화서의 형태로 개화하는 특징으로 두 분류군을 구별하였으나, 좁담배풀과 긴담배풀은 화서를 제외한 대부분의 형질이 연속적인 변이를 보이고 있어 nrDNA의 ITS 지역 이외의 다른 marker를 이용한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

염기서열 분석결과와 외부형태학적으로는 하나의 분류군이나 염기조성비율, 염기서열 간의 유전적 거리의 차이가 있는 담배풀, 애기담배풀 및 두메담배풀은 개체군 또는 지역적으로 분자적인 차이가 있는 것으로 판단되어 각각의 분류군에 대한 다양한 지역의 개체군 조사가 더 필요한 것으로 판단된다.

다음과 같은 연구결과를 바탕으로 국부적이지만 한국산 담배풀속(*Carpesium*) 식물의 nrDNA의 ITS 지역으로 일부 종간에 분자적인 고유성을 가져 종내 한계 설정과 유연관계를 파악하는데 유용한 자료로 이용될 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2011년도 교육과학기술부 지정 정책중점연구소 지원 사업에 의해서 연구되었습니다.

적 요

한국산 담배풀속(*Carpesium* L.) 7분류군과 3개의 외군(*Inula britannica* L., *Inula germanica* L., *Rhanterioopsis lanuginosa*(DC.) Rauschert)을 대상으로 유연관계를 파악하기 위하여 nuclear ribosomal DNA(nrDNA) 중 ITS(internal transcribed spacer) 지역의 계통분류학적 분석을 수행하였다. 계통분류학적 연구방법은 maximum parsimony, neighbor-joining와 maximum likelihood 방법을 사용하였다. 정렬된 계통분류의 총 길이는 731 bp이며, ITS1, ITS2

와 5.8S 부위의 길이는 각각 284~297 bp, 264~266 bp와 164 bp로 나타났다. 계통분류학 변이를 보이는 site는 111개로 확인 되었으며, 그 중 64개의 site가 계통학적으로 유효한 것으로 나타났고, ITS1 지역이 ITS2 지역보다 염기 변이가 다양하게 나타나는 것으로 확인되었다. 그 결과, 한국산 담배풀속은 단계통을 형성하였으며, 담배풀(*C. abrotanoides* L.)이 가장 기저부에 위치하였다. 여우오줌(*C. macrocephalum* Franch. & Sav.)와 두메담배풀(*C. triste* Maxim.)은 가까운 유연관계를 나타냈으며, 애기담배풀(*C. rosulatum* Miq.)와 천일담배풀(*C. glossophyllum* Maxim.) 그리고 좁담배풀(*C. cernuum* L.)와 긴담배풀(*C. divaricatum* Siebold & Zucc.)도 유연관계가 가깝게 나타났다. 이와 같은 결과로 담배풀속 nrDNA의 ITS 지역 염기서열에 기초한 분자계통학적 연구는 계통분류를 이해하는데 유용한 방법으로 판단된다.

인용문헌

- Álvarez, I. and J.F. Wendel. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Mol. Phylogenet Evol.* 29:417-434.
- APG II. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141:399-436.
- Arano, H. 1962. Cytotaxonomic studies in subfamily Carduoidea of Japanese Compositae. Vol. IV. Karyotype analysis in genus *Carpesium*. *Bot. Mag. Tokyo* 53:1762-1777 (in Japanese).
- 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.
- _____, 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 on angiosperm phylogeny. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82:247-277.
- Chung, T.H., B.S. Do, D.B. Lee and H.J. Lee. 1937. Genus *Carpesium*. In *Nominia Plantarum Koreanum*. Chosen Nat. Hist. Inst., Seoul, Korea. p. 162 (in Korean).
- _____. 1956. Korean Flora. Vol. II. Herbaceous plants. Shinjisa, Seoul, Korea. pp. 685-688 (in Korean).
- Drummond, A.J., B. Ashton, S. Buxton, M. Cheung, A. Cooper, C. Duran, M. Field, J. Heled, M. Kearse, S. Markowitz, R.

- Moir, S. Strones-Havas, S. Sturrock, T. Thierer and A. Wilson. 2011. Geneious pro ver. 5.5, Available from <http://www.geneious.com/>.
- Englund, M., P. Pornpongrueng, M.H.G. Gustafsson and A.A. Anderberg. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inulinase (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics* 25(4):319-352.
- Farris, J.S. 1989. The retention index and homoplasy excess. *Syst. Zool.* 38(4):406-407.
- _____, V.A. Albert, M. Källersjö, D. Lipscomb and A.G. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* 12:99-124.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4):783-791.
- 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. *Plant Syst. Evol.* 190:157-185.
- Kim, Y.D., J.W. Park, B.Y. Sun, K.J. Kim, E.J. Lee and S.H. Kim. 2005. ITS sequence variations in common ragweed and giant ragweed. *Korean J. Plant Taxon.* 35(4):273-285 (in Korean).
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequence. *J. Mol. Evol.* 16:111-120.
- Kluge, A.G. and J.S. Farris. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst. Zool.* 18(1):1-32.
- Komarov, V.L. 1903. *Flora of Manshuria*. Vol. VII. Daehanmaeilsinmunsa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 51-55.
- Lee, T.B. 1980. *Illustrated flora of Korea*. Hyangmunsa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 139-145 (in Korean).
- _____. 2003. *Coloured Flora of Korea*. Vol. II. Hyangmunsa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 307-310 (in Korean).
- Lee, W.T. 1996. *Lineamenta florum Koreae*. Academy Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 1116-1118 (in Korean).
- Lee, Y.N. 1996. *Flora of Korea*. Gyohaksa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 779-781 (in Korean).
- _____. 2006. *New Flora of Korea*. Vol. II. Gyohaksa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 279-281 (in Korean).
- Loockerman, 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 Univ. Press, New York, USA. pp. 205-220.
- Linnaeus, C. 1753. *Species Plantarum*. pp. 266-267.
- Makino, T. 1922. *A Contribution to the Knowledge of the Flora of Japan*. Vol. II. Japanese J. Bot. p. 22.
- Nakai, T. 1909. *Flora Koreana* Vol. I. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 26:506.
- _____. 1911. *Flora Koreana* Vol. II. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 31:17-18.
- _____. 1952. *A Synoptical Sketch of Korean Flora*. Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo. 31:115.
- Park, C.W. 2007. *The genera of vascular plants of Korea*. Academy Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 997-998.
- Park, M.K. 1949. Genus *Carpesium*. *In* *An Enumeration of Korean Plants*. Ministry of Education. Seoul, Korea. pp. 133-134 (in Korean).
- Posada, D. and K.A. Crandall. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14(9):817-818.
- Sang, T., D.J. Crawford, T.F. Stuessy and O.M. Silva. 1995. ITS sequences and the phylogeny of the genus *Robinsonia* (Asteraceae). *Syst. Bot.* 20:55-64.
- Son, S.W., J.H. Kim, Y.S. Kim and S.J. Park. 2007. ITS sequence variations in population of *Ilex cornuta* (Aquifoliaceae). *Korean J. Plant Taxon.* 37(2):131-141 (in Korean).
- 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. *American J. Bot.* 80:1042-1055.
- Swofford, D.L. 2003. *PAUP* : Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods)*. ver. 4.0b10 Sinauer Associates. Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- White, T.J., T. Birns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* Gelfand, D., J. Sninsky and T. White (eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, USA. pp. 315-322.
- Zarin, P., F. Ghahremannejad and A.A. Maassoumi. 2010. Comparative anatomy and pollen features of *Amblyocarpum* and *Carpesium* (Asteraceae: Inuleae) in Iran. *Iran. J. Bot.* 16(1):49-53.

(접수일 2011.11.24; 수정일 2011.12.22; 채택일 2012.2.8)