



Molecular phylogenetic study of section *Sabina* (Genus *Juniperus*) in Korea based on chloroplast DNA *matK* and *psbA-trnH* sequences data

Jeong-Ki Hong, Jong-Cheol Yang*, Seung-Hwan Oh and You-Mi Lee

Korea National Arboretum, Pocheon, Gyeonggi-do 487-821, South Korea
(Received 31 December 2013; Revised 20 February 2014; Accepted 11 March 2014)

엽록체 DNA *matK*와 *psbA-trnH* 염기서열에 기초한 한국산 향나무절(향나무속) 식물의 분자계통학적 연구

홍정기 · 양종철* · 오승환 · 이유미

국립수목원 산림생물조사과

ABSTRACT: This study aims to define the phylogenetic relationship within Korean section *sabina* and find molecular markers which resolve the phylogenetic relationship in genus *Juniperus* and section *sabina*. cpDNA *matK* and *psbA-trnH* were used as molecular markers. The combined analyses of two genes suggested that section *sabina* was a clade supported by 100% BP. The relationships of [*J. chinensis* var. *sargentii*+*J. davurica*] clade and [*J. chinensis* var. *chinensis*+*J. chinensis* var. *procumbens*+*J. chinensis* var. *horizontalis*] clade were supported by 91% BP and 100% BP, respectively. Thus, the classification of Korean section *sabina* would be appropriate at follows, (1) *J. chinensis* var. *sargentii*+*J. davurica*, and (2) *J. chinensis* var. *chinensis*+*J. chinensis* var. *procumbens*. According to the results of separate analyses, *matK* seems to work better resolving power to clarify the phylogenetic ambiguity in *Juniperus* and section *sabina* than *psbA-trnH*.

Keywords: Section *Sabina*, Molecular phylogeny, *matK*, *psbA-trnH*

적 요: 한국산 향나무절 식물에 대한 계통학적 유연관계를 규명하고, 더불어 향나무속 및 향나무절의 계통 및 유연관계를 잘 나타낼 수 있는 분자마커를 찾아내고자 분자계통학적 연구를 수행하였다. 엽록체 DNA *matK*와 *psbA-trnH*를 분자마커로 활용하였으며, 두 유전자의 조합분석결과 향나무절이 100%의 BP로 지지되는 분계조를 이루었다. 눈향나무+단천향나무 분계조와 향나무+섬향나무+뚝향나무 분계조는 각각 91%, 100%의 BP로 지지되었다. 따라서 한국산 향나무절은 (1) 눈향나무+단천향나무, (2) 향나무+섬향나무+뚝향나무 두 개의 분계조로 구분하는 것이 가장 적합할 것으로 생각되고, 본 연구에서 이용된 두 개의 분자마커 중 *matK*가 *psbA-trnH*보다 향나무속 및 향나무절의 계통 및 유연관계를 규명하는데 다소 높은 해상력을 나타내었다.

주요어: 향나무절, 분자계통, *matK*, *psbA-trnH*

향나무속(*Juniperus* L.)은 소나무아강(Pinidae Cronquist, Takhtajan & Zimmermann), 측백나무과(Cupressaceae Gray)에 포함되는 식물군으로 북반구에 주로 분포하고 있으며,

전 세계적으로 약 60여분류군이 분포하고 있다(Fu et al., 1999; Adams et al., 2002). 또한, 향나무속은 구과가 육질이 고, 구과가 성숙한 후에도 열개하지 않거나 조금만 열개 하며, 종자에 날개가 없다는 특징으로 다른 측백나무과 식물들과 뚜렷하게 구분되는 단계통군으로 알려져 있다(Fu et al., 1999; Little, 2006).

향나무절(Section *Sabina*)은 북반구 중에서도 동쪽에 주로 분포한다. 바늘형과 비늘형의 잎을 모두가지고, 밑부

*Author for correspondence: yangun@forest.go.kr

분에 마디가 없으며, 구화수가 잔가지에 달리고, 실편이 3-8장씩 십자대생하거나 둘러나는 형태적인 특징으로 노간주나무절(Section *Juniperus*)과 구분되며, 전 세계적으로 약 50여 분류군이 분포하고 있다(Adams, 1999; Fu et al., 1999). 한반도에는 향나무(*Juniperus chinensis* L. var. *chinensis*), 섬향나무 (*J. chinensis* L. var. *procumbens* (Siebold) Endl.), 눈향나무(*J. chinensis* L. var. *sargentii* A. Henry), 뚝향나무 (*J. chinensis* L. var. *horizontalis* Nakai)와 북한 백두산지역에 단천향나무 (*J. davurica* Pall.)의 5분류군이 분포하는 것으로 알려져 있다(Korea National Arboretum and The Plant Taxonomic Society of Korea. 2007).

Farjon (2005)은 전 세계 향나무속 52분류군을 대상으로 비늘잎이 없는 노간주나무절(그룹 1)과 비늘잎이 대부분인 향나무절(그룹 2), 비늘잎이 대부분인 향나무절(그룹 3)으로 나누었다. 한국산 향나무절 식물들인 향나무와 눈향나무, 단천향나무는 그룹 3에 포함되었으며, 섬향나무는 비늘잎이 대부분인 그룹 2에 포함시키면서 섬향나무의 학명을 *Juniperus procumbens*를 사용하여 별도의 종수준으로 처리하였다.

Adams et al.(2002)이 RAPD에 의한 동아시아산 향나무속의 계통연구를 실시한 결과 향나무절 내에서 향나무, 눈향나무, *Juniperus chinensis* var. *tsukusiensis*가 하나의 분계조를 형성하고, 섬향나무가 다른 분계조를 형성하는 것으로 보고하였다.

이후 Mao et al.(2010)이 *matK*, *rbcl* 등 9개의 엽록체 DNA와 핵 DNA인 ITS를 이용하여 향나무속을 중심으로 측백나무과에 대하여 분자분류학적 연구를 수행한 결과 향나무절 내에서 향나무와 섬향나무가 분계조를 형성하였고, 단천향나무가 다른 분계조에 포함되었으며, 눈향나무는 연구에 이용되지 않았다.

Adams and Schwarzbach (2012)는 *trnL-F* 등 4개의 엽록체 DNA와 핵 DNA인 ITS를 이용하여 향나무절의 분자분류학적 연구를 수행한 결과 향나무와 섬향나무가 가장 근연관계에 있으며, 눈향나무와, 단천향나무는 각각 다른 분계조를 이루는 것으로 보고하였다. 또한 섬향나무를 향나무의 변종으로 처리하여 Adams et al. (2002)의 결과와 차이를 보였다.

국내 연구로는 Kim (1988)이 단천향나무를 제외한 국내 향나무속 식물 10분류군에 대하여 형태형질 연구를 시행하였으나, 향나무절 내 뚜렷한 분류형질은 제시하지 못하였다. 그 외 향나무절에 대하여 화분의 특성(Kim et al., 1997)과 엽색체 핵형분석 연구(Park, 1986)가 수행되었으나 향나무절 분류군들에 대한 명확한 유연관계를 나타내지는 못하고 있다.

Sihn(2010)은 우리나라 나자식물 전반에 대한 DNA barcoding 연구를 수행하였으나 향나무절 분류군은 향나무와 눈향나무만이 다루어져 전체적인 향나무절 관계를 파악하기에 어려움이 있다.

위 내용과 같이 아직까지 우리나라 향나무절에 대한 연구는 부분적이거나 형태적인 연구만이 주로 이루어져 있는 상황으로, 본 연구에서는 형태적으로 유사한 한국산 향나무절 분류군들에 대하여 분자계통학적 연구를 수행함으로써 근연분류군 간의 유전적 유연관계 및 지리학적 분포특성을 파악하고자하였다.

재료 및 방법

1. 지리적 분포연구

우리나라 향나무절 식물의 분포를 파악하기 위하여 국립생물표본관(KH) 소장 표본을 검토하였으며, 북한지역의 분포는 Chung (1943), Uykei (1926)의 문헌을 통해 확인하였고, 국외 분포파악을 위하여 Farjon (2005)의 문헌을 참고하였다. 또한 향나무의 울릉도 외 추가분포 파악을 위하여 Shin (2013)의 문헌을 검토하였다.

2. DNA분석을 위한 연구 재료

한국산 향나무절 식물의 분자계통학적 유연관계를 밝혀내기 위하여 향나무절 식물 4분류군(향나무, 눈향나무, 섬향나무, 단천향나무)에 대하여 2011년부터 2013년까지 현지 조사를 통하여 직접 확보하였으며, 단천향나무는 러시아 지역에서 수집된 표본을 활용하였다. 또한 Mao et al.(2010)의 연구에서 군외군으로 사용되었던 눈측백속(*Thuja* L.) 2분류군과 노간주나무절 2분류군을 군외군으로 이용하였다. 본 연구에서 사용한 식물재료의 표본 정보는 Table 1에 정리하였다. 본 연구를 통해 확보한 식물재료의 증거표본은 국립수목원표본관(KH)에 보관하였다.

향나무절에 포함되어 있는 뚝향나무는 아직까지 식재되어진 것만이 확인될 뿐 한반도 내 자생지 분포가 확인되지 않고 있으며, 수형에 의한 생태적 특성으로 구분되어지는 분류군으로 본 연구대상에서는 제외하였다.

3. DNA의 추출

DNA 추출을 위해 확보한 재료의 잎을 Silica gel로 건조시켜 사용하였으며, 건조표본을 이용할 경우 가능한 최근에 수집된 표본의 어린잎을 사용하였다. Total genomic DNA는 DNeasy plant mini kit (QIAGEN, Germany)을 이용하여 공급자의 매뉴얼에 따라 추출하였다. 추출한 DNA는 1.5% agarose gel로 전기영동하여 추출여부를 확인하였다.

4. 염기서열 분석지역

본 연구에서 향나무절의 분자계통학적 분석을 위해 엽록체 DNA *matK*와 *psbA-trnH* region을 이용하였다.

5. PCR을 이용한 유전자 증폭반응

유전자 증폭을 위한 증합효소 연쇄반응은 1 μ L의 template DNA가 포함된 100 μ L의 PCR reaction solution (10X

Table 1. List of taxa, voucher information, geographic origin, and accession numbers for plant materials used in this study.

Taxa	Korean name	Locality	Voucher No.	Accession No.*	
				<i>matK</i>	<i>trnH-psbA</i>
<i>Juniperus chinensis</i> L. var. <i>chinensis</i>	향나무	Ulleungdo(Is.), Ulleung-gun, Gyeongsangbuk-do, Korea	<i>K-S Kim, 110108</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>procumbens</i> (Siebold) Endl. (A)	섬향나무	Daehuksando(Is.), Sinan-gun, Jeollanam-do, Korea	<i>K-S Kim, 110017</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>procumbens</i> (Siebold) Endl. (B)	섬향나무	Gangjin-gun, Jeollanam-do, Korea	<i>K-S Kim, 100045</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>sargentii</i> A. Henry (A)	눈향나무	Hallasan(Mt.), Jeju-si, Jeju-do, Korea	<i>J-K Hong, 110002</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>sargentii</i> A. Henry (B)	눈향나무	Gayasan(Mt.), Hapcheon-gun, Gyeongsangnam-do, Korea	<i>C-H Lee & C-S Jang, 90362</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>sargentii</i> A. Henry (C)	눈향나무	Seoraksan(Mt.), Inje-gun, Gangwon-do, Korea	<i>C-H Lee & C-S Jang, 90521</i>	○	○
<i>J. chinensis</i> L. var. <i>sargentii</i> A. Henry (D)	눈향나무	Korea National Arboretum, Pocheon-si, Korea	<i>J-K Hong, 130005</i>	○	○
<i>J. davurica</i> Pall.	단천향나무	Primorye, Russia	<i>KHB1061006</i>	○	○
<i>J. rigida</i> Siebold & Zucc.	노간주나무	Bibongsan(Mt.), Uiseong-gun, Gyeongsangbuk-do, Korea	<i>K-S Kim, 110009</i>	○	○
<i>J. conferta</i> Parl.	해변노간주	Eocheongdo(Is.), Gunsan-si, Jeollabuk-do, Korea	<i>J-K Hong, 110015</i>	○	○
<i>Thuja koraiensis</i> Nakai	눈측백	Seoraksan(Mt.), Inje-gun, Gangwon-do, Korea	<i>K-S Kim, 110120</i>	○	○
<i>T. occidentalis</i> L.	서양측백	Korea National Arboretum, Pocheon-si, Korea	<i>K-S Kim, 100162</i>	○	○

*○: indicated that the gene was analyzed in this study and not yet given the accession number of those sequences from NCBI

Table 2. Sequences and reference of primers for amplifying and analyzing the sequences of the chloroplast DNA of *matK*, *psbA-trnH* gene.

Region	Primer	Sequences (5'-3')	Reference
<i>matK</i>	<i>matK</i> aF	AATGGATGAVTTCCAAGADAR	This study
	<i>matK</i> bF	ATTTCATCCRGAAATTTTGGTTC	This study
	<i>matK</i> aR	TKCCAAATTCGTTCTCTCTC	This study
	<i>matK</i> bR	AGATRATACTACATTTTTKACTW	This study
<i>psbA-trnH</i>	<i>trnH</i>	CGCGCATGGTGGATTCAACAATCC	CBOL Plant Working Group(2009)
	<i>psbA</i>	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	CBOL Plant Working Group(2009)

MGTM Taq-*HF* buffer 10 μ L, 2 mM MGTM dNTP mixture 10 μ L, 10 pmol primer 5 μ L(X2), MGTM Taq-*HF* polymerase 1 μ L, 증류수)을 이용하였다. PCR thermal cycle 과정은 94°C에서 45초간 denaturation, 59°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 35회 반복하였다. 각각의 유전자 지역을 증폭하기 위해 사용한 primer의 염기서열은 Table 2에 정리하였다.

6. PCR product의 정제와 염기서열 결정

PCR products는 Montage PCR Cleanup Kit (Millipore, USA)를 이용하여 공급자의 매뉴얼에 따라 정제하였으며, 정제된 PCR products를 cycle sequencing 반응의 주형으로

사용하였다.

Cycle sequencing 반응은 Big Dye terminator cycle sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems, USA)를 사용하였으며, 대상 유전자의 길이가 1kb를 넘는 *matK*의 경우 구간 내부의 primer를 이용하여 cycle sequencing하였다. 염기서열의 결정은 3730XL automated DNA sequencing system (Applied Biosystems, USA)을 이용하였다.

7. 염기서열 정렬과 계통수 구축

각 유전자의 염기서열은 Sequencher (ver. 4.5, Gene Codes Co. USA)를 이용하여 조합하였다. 염기서열의 분석을 위하여 직접 염기서열을 정렬하였다.

계통수 구축은 PAUP program (ver. 4.0b10, Swofford, 2002)을 이용하였으며, 형질에 있어서 가중치는 모두 동일하게 처리하였고, 전체 염기서열 중 gap은 모두 결여형질(missing character)로 처리하였으며, 정렬된 염기서열의 모든 형질은 ‘unordered’, ‘unweighted’ character로 설정하였다. PAUP에 의해 가장 짧은 경로를 가지는 계통수를 산출하기 위해 exhaustive search를 통해 최대절약분석(maximum parsimony analysis)을 실시하였으며, 이에 따른 option으로는 ACTRAN, ‘TBR’ branch swapping, ‘MULPARS’로 최적화하였다. 계통수에서 각 절에 대한 신뢰도를 산출하기 위해서 2개 이상의 tree가 도출된 유전자의 경우 strict consensus tree(완전일치계통수)를 구한 후, Bootstrap 분석(Felsenstein, 1985)을 1,000회 반복하여 bootstrap value를 산출하였다. 또한, *matK*와 *psbA-trnH* region에 대한 계통수뿐만 아니라 두 유전자의 염기서열을 조합한 계통수도 함께 작성하였다. Maximum likelihood analysis는 GTR + I + Γ 모델을 적용하여 RAxML BlackBox(<http://phylobench.vital-it.ch/raxml-bb/>)를 이용하였고, Bootstrap value는 위에 제시된 최대절약분석 방법을 통해 산출하였다.

결 과

1. 지리적 분포

향나무절 4분류군에 대한 표본 및 문헌검토 결과 향나무는 중국의 안후이성과 관동성 등 남동쪽과 일본 그리고 우리나라 울릉도와 동해안 일대에 분포하며, 섬향나무는 일본 오키나와 일부지역과 우리나라 전남 해안과 섬지역에 분포한다. 눈향나무는 중국 흑룡강성지역과, 러시아 극동지역, 일본 혼슈지역에 일부 분포하며, 우리나라에서는 백두산 지역에서 백두대간 능선부를 따라 제주 한라산까지 분포하는 것으로 확인되었다. 단천향나무는 우리나라 백두산지역에서부터 중국 흑룡강성과 몽골, 러시아 극동부지역에 분포한다.

2. 염기서열 변이 양상

***matK* 유전자의 염기서열 변이** : 4분류군의 향나무절에 대한 *matK* 유전자를 분석하였으며, 1,186 bp (향나무, 섬향나무)~1,198 bp (눈향나무, 단천향나무)의 길이변이를 보였다. 다중정렬된 염기서열의 길이는 1,210개이고, 전체 염기서열 중 1,134개는 일정하였고, 76개의 변이가 있었으며, 그 중 72개가 계통학적으로 유효하였다. G+C의 함량은 32.7%이었다(Table 3).

***psbA-trnH* region의 염기서열 변이** : 4분류군의 향나무절에 대한 *psbA-trnH* region을 분석하였으며, 387 bp (눈향나무)~480 bp (향나무, 섬향나무)의 길이변이를 보였다. 다중정렬된 염기서열의 길이는 524개이고, 전체 염기서열 중 442개는 일정하였고, 82개의 변이가 있었으며, 그 중

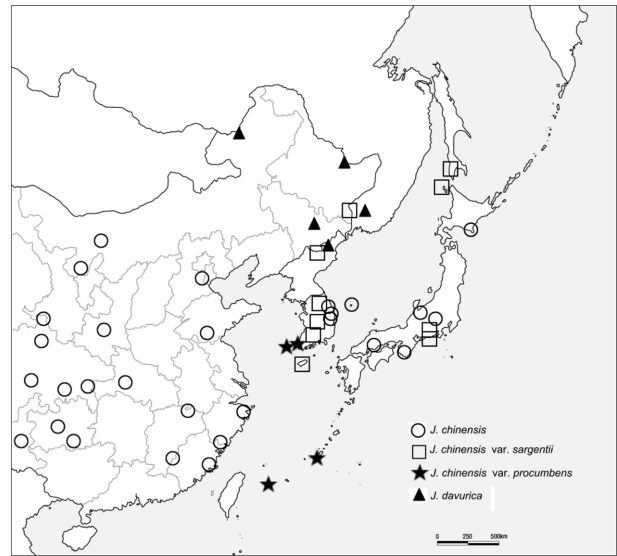


Fig. 1. Distribution of 4 taxa in section *Sabina*.

Table 3. Values and statistics of the data matrices.

	<i>matK</i> (I)	<i>psbA-trnH</i> (II)	I+II
Number of taxa analyzed	8	8	8
Aligned sequences (bp)			
section <i>Sabina</i> in Korea	1,186 ~1,198	387~480	1,585 ~1,666
Length variation (bp)			
<i>J. chinensis</i> var. <i>chienesis</i>	1,186	480	1,636
<i>J. chinensis</i> var. <i>procumbens</i>	1,186	480	1,666
<i>J. chinensis</i> var. <i>sargentii</i>	1,198	387	1,585
<i>J. davurica</i>	1,198	465	1,663
Mean of G+C (%)	32.7	33.6	32.9
Number of informative site	72	74	146
Number of constant site	1,134	442	1,576
Number of variable site	76	82	158
Number of most parsimonious trees	1	396	99
Tree length	79	85	164
Consistency index (CI) of MP tree	0.987	0.976	0.982
Retention index (RI) of MP tree	0.990	0.976	0.984
-ln L value	-	-	3185.40277

74개가 계통학적으로 유효하였다. G+C의 함량은 33.6%이었다(Table 3).

3. 분자계통학적 분석결과

모든 염기서열 분석은 눈측백속 2종을 균외군으로 설정하여 유연관계를 검토하였다.

matK 유전자 : 4분류군에 대한 염기서열을 분석한 결과 79 step의 길이를 갖는 1개의 MP tree(CI = 0.987, RI = 0.990)를 도출하였다(Fig. 4). MP tree에서는 향나무절이 99%의 BP로 지지되는 분계조를 형성하는 것으로 확인되었으며, 향나무절 내에서 두 개의 분계조를 형성하였다. 향나무+섬향나무 분계조는 100%의 BP로, 눈향나무+단천향나무 분계조는 95%의 BP로 지지되었다.

psbA-trnH region : 4분류군에 대한 염기서열을 분석한 결과 85 step의 길이를 갖는 396개의 MP tree(CI = 0.976, RI = 0.976)를 도출하였다(Fig. 4). MP tree에서는 향나무절이 균외군인 노간주나무절 식물물들과 함께 붕괴된 node 내에서 100%의 BP로 지지되는 분계조를 형성하는 것으로 확인되었다. 향나무절 내에서는 향나무+섬향나무 분계조가 73%의 BP로, 눈향나무+단천향나무 분계조는 59%의 BP로 지지되었다.

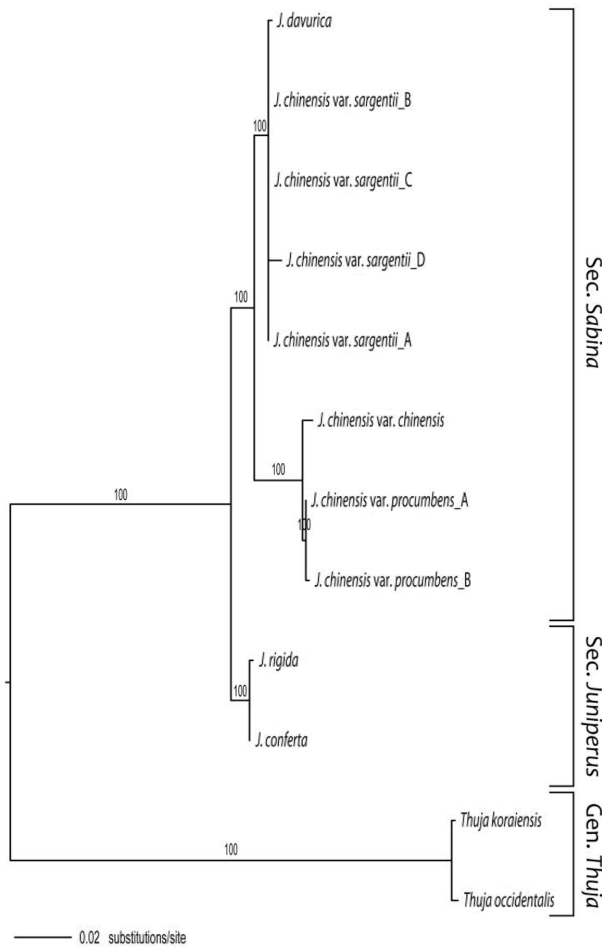


Fig. 2. ML tree based on the plastid DNA [*matK*+*psbA-trnH* region] sequences from the section *Sabina*. Bootstrap value are presented on the branches(-ln L value : 3185.40277).

matK 유전자와 psbA-trnH region 조합분석 : 4분류군에 대한 염기서열을 분석한 결과 164 step의 tree length를 갖는 99개의 strict consensus tree(CI=0.982, RI=0.984)를 도출하였다(Fig. 3). MP tree에서는 향나무절이 93%의 BP로, 향나무+섬향나무 분계조와 눈향나무+단천향나무 분계조는 100%의 BP로 지지되었다. ML tree에서는 향나무절과 향나무절 내의 두 분계조 모두 100%의 BP에 의해 지지되었다(Fig. 2).

고찰

향나무절 식물의 DNA 분석을 통한 계통학적 유연관계

본 연구의 결과에서는 향나무절이 바늘형과 비늘형의 잎을 모두가지고, 밑부분에 마디가 없으며, 꽃이 잔가지에 달리고, 실편이 3-8장씩 십자대생하거나 돌려난다는 공통형질을 갖는 단계통군이라는 것을 일부 지지하고 있다(Fig. 2, 3). 하지만 Fig. 2와 3에서 제시된 바와 같이 *matK*와 *psbA-trnH* region의 조합분석에서 얻어지는 결과는 최근 제시되고 있는 향나무절에 대한 분자계통학적 연구와 다소 상이한 결과를 나타낸다(Adams et al., 2002; Adams and Schwarzbach, 2012). Adams et al.,(2002)은 RAPD분석을

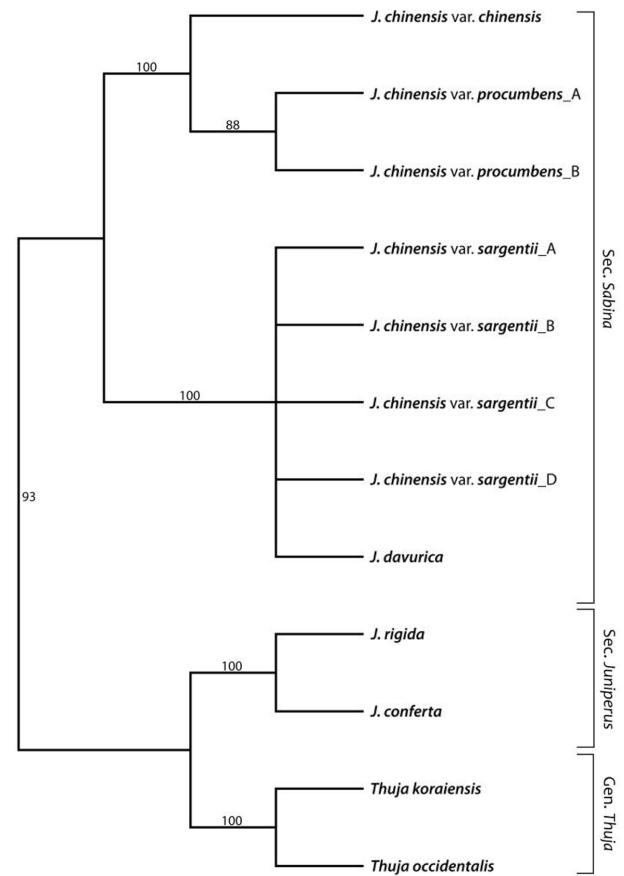


Fig. 3. Strict consensus tree based on the plastid DNA [*matK*+*psbA-trnH* region] sequences from the section *Sabina*. Bootstrap value are presented on the branches.

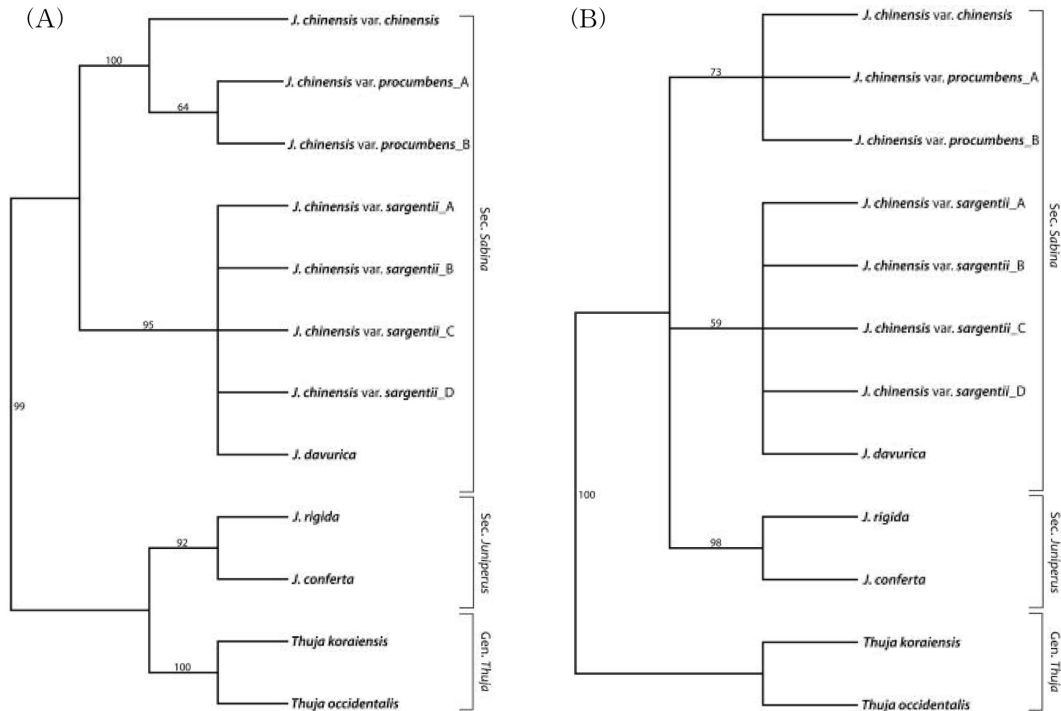


Fig. 4. One of the MP tree (A) and strict consensus tree (B) based on the plastid DNA *matK* (A) and *psbA-trnH* region (B) sequences from the section *Sabina*. Bootstrap value are presented on the branches.

통해 향나무와 눈향나무가 근연관계로 같은 분계조를 형성하고 있으며, 이에 비해 섬향나무는 다른 분계조를 이루는 것으로 보고하면서 섬향나무를 별개의 종수준으로 처리하였다. 그 후 Adams and Schwarzbach (2012)은 향나무 절 식물의 nrDNA와 cpDNA 분석을 통해 향나무와 섬향나무, 눈향나무가 같은 분계조를 형성하나 섬향나무가 눈향나무에 비해 향나무와 더욱 근연관계인 것으로 보고하였으며, 단천향나무는 향나무, 섬향나무, 눈향나무와는 다른 분계조를 이루는 것으로 보고하였다. 본 연구결과에서는 기존 연구에서(Adams and Schwarzbach, 2012) 향나무, 섬향나무와 가깝게 유집되었던 눈향나무가 향나무, 섬향나무와 같은 분계조를 형성하지 않고, 단천향나무와 100%의 BP에 의해 지지되며 같은 분계조를 형성하였다는 점이다(Figs. 2, 3, 4). Adams and Schwarzbach (2012)의 연구와 본 연구의 결과차이가 Adams and Schwarzbach (2012)에서 사용된 향나무, 섬향나무, 눈향나무가 일본에서 수집되었고, 단천향나무가 몽골에서 수집되었다는 지리적인 요인인지, 사용된 분자마커에서 비롯된 것인지는 정확히 알 수 없으나 본 연구의 결과를 보았을 때 눈향나무는 향나무, 섬향나무와는 뚜렷하게 구분된다.

본 연구에서 계통수분석에 이용된 두 유전자의 분석 결과는 서로 차이를 보였다. *matK* 유전자를 이용한 결과에서는 향나무 절 내의 식물들간 분계조가 *psbA-trnH* region에 비하여 다소 잘 형성된 반면 *psbA-trnH* region에서는 향나무 절 식물들과 노간주나무 절 식물들이 붕괴된 node 내

에 위치하는 결과를 나타냈다(Fig. 4). *matK* 유전자는 coding gene이고, 향나무 절 내에서 염기의 length variation이 뚜렷하게 나타나는 것을 보아 향나무 절 및 향나무 속의 계통을 규명하는데 있어 다소 높은 해상력을 제공할 수 있을 것으로 생각된다. 반면 *psbA-trnH* region은 non-coding gene이고, 6 bp 길이의 indel이 두 개, 29 bp 길이의 indel과 47 bp 길이의 indel이 각각 하나씩 관찰되었으나 indel을 제외 한 나머지 염기에서 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 향후 이루어질 연구에서는 *matK* 유전자를 포함하여 다른 유전자를 이용하는 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구결과 향나무 절이 단계통군이라는 기존의 연구 결과를 일부 지지할 수 있을 것으로 판단되고, *matK* 유전자가 향나무 절 및 향나무 속의 계통을 규명함에 있어서 *psbA-trnH* region에 비하여 다소 높은 해상력을 제공할 수 있을 것으로 생각된다. 한국산 향나무 절은 (1) 향나무+섬향나무 분계조 (2) 눈향나무+단천향나무 분계조의 두 분계조로 구분하는 것이 적합할 것으로 생각된다.

향나무 절 식물의 지리적 분포 특성

우리나라에 분포하는 향나무 절은 동아시아 지역(중국, 일본, 러시아, 몽골)에 한정되어 분포하지만 분류학적 특성이 명확하지 않아 정확한 분포를 파악하기는 힘든 상황이다. 예를 들어 Ohwi (1965)는 일본 Kyushu의 해안가에 섬향나무가 분포하는 것으로 보고하였으나 Farjon (2005)은 Ohwi (1965)가 해변노간주(*Juniperus conferta*)를 섬향나

무로 오동정한 것으로 판단하였고, 일본 내 섬향나무는 Okinawa 지역에 한정되어 분포하는 것으로 보고하였다. 또한 우리나라 향나무의 분포에 대하여 Chung (1943)과 Uyeki (1926)는 울릉도를 비롯하여 북한의 황해도 지역에 분포하는 것으로 보고하였으나 지리적 제한으로 인해 확인이 어려운 상황이다.

향나무의 주요 분포지는 중국, 일본, 몽골, 한국으로 중국은 안후이성과 관동성 등의 남동쪽과 우리나라 서해안에 인접하는 지역에 주로 분포하며, 일본은 Honshu 지역에 분포하고(Farjon, 2005), 우리나라는 울릉도와 동해안 일대에 분포한다. 향나무가 중국과 인접한 우리나라 서해안 지역에는 분포하지 않고 동해안 지역에 분포하는 것은 지리적으로 특이한 일이다. 본 연구에서 향나무와 유전적으로 유사한 섬향나무가 서남해안 섬지역(대흑산도 등)에 분포하는 것으로 미루어 볼 때 서해안 지역에 분포하던 향나무가 환경의 변화에 적응하여 섬향나무로 분화된 것으로 판단된다. Huh et al.(2000)은 우리나라 향나무속 노간주나무절(sect. *Juniperus*)의 노간주나무(*J. rigida*)와 해변노간주(*J. conferta*)의 유전다양성 연구를 수행하였다. 분석결과 서해안 일대에 제한적으로 분포하는 해변노간주는 전국적으로 널리 분포하는 노간주나무와 비교하여 유전적 다양성이 낮은 것으로 보고하였으며, 진화경향성에 대하여 유전 다양성이 높은 노간주나무로부터 유전 다양성이 낮은 해변노간주가 분화하였을 것으로 추측하고 있다. 해변노간주와 생육분포와 형태적 특성(누워서 자라는 형질)이 유사한 섬향나무도 유전적 근연관계인 향나무로부터 생육환경 차이로 인해 분화되어 진화되었을 것으로 판단된다.

눈향나무는 중국 흑룡강성지역과, 러시아 극동지역, 일본 Honshu 지역에 일부 분포하며, 우리나라는 백두대간을 따라 제주도 한라산까지 분포한다. 우리나라에서는 지리적으로 해발 1,500 m 이상의 산지 능선부에 주로 분포하며, 본 연구결과 북부지방에 분포하는 단천향나무와 근연관계인 것으로 확인되었다(Fig 2,3). 눈향나무가 고산지역에 제한되어 분포하고, 북방계식물인 단천향나무와 근연관계인 것으로 볼 때 신생대 빙하기에 남하한 개체군들이 빙하기 이후 고산지역에 제한적으로 남아 있게 된 것으로 추측된다(Chung et al., 2013a; Chung et al., 2013b).

본 연구결과를 통해 그 동안 분류학적 유연관계가 불분명하였던 우리나라 향나무절 분류군들에 대해 유전적 근연관계를 파악하였으며, 앞으로 각 분류군들에 대한 정확한 진화경향성 파악을 위해서는 집단별 유전다양성 분석 등을 통한 세부조사가 필요할 것으로 판단된다.

인용문헌

- Adams, R. P. 1999. Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology* 27: 709-725.
- Adams, R. P., C.-F. Hsieh, J. Murata and R. N. Pandey. 2002. Systematics of *Juniperus* from eastern Asia based on Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 231-241.
- Adams, R. P. and A. E. Schwarzbach. 2012. Taxonomy of the multi-seeded, entire leaf taxa of the *Juniperus*, section *Sabina*: sequence analysis of nrDNA and four cp DNA regions. *Phytologia* 94: 350-366.
- CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *PNAS* 106: 12794-12797.
- Chung, J. M., S. W. Son, S. Y. Kim, G. W. Park and S. S. Kim. 2013a. Genetic diversity and geographic differentiation in the endangered *Primula farinosa* subsp. *modesta*, a subalpine endemic to Korea. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 43: 236-243.
- Chung, M. Y., J. M. Chung, J. Lopez-Pujol, S. J. Park and M. G. Chung. 2013b. Genetic diversity in three species of *Forythia*(Oleaceae) endemic to Korea: Implications for population history. taxonomy and conservation. *Biochemical Systematics and Ecology* 47: 80-92.
- Chung, T. H. 1943. Illustrated manual of Korean trees and shrubs. Chosen Natural History Museum Society, Seoul, Korea. Pp. 12-15.
- Farjon, A. 2005. A Monograph of Cupressaceae and *Sciadopitys*. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, UK. Pp. 228-400.
- Fu, L., Y. Yu. and A. Farjon. 1999. Flora of China. Vol. 4. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 62-77.
- Huh, M. K. and H. W. Huh. 2000. Genetic diversity and population structure of *Juniperus rigida* (Cupressaceae) and *Juniperus coreana*. *Evolutionary Ecology* 14: 86-98.
- Kim, S. I. 1988. Taxonomic studies of Genus *Juniperus*. *Journal of Korean Forest Society* 77: 338-350.
- Kim, Y. D., H. S. Cho, and G. C. Choo. 1997. A Palynotaxonomic Study of the Family Cupressaceae in Korea. *Journal of Agricultural Technology Research Institute*. Chinju National University 10: 135-147.
- Korea National Arboretum and The Plant Taxonomic Society of Korea. 2007. A Synonymic List of Vascular Plants in Korea. Korea National Arboretum. Pocheon. Pp. 26. (in Korean)
- Lee, T. B. 1979. Illustrated flora of Korea. Hyangmoonsa. Seoul. Pp. 149. (in Korean)
- Little, D. P. 2006. Evolution and circumscription of the true Cypresses (Cupressaceae: *Cupressus*). *Systematic Botany* 31: 461-480.
- Mao, K., G. Hao, J. Liu, R. P. Adams and R. I. Milne. 2010. Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae):

- variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytologist* 188: 254–272.
- Ohwi J. 1965. *Flora of Japan*. Washington, DC: Smithsonian Institution. Pp. 118.
- Park, W. J. 1986. Study on Karyotype of Genus *Juniperus*. MS Thesis. Konkuk University. (in Korean)
- Shin, H. U. 2010. The DNA barcoding study of Korean gymnosperms. MS Thesis. Korea University. (in Korean)
- Shin, J. G. 2013. Population distribution, community ecology and genetic diversity of nature *Juniperus chinensis* forest in South Korea. PhD Thesis. Kongju University. (in Korean)
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony(* and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Uyeki, H. 1926. *Corean timber trees vol.1. Ginkgoales and Coniferae*. The Forestry Experiment Station, Government General of Chosen 4: 1-154. (in Japanese)