

<Note>

## 독도의 미기록 식물 참빛살나무: 핵과 엽록체 DNA의 분자마커 이용

송 임 근 · 박 선 주\*

영남대학교 생명과학과

### A New Record of *Euonymus hamiltonianus* Wall. in Dokdo: Using Molecular Markers of Nuclear and Plastid DNA

Im-geun Song and Seon-joo Park\*

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

**Abstract** - The present scientific scenario shows that, the long-distance dispersal of any species plays a major role in population as well as the flow of individual between populations. However, newly recorded plant at Dokdo was confirmed by using morphological and molecular markers of nrDNA and cpDNA. This scientific study has identified the plant species as a *Euonymus hamiltonianus* Wall. (Celastraceae). And after careful studies, the laboratory results shows that the distribution of tree species at Dokdo as an Oceanic Island is a meaningful thing because of the inflow of plant in adverse condition of environment such as a shallow soil layers and steep terrain. So it is necessary to continuous monitor for the inflow of non-indigenous plant into Dokdo.

**Key words** : Dokdo, *Euonymus*, non-indigenous, dispersal

## 서 론

종의 산포에 관한 다양한 이론과 방법이 있으나, 더욱 질 열매의 경우는 주로 척추동물에 의해 이루어지고, 그 중 장거리 비행을 하는 조류와 같은 이주 동물은 산포 장벽을 넘어 종자를 수송하는 것이 가능한 것으로 알려져 있다 (Howe and Smallwood 1982; Nathan *et al.* 2008). 종의 장거리 산포는 집단의 확산, 집단간 개체 흐름 등의 대규모 과정을 결정하는데 중요한 역할을 하고, 종 침입요소는 공급원과 이동경로, 그리고 정착지로 이루어지며, 침입력이 커질 확률은 개체군의 초기 크기와 새로운 서식처의 조건과도 관계가 있다 (Park *et al.* 2002; Nathan

*et al.* 2008; Kim and Oh 2010). 일반적으로 작은 섬의 경우 낮은 종다양성과 작은 집단, 그리고 제한된 유전적 다양성을 나타내고 있다 (Dulloo *et al.* 2002). 섬에 분포하고 있는 식물의 종수는 섬의 면적과 강한 상관관계가 있고, 조류의 풍부도와 식물과 조류의 종조성은 서식지의 이질성과 관련된 변수와 연관되어 있다 (Denslow *et al.* 2009; Yu *et al.* 2012).

섬은 진화의 자연적 실험실이고 진화적 과정과 결과를 연구하기 위한 이상적인 장소로 인식되고 있으며, 독도는 울릉도와 더불어 진화적으로 유용한 정보를 제공하고 있다 (Sun *et al.* 2002; Losos and Parent 2010). 대양 섬인 독도의 식물연구는 1952년 이래로 최근까지 지속적으로 이루어지고 있고, 기록되고 있는 식물은 학자간의 견해에 따라 최대 144분류군으로 다양하게 기록되어 왔으나 (Kim *et al.* 2009), 최근에는 부식반입, 보수공사 등으로 인하여 재배식물 (참외, 미나리, 토마토) 등이 유

\* Corresponding author: Seon-joo Park, Tel. 053-810-2377,  
Fax. 053-810-4618, E-mail. sjpark01@ynu.ac.kr

입되었으며, 2007년에 비해 9분류군이 증가한 약 57분류군이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다 (Lee *et al.* 2007; Park *et al.* 2010; Park *et al.* 2011; Song and Park 2012). 분류군별 기록된 식물의 차이는 학자간의 오동정 또는 1966년의 토끼방사, 1973년 이후의 대규모 식재행사 등 자연 또는 인위적영향 때문인 것으로 사료된다 (Lee 1978; Kim 1998; Hyun and Kwon 2006).

독도에 분포하고 있는 식물들중 화살나무속 (*Euonymus* L.)의 식물은 사철나무 (Kim *et al.* 2009)와 무른나무 (Lee 1978)로 최근 무른나무는 사철나무의 오동정 (Hyun and Kwon 2006)된 것으로 알려져 있어 독도에는 현재 사철나무 1분류군이 분포하고 있다 (Lee *et al.* 2007; Park *et al.* 2010).

따라서, 본 연구는 독도에서 지금까지 기록되지 않은 목본 1분류군에 대하여 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료채집

본 연구에 사용된 재료는 2013년 5월 31일 서도 정상부에서 채집하였으며, 채집된 표본은 건조표본 (DW

1305060)으로 제작하여 영남대학교 식물표본관 (YNUH)에 보관하였고, 식물의 동정은 문헌 또는 도감을 참고하였다 (Lee 1980, 2003; Kim and Kim 1994a; Lee 1996). 또한, 분자분석을 위한 속내 분류군의 염기서열은 Genbank 데이터베이스의 자료를 이용하였다 (Table 1).

### 2. DNA 추출, PCR증폭 및 염기서열

재료는 현장에서 채집 후 실리카겔을 이용하여 실험실로 운반하여 이용하였다. DNA추출은 20~30 mg의 잎을 Homogenizer (Precellys<sup>®</sup>24, Bertin Technologies, France)와 CTAB 방법을 이용하여 추출하였다 (Doyle and Doyle 1987). Polymerase chain reaction (PCR) 반응용액의 조성은 주형 DNA 20~50 ng, 10X *DiaStar*<sup>™</sup> Tag DNA buffer 0.25  $\mu$ L, 10 mM의 dNTPs mix 0.5  $\mu$ L, 10 pmol의 primer (ITS4, ITS5, White *et al.* 1990, Möller and Cronk 1997; “c”, “f”, Taberlet *et al.* 1991) 각각 1  $\mu$ L, 1.25 unit의 *DiaStar*<sup>™</sup> Taq DNA Polymerase (SolGent Co., Korea)에 총 25  $\mu$ L가 되도록 증류수를 조절하여 첨가하였다.

조제된 PCR 반응 용액은 다음의 조건하에서 PCR을 하여 DNA를 증폭시켰다. PCR의 첫 cycle에서는 95°C에서 3분 동안 1차 denaturation을 한 후, denaturation은 95°C에서 20초, annealing을 위해서는 56°C (*trnL-trnF*는

**Table 1.** List of taxa used for the molecular analysis of the genus *Euonymus*

Taxon	Accession number		Remark
	ITS	<i>trnL-trnF</i>	
<i>E. alatus</i>	EU328755	EU328891	Simmons <i>et al.</i> (2008)
<i>E. australianus</i>	HQ393715	HQ393802	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. europaeus</i>	HQ393713	HQ393795	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. glaber</i>	HQ393703	HQ393812	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. grandiflorus</i>	HQ393711	HQ393789	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. hamiltonianus</i>	HQ393708	HQ393797	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. hamiltonianus</i>	HQ393724	HQ393798	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. japonicus</i>	HQ393700	HQ393811	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. lanceolatus</i>	HQ393701	HQ393800	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. latifolius</i>	HQ393707	HQ393806	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. melananthus</i>	HQ393702	HQ393801	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. myrianthus</i>	HQ393721	HQ393804	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. nanus</i>	HQ393709	HQ393788	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. nitidus</i>	JQ424144	HQ393803	Mu <i>et al.</i> (2012), Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. oxyphyllus</i>	HQ393704	HQ393810	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. phellomanus</i>	HQ393718	HQ393791	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. sachalinensis</i>	HQ393723	HQ393796	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. semenovii</i>	HQ393719	HQ393794	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. sp.</i>	KF732849	KF732848	Voucher : DW1305060, Park <i>et al.</i> (2013)
<i>E. tingens</i>	HQ393716	HQ393790	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. vagans</i>	HQ393720	HQ393809	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. verrucosus</i>	HQ393717	HQ393799	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>E. wilsonii</i>	HQ393714	HQ393805	Simmons <i>et al.</i> (2012)
<i>C. flagellaris</i>	EU328763	EU328872	Simmons <i>et al.</i> (2008)
<i>C. orbiculatus</i>	JQ424122	EU328885	Mu <i>et al.</i> (2012), Simmons <i>et al.</i> (2008)

52°C)에서 40초, 그리고 72°C에서 1분으로 구성된 반응을 35회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 5분간 extension하였다. PCR 반응액은 SolGent™ Gel & PCR purification system (Solent Co., Korea)으로 정제하였고, 염기서열 분석은 automatic sequencer (ABI 3730x1)을 이용하였다.

### 3. 염기서열의 유연관계 분석

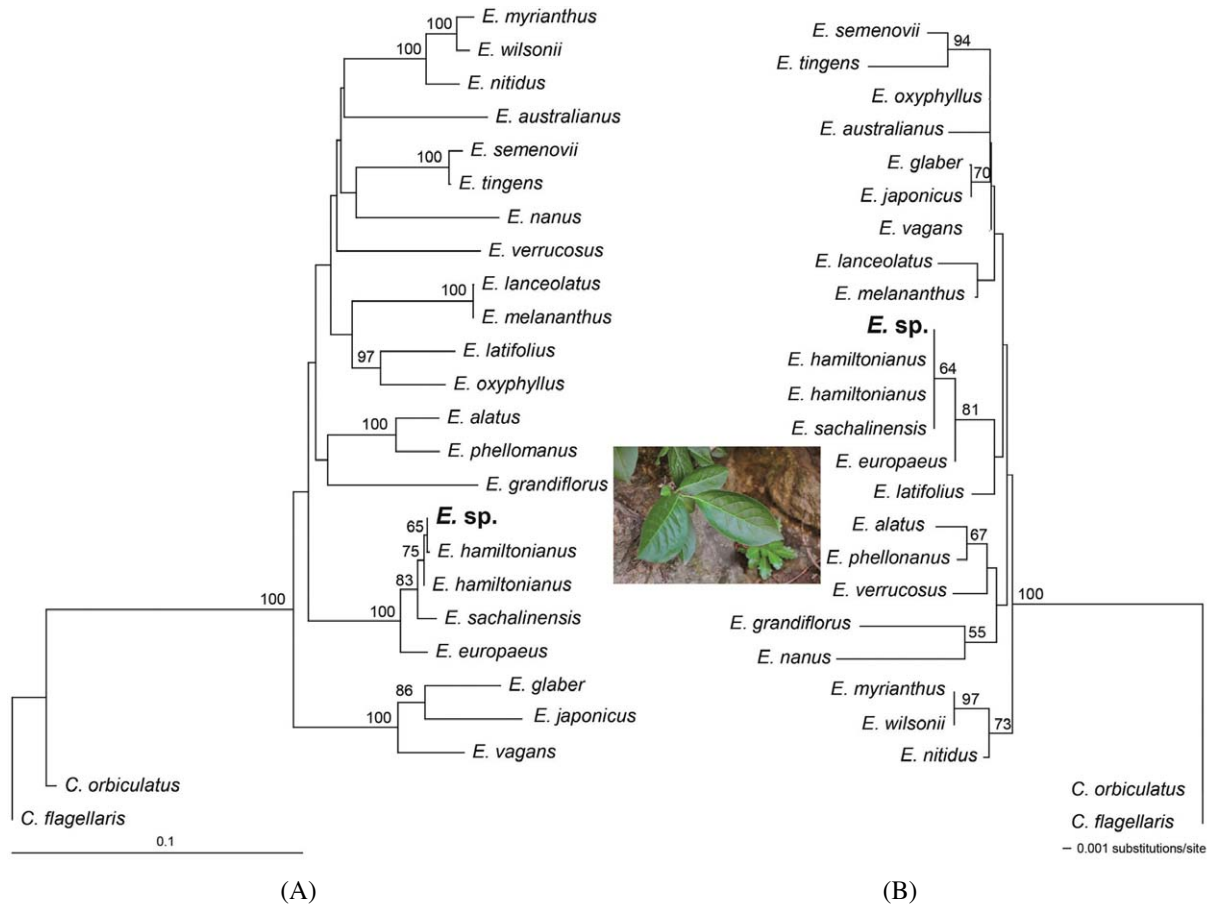
염기서열들은 Geneious (R6, Biomatters)로 조합하여 Clustal X (Thompson *et al.* 1997)로 정렬하였으며, 수작업을 거쳐 최종 정렬하였다. ITS와 *trnL-trnF*에 대한 염기서열은 Genbank의 자료 (Simmons *et al.* 2008; Mu *et al.* 2012; Simmons *et al.* 2012)와 비교하여 각각 염기서열구간을 결정하였다. 정렬결과 gap은 결여형질 (missing data)로 처리하였고, 염기서열 분석은 PAUP Ver. 4.0b10 (Swofford 2003)로 Two-parameter methods (Kimura 1980)로 계산된 염기변이 값을 기초로 하여 Neighbor-joining (NJ) tree를 산출하였다. 분계도의 지지도 확인을 위한

Bootstrap support (BS, Felsenstein 1985)는 PAUP을 이용하여 Heuristic search (TBR branch swapping, 100 replicates)방법으로 산출하였다. 외군은 선행 문헌 (Simmons *et al.* 2012)을 기준으로 *Celastrus*속을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 외부형태

화살나무속 (*Euonymus* L.)은 주로 화서의 형태, 약실의 수 등 형태형질을 주요 식별형질로 사용하고 있으나 식별형질의 중복현상과 변이가 심하여 많은 혼란이 야기되고 있는 분류군이다 (Kim and Kim 1994b). 채집된 개체는 영양기관인 줄기와 잎으로 식별이 용이하지 않으나, 소지 (twig)는 원주형이고, 표면에 부속물이 없는 평활한 유형이며, 잎은 피침상 장타원형이고 침두, 그리고 기타 외부 형태적 특징 등이 참빗살나무 (*Euonymus*



**Fig. 1.** Neighbor-joining (NJ) tree showing the relative distance among branches. Numbers on the branches are bootstrap support values. ITS regions of nrDNA (A), *trnL-trnF* IGS regions of cpDNA (B).

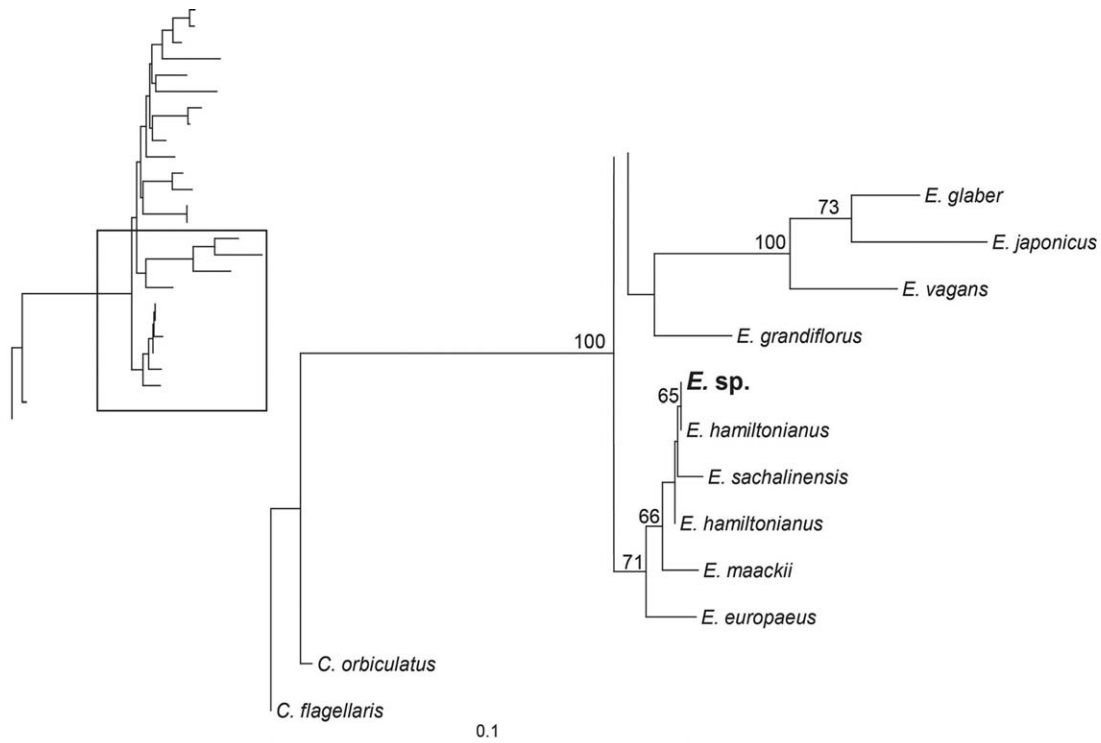


Fig. 2. Neighbor-joining (NJ) tree resulting from 5.8S partial and ITS2 region. Numbers on the branches are bootstrap support values.

*hamiltonianus* Wall.)로 판단된다 (Lee 1980, 2003; Kim and Kim 1994a; Lee 1996). 그러나, 발견된 분류군은 생식 기관이 없는 어린 개체이고, 기상 등 독도의 접근성이 어려움에 따라 생식기관을 확인하는 것이 용이하지 않으므로 분자자료를 이용한 객관적인 확인이 요구된다.

## 2. 유연관계

DNA의 분자마커는 식물의 식별에 다양하게 이용되고 있고 (Miller 2007; CBOL Plant Working Group 2009; Vijayan and Tsou 2010), 이 중 nrDNA의 Internal transcribed spacer (ITS)와 cpDNA의 *trnL-trnF* IGS 지역은 계통분석에 주로 이용되고 있으며 (Bortiri *et al.* 2001; Li *et al.* 2010; Li *et al.* 2012), Genbank의 데이터양도 방대하게 축적되고 있는 실정이다. 따라서, 두 마커를 이용하여 독도에서 채집된 개체의 염기서열에 대한 유연관계를 분석한 결과는 Figs. 1-2와 같다.

유연관계 분석결과 단성유전을 하는 cpDNA에서는 우리나라에 분포하고 있는 화살나무속의 참빗살나무 (*E. hamiltonianus*)와 회나무 (*E. sachalinensis*) 분계조의 BS가 64%로 분계조내에서 해상력을 나타내고 있지 않는 반면 (Fig. 1B), 양친유전을 하며 비교적 빠른 진화속도를

나타내는 nrDNA에서 회나무와 자매군 (BS 83%)을 이루고 있으나 참빗살나무와 가까운 유연관계 (BS 65~75%)를 나타내고 있고 (Fig. 1A), 좁은잎참빗살나무 (*E. maackii*)의 경우 두 분류군과 자매군 (BS 66%)을 나타내고 있다 (Fig. 2). ITS 1지역이 포함된 Fig. 1과는 달리 Fig. 2에서는 회나무가 참빗살나무와 가까운 유연관계를 나타내고 있으나, ITS지역 간의 변이에서 기인한 결과로 사료된다.

## 3. 독도의 식물

독도에 분포하고 있는 식물은 과거 식재사업과 시설 공사, 부식 등으로 인하여 식물의 변화가 야기되고 있는 실정이다 (Lee 1978; Kim 1998; Hyun and Kwon 2006; Park *et al.* 2010). 또한, 2013년 6월 20일~24일 사이에 산림청의 “푸른 독도 가꾸기” 사업으로 인해 독도(동도)에는 사면의 식피를 일부 제거한 후 정화조 일원에 사철나무 (2,187본), 섬피불나무 (936본), 보리밥나무 (837본) 등 총 3,960본이 식재되었고, 과거 식재기록 (Kim 1998)이 있는 무궁화(약 4~5본)가 다시 식재되어 있는 것으로 확인되었다. 종의 이입과 확산은 현지의 환경조건과 천이과정에 의해 결정되며 (Huston 2004; Kil *et al.* 2006), 확인된 참빗살나무는 비교적 최근에 이입되어 분포한

것으로 추정된다. 그간 확인이 어려웠던 것은 다른 식물체에 가려져 있고, 독도의 입지여건(경사 등)과 조사여건(기상 등)의 여러 불리한 조건 때문인 것으로 사료된다. 본 연구에서 대양섬인 독도에서 목본이 확인된 것은 내륙지역과 거리가 멀고, 토양층과 급격한 경사 등 입지적으로 열악한 환경에 새로운 종이 이입된 것으로 섬생물지리학적으로 의미있는 일이라 사료된다. 본 식물의 유입경로를 확인하기에는 어려움이 있으나, 인접한 울릉도에는 참빗살나무가 분포하고 있지 않은 것으로 알려져 있으므로 울릉도에서 유입되었을 가능성은 희박하다 (Lee and Joo 1958; Lee and Yang 1981; Kim *et al.* 2000; Shin and Kim 2002). 또한, 주로 비둘기과, 지빠귀과, 직박구리과, 되새과 등 조류의 식이식물로 이용될 가능성이 있고, 이동하는 조류의 경우 독도는 중간기착지로서 이용되고 있으므로 지속적으로 독도에 분포하고 있는 식물과 더불어 종의 이입에 대한 산포백터를 확인하고 시간의 경과에 따른 종의 유입에 대하여 모니터링 및 유입된 분류군의 집단분석을 통하여 유전적 특성과 종분화 등에 관한 연구를 하는 것이 대양섬인 독도의 식물 이입과 분포에 대한 실마리를 제공해 줄 것으로 사료된다.

## 적 요

종의 장거리 산포는 집단의 확산과 집단간 개체의 흐름에 중요한 역할을 한다. 본 연구는 독도에서 발견된 식물을 형태학적 특징과 핵 및 엽록체 DNA의 분자마커를 이용하여 종을 식별한 결과, 참빗살나무(노박덩굴과)로 확인되었다. 얇은 토양층과 험준한 지형 등 입지적으로 열악한 대양섬인 독도에서 목본의 분포는 의미 있는 결과이며, 향후 외부유입종의 지속적인 모니터링이 요구된다.

## 사 사

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2012R1A1A2004996). 본 연구를 위하여 협조와 지원을 해주신 대구지방환경청 관계자들과 조류에 대한 조언을 해 주신 공주대학교 조삼래 교수님과 이진희 선생께 감사드립니다.

## REFERENCES

- Bortiri E, SH Oh, J Jiang, S Baggett, A Granger, C Weeks, M Buckingham, D Potter and DE Parfitt. 2001. Phylogeny and Systematics of *Prunus* (Rosaceae) as Determined by Sequence Analysis of ITS and the Chloroplast *trnL-trnF* Spacer DNA. *Syst. Bot.* 26:797-807.
- CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 106:12794-12797.
- Denslow JS, JC Space and PA Thomas. 2009. Invasive exotic plants in the tropical pacific Islands: Patterns of diversity. *Biotropica* 41:162-170.
- Doyle JJ and JL Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19:11-15.
- Dulloo ME, SP Kell and CG Jones. 2002. Impact and control of invasive alien species on small islands. *Int. Forest. Rev.* 4:277-285.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Geneious version (version 6.1.6) created by Biomatters. Available from <http://www.geneious.com/>.
- Howe HF and J Smallwood. 1982. Ecology of seed dispersal. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13:201-228.
- Huston MA. 2004. Management strategies for plant invasions: manipulating productivity, disturbance, and competition. *Diversity Distrib.* 10:167-178.
- Hyun JO and SK Kwon. 2006. Flora of Dokdo. In Report on the detailed survey of Dokdo ecosystem, pp. 47-59. Ministry of Environment, Seoul. (in Korean)
- Kil JH, SH Park and KS Koh. 2006. The distribution of non-native plants in Ulleung Island. *Korean J. Plant Res.* 19:237-242. (in Korean)
- Kim HS and JG Oh. 2010. Distribution of naturalized plants in Dadohae National Marine Park. *Korean. J. Plant Res.* 23: 187-196.
- Kim HJ, BC Shin and MY Jeung. 2009. Research trend of Dokdo island plants - At focus of research data from 1947 to 2009. *J. Korean Inst. Trad. Landscape Architecture* 27:61-78. (in Korean)
- Kim JH and YS Kim. 1994a. A taxonomic study of Korean *Euonymus* L. (Celastraceae) based on the morphology of vegetative characters. *Korean J. Plant Taxon.* 24:215-230. (in Korean)
- Kim JH and YS Kim. 1994b. A taxonomic study of Korean *Euonymus* L. (Celastraceae) based on the morphology of reproductive characters. *Korean J. Plant Taxon.* 24: 231-245. (in Korean)

- Kim YS. 1998. Plant ecosystem of Ulleung and Dokdo islands. A Synthetic Research of Ulleung and Dokdo islands, pp. 621-678. Yeungnam University Institute of Korean Culture, Gyeongsan. (in Korean)
- Kim YS, HT Shin and KH Kang. 2000. Vascular Plants and Conservation of Rare and Endangered Plants in Ulleung Island. J. Resour. Dev. 19:13-30. (in Korean)
- Kimura MA. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16:111-120.
- Lee DB and SU Joo. 1958. Reinvestigation of the flora of the Dagelet Island. Collection of dissertations for Liberal Arts and Sciences of Korea University 3:223-296. (in Korean)
- Lee DH, SH Cho and JH Pak. 2007. The analysis of vascular plant species composition in Dok-do Island. Korean J. Plant Taxon. 37:545-563. (in Korean)
- Lee IG. 1978. The ecological consideration on the flora of Liancourt Island. Nat. Conserv. 22:20-23. (in Korean)
- Lee TB. 1978. Vegetation of the Island Dok-to. Nat. Conserv. 22:16-19. (in Korean)
- Lee TB. 1980. Illustrated Flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul. (in Korean)
- Lee TB. 2003. Coloured Flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul. (in Korean)
- Lee WT. 1996. Standard illustrations of Korean Plants. Academy Publishing Co., Ltd, Seoul. (in Korean)
- Lee WT and IS Yang. 1981. The flora of Ulleung Is. and Dokdo Island. In A report on the scientific survey of the Ulleung and Dokdo Islands. The Korean Ass. Conserv. Nat. 19:61-93. (in Korean)
- Li HT, JB Yang, DZ Li, M Möller and A Shah. 2010. A molecular phylogenetic study of *Hemsley* (Cucurbitaceae) based on ITS, *rpl16*, *trnH-psbA*, and *trnL* DNA sequences. Plant Syst. Evol. 285:23-32.
- Li WP, FS Yang, T Jivkova and GS Yin. 2012. Phylogenetic relationships and generic delimitation of Eurasian Aster (Asteraceae: Astereae) inferred from ITS, ETS and *trnL-F* sequence data. Ann. Bot. 109:1341-1357.
- Losos JB and CE Parent. 2010. The speciation-area relationship, pp. 415-438. In The theory of island biogeography revisited, Losos JB and RE Ricklefs (eds.). Princeton University Press, Princeton and Oxford, USA and England.
- Miller SE. 2007. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. Proc. Nat. Acad. Sci. 104:4775-4776.
- Möller M and QCB Cronk. 1997. Origin and relationships of *Saintpaulia* (Gesneriaceae) based on ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. Am. J. Bot. 84: 956-965.
- Mu XY, LC Zhao and ZX Zhang. 2012. Phylogeny of *Celastrus* L. (Celastraceae) inferred from two nuclear and three plastid markers. J. Plant Res. 125:619-630.
- Nathan R, FM Schurr, O Spiegel, O Steinitz, A Trakhtenbrot and A Tsoar. 2008. Mechanisms of long-distance seed dispersal. Trends Ecol. Evol. 23:638-647.
- Park SH, JH Shin, YM Lee, JH Lim and JS Moon. 2002. Distributions of naturalized alien plants in Korea. Korea Forest Research Institute & Korea National Arboretum. Ukgo Press, Seoul. (in Korean)
- Park SJ, IG Song, SJ Park and DO Lim. 2010. The flora and vegetation of Dokdo Island in Ulleung-gun, Gyeongsangbuk-do. Korean J. Environ. Ecol. 24:264-278. (in Korean)
- Park SJ, IG Song, SJ Park and JG Jin. 2011. Flora of Dokdo. In Ecosystem of Dokdo. Daegu Regional Environmental Office, Daegu. (in Korean)
- Shin HT and YS Kim. 2002. The Establishment of Conservation Area and Conservation Strategy in Ulleung Island (I)-Flora. Korean J. Environ. Ecol. 16:195-216. (in Korean)
- Simmons MP, JJ Cappa, RH Archer, AJ Ford, D Eichstedt and CC Clevinger. 2008. Phylogeny of the Celastraceae (Celastraceae) and the relationships of *Catha edulis* (qat) inferred from morphological characters and nuclear and plastid genes. Mol. Phylogenet. Evol. 48:745-757.
- Simmons MP, MJ McKenna, CD Bacon, K Yakobson, JJ Cappa, RH Archer and AJ Ford. 2012. Phylogeny of Celastraceae tribe Euonymieae inferred from morphological characters and nuclear and plastid genes. Mol. Phylogenet. Evol. 62: 9-20.
- Song IG and SJ Park. 2012. Distribution and management of non-indigenous plants in Dokdo. Korean J. Plant Taxon. 42: 98-107. (in Korean)
- Sun BY, MR Sul, JA Im, CH Kim and TJ Kim. 2002. Evolution of endemic vascular plants of Ulleungdo and Dokdo in Korea - floristic and cytotoxic characteristics of vascular flora of Dokdo. Korean J. Plant Taxon. 32:143-158. (in Korean)
- Swofford DL. 2003. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Taberlet P, L Gielly, G Pautou and J Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Mol. Biol. 17, 1105-1109.
- Thompson JD, TJ Gibson, F Plewniak, F Jeanmougin and DD Higgins. 1997. The clustal X windows interface : Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tool. Nucleic Acids Res. 25:4876-4882.
- Vijayan K and CH Tsou. 2010. DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective. Current Sci. 99:1530-1541.
- White TJ, T Bruns, 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, pp. 315-322. Academic Press, San Diego, USA.

Yu M, G Hu, KJ Feeley, J Wu and P Ding. 2012. Richness and composition of plants and birds on land-bridge islands: effects of island attributes and differential responses of spec-

ies groups. *J. Biogeogr.* 39:1124-1133.

Received: 11 November 2013

Revised: 20 March 2014

Revision accepted: 21 March 2014