

한국산 잠개구리밥속(개구리밥과)의 분류학적 실체에 대한 재고^{1a}

김용인² · 심상인³ · 박진희^{4*}

A Taxonomic Reconsideration of the Genus *Lemna* L. (Lemnaceae) in Korea^{1a}

Yong-In Kim², Sang In Shim³, Jin Hee Park^{4*}

요 약

잠개구리밥속(*Lemna* L.)이 속하는 개구리밥과(Lemnaceae Martinov)는 다년생 초본으로, 5속 약 40종이 극 지방을 제외한 전세계에 널리 분포한다. 잠개구리밥속 식물은 피자식물 중 크기가 가장 작고 형태가 단순한 부유성의 단자엽 수생식물로 영양번식이 매우 빨라 약 3일마다 배로 증가하는 특성을 보여 수환경 오염 피해 평가나 독성 시험에 이용되는 등 유용성이 큰 식물로 평가되고 있다. 우리나라의 잠개구리밥속 중 분포에 대해서는 학자별로 다른 학명을 쓰기도 하였으나 1종이 존재하는 것으로 여러 학자들이 보고해 왔다. 본 연구에서는 한국산 잠개구리밥속 식물에서 관찰된 외부 형태적 변이에 주목하여, 2종 이상일 가능성을 염두에 두고 그 실체를 규명하고자 분자계통학적 방법으로 연구를 수행하였다. 전국적으로 분포하는 잠개구리밥속 식물 37개체군의 엽록체 DNA *atpF*-H 구간 염기서열을 결정하고, 염기서열 길이는 463-483bp인 것으로 확인되었고 37개체군의 염기서열을 정렬한 길이는 488bp였으며, 47개 뉴클레오티드지점에서 변이가 나타났다. 한국산 잠개구리밥속 식물 37개체군의 엽록체 DNA *atpF*-H 구간 염기서열은 크게 두 개의 유형으로 나누어졌으며, 계통분석 결과에서도 최대절약계통수에서 두 개의 clade로 나누어졌고, 그 중 한 clade는 두 개의 subclade로 다시 나누어졌다. 이는 현재까지 우리나라에 1종만 분포한다고 알려진 것과는 다른 결과로 최소 2개 이상 분류군(*L.aequinoctialis*, *L.minor*)이 국내에 분포한다는 것을 의미한다.

주요어: 수생식물, 분자계통학적 분석, 최대절약계통분석, 엽록체 DNA *atpF*-H 구간

ABSTRACT

Duckweed family (Lemnaceae Martinov), including the genus *Lemna* L., is a typical floating aquatic perennial plant, and about five genera and 40 species in the family are in wide distribution around the world except the polar regions. The genus *Lemna* is the smallest and the simplest plant among the angiosperms. It has a characteristic of doubling every three days with fast vegetative propagation, which helps the organisms to increase in rapid growth. As such, the plant is ideal for environmental pollution assessment and toxicity test. Although taxonomists and scholars have used different scientific names for the species, many of them have agreed that there is only one member of species of the genus *Lemna* in Korea. Paying attention to the external

1 접수 2016년 12월 23일, 수정 (1차: 2017년 3월 10일), 게재확정 2017년 7월 26일

Received 23 December 2016; Revised (1st: 10 March 2017); Accepted 26 July 2017

2 한국생명공학연구원 해외생물소재센터 Dept. International Biological Material Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 34141, Korea (yikim@kribb.re.kr)

3 경상대학교 농학과 Dept. of Agronomy, Gyeongsang National Univ., Jinju 660-701, Korea (sishim@gnu.ac.kr)

4 국립낙동강생물자원관 담수생물조사연구실 동식물자원조사부 Animal & Plant Resources Research Division, Freshwater Bioresources Research Bureau, Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR), Sangju 37242, Korea (parkjh23@nnibr.re.kr)

a 이 논문은 국립낙동강생물자원관의 '담수생물조사발굴사업(2015-2016)' 연구비 지원에 의해 수행되었음

* 교신저자 Corresponding author: TEL: +82-54-530-0831, FAX: +82-54-530-0839, E-mail: parkjh23@nnibr.re.kr

morphological variation observed in the Korean genus *Lemna*, we conducted a molecular phylogenetic analysis to identify the entity of the Korean *Lemna* species and to investigate the possibility of two or more members of the species existing in Korea. We determined and aligned the DNA sequences of the *atpF*-H region of the chloroplast DNA in 37 populations of the nationally distributed *Lemna* species. The results showed that the sequence length of the cp DNA *atpF*-H region was 463-483 bp, the length of the aligned sequences was 488 bp, and the number of variation site in nucleotide sequences was 47. There were two types of aligned sequences of the cp DNA *atpF*-H region from 37 populations of *Lemna* species in Korea. The maximum parsimony analysis revealed that the Korean *Lemna* consists of two clades, and one of them had two subclades. The results suggest that, contrary to the general understanding, at least two taxa (*L. aequinoctialis*, *L. minor*) exist in Korea.

KEY WORDS: AQUATIC PLANT, MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS, MAXIMUM PARSIMONY ANALYSIS, CHLOROPLAST DNA *atpF*-H REGION

서론

개구리밥과(Lemnaceae Martinov) 식물은 다년생 초본으로, 5속 약 40종이 극지방을 제외한 전 세계에 널리 분포한다(Les et al., 1997; Li and Landolt, 2010). 개구리밥과는 피자식물 중 크기가 가장 작고 형태가 단순한 부유성의 단자엽 수생식물로, 본 과에 속하는 쯤개구리밥속(*Lemna* L.) 식물은 영양번식이 매우 빨라 약 3일마다 배로 증가하는 특성을 보여 수환경의 오염 피해 평가나 오염물질 독성시험에 이용되는 대표적인 식물이다(Rejmánková, 1975; Landolt, 1986; Wang, 1990; Kim and Lee, 2001; Park and Shim, 2014). 쯤개구리밥속 식물의 빠른 무성번식 특성은 이상적인 실험 모델식물로 이용될 뿐 아니라, 오염물질 제거자, 양분(녹비) 공급자, 바이오연료 공급자 역할을 할 수 있는 유용생물자원으로서 기대를 모으고 있다(Cheng and Stomp, 2009; Leblebici and Aksoy, 2011; Cui et al., 2011; Xu et al., 2011; 2012).

쯤개구리밥속 식물은 양성화주로 크기가 작고 형태가 단순하다. 식물체 전체는 얇은 인편상 또는 원형의 엽상체(frond)로 극히 축소되고, 1개체씩 떨어져 있거나 또는 몇 개씩 무리를 지으며, 물에 자유롭게 떠 있거나 물 속에 잠긴다(Landolt, 2005). 엽상체는 얇은 인편상으로, 원형 내지 타원형, 도란형 내지 난상 타원형이며, 엽맥은 1-3개 또는 드물게 5개이다. 털은 없으며, 주로 엽상체 상면의 1개의 낭체 또는 좌우의 2개의 낭체에서 새로운 싹이 나와 무성으로 번식한다. 뿌리는 1개이고 줄기와 잎은 분화되지 않는다. 꽃은 극히 축소되며, 화피가 없고, 엽상체 좌우 2개의 낭체 중 1개의 낭체 안에 1개씩 달리며, 막질의 불염포에 둘러싸인다(Li and Landolt, 2010).

쯤개구리밥속은 우리나라의 경우 논이나 연못, 흐름이 느

린 하천, 농수로 등에서 많이 발생하는 식물로, 일제시대에 한반도 식물을 다방면에 걸쳐 연구한 Nakai(1911)와 국내 학자들(Chung, 1937; 1957; Lee, 1980; 2003; Lee, W.T., 1996; Lee, Y.N., 1996; 2006; Choi, 2007)은 우리나라에 쯤개구리밥속 식물로 1종이 생육하는 것으로 발표해왔다(Table 1). 우리나라의 쯤개구리밥속 식물에 대해서는 Nakai(1911)가 『Flora Koreana II』에 *Lemna minor* L. 1종을 최초 보고한 것이 그 시작이었다(Table 1). 그 후 일제강점기에 정태현 등(Chung et al., 1937)은 우리나라 분포 식물의 국명을 정리한 목록집 『조선식물향명집』을 발간하면서 쯤개구리밥속(genus *Lemna*) 편에서 식물종의 국명을 ‘쯤개구리밥’이라 칭하고 학명은 Nakai(1911)가 쓴 학명 “*L. minor*”를 그대로 사용하였다(Table 1). 해방 후 정태현(Chung, 1957)은 한국 식물을 총 망라한 『한국식물도감』의 하권 초본부의 쯤개구리밥속(genus *Lemna*) 편에서 1종을 보고하였는데, 이 때 학명을 “*L. minor*” 대신 “*L. paucicostata* Hegelm.”를 채택하고 “*L. minor*”는 “*L. paucicostata*”의 이명(synonym)으로 처리하였다(Table 1). 이창복(Lee, 1980; 2003)도 『대한식물도감』에서 우리나라 쯤개구리밥속 식물을 1종으로 보고하면서 정태현(Chung, 1957)과 같은 학명 “*L. paucicostata*”를 사용하였다(Table 1). 한편, 이우철(Lee, W.T., 1996)과 이영노(Lee, Y.N., 1996; 2006)는 우리나라 쯤개구리밥속 식물을 1종으로 보고하면서도 이전의 학자들과 달리 “*L. perpusilla* Torr.”의 학명을 채택하고, “*L. paucicostata*”를 “*L. perpusilla*”의 이명으로 표기하였다(Table 1).

최근의 보고에서 Choi(2007)도 한국산 쯤개구리밥속 식물을 1종으로 정리하면서 이우철(Lee, W.T., 1996) 및 이영노(Lee, Y.N., 1996; 2006)가 채택한 학명 “*L. perpusilla*”를 사용하였다(Table 1).

한편, 박봉규와 오인혜(Park and Oh, 1986)는 한국산 개구

Table 1. Taxa of *Lemna* in Korea recognized by various authors

Author	Name	Taxonomic treatment (Synonym)
Nakai (1911, 1952)	<i>L. minor</i> L.	-
Chung et al.(1937)	<i>L. minor</i>	-
Chung(1957)	<i>L. paucicostata</i> Hegelm.	<i>L. minor</i>
Lee, T.B.(1980, 2003)	<i>L. paucicostata</i>	-
Park and Oh(1986)	<i>L. japonica</i> Landolt	-
	<i>L. aequinoctialis</i> Welw.	<i>L. paucicostata</i>
Lee, Y.N.(1996, 2006)	<i>L. perpusilla</i> Torr.	<i>L. paucicostata</i>
Lee, W.T.(1996)	<i>L. perpusilla</i>	<i>L. paucicostata</i> , <i>L. minor</i> auct. Nakai, Flora Koreana 2: 272(1911)
Choi(2007)	<i>L. perpusilla</i>	-

리밥과 식물의 분포를 논하면서 좁개구리밥속 식물에 대해 *L. japonica*, *L. aequinoctialis* 2종이 동정되었다고 언급하였으나, 두 종간의 차이에 대한 언급이 없었으며 *L. japonica*의 분포에 대해서도 별다른 언급이 없었다. 다만, 박봉규와 오인혜(Park and Oh, 1986)는 이창복(1980)이 기존에 보고하였던 *L. paucicostata*에 대해서는 *L. aequinoctialis*를 정명으로 사용하고 *L. paucicostata*를 이명으로 인식하였다.

이를 종합하면, 우리나라의 좁개구리밥속 식물에 대해서 Nakai(1911)가 최초 보고한 이후 대부분의 한국 학자들은 각자 다른 학명을 쓰기도 하였으나 1종만 생육하는 것으로 보고하였으며, 직전 학자의 학명을 채택하거나 새로운 학명을 선택하고 이전의 학명은 자신이 채택한 학명의 이명으로 처리하였다.

그러나 한국산 좁개구리밥속 식물은 아원형이며 두께가 상대적으로 두툽한 엽상체 형태형과 타원형 또는 도란형이고 두께가 얇은 엽상체 형태형이 관찰되는 등 형태적으로 변이가 관찰된다. 본 연구에서는 한국산 좁개구리밥속 식물에서 나타나는 형태적 변이에 주목하여, 한국산 좁개구리밥속 식물이 1종 이상일 가능성에 대해 그 실체를 규명하고자 분자계통학적 방법(DNA 분석)을 수행하였다.

연구방법

1. 재료

본 연구의 재료는 2015년 10월부터 12월까지 강원도 강릉, 경기도 시흥, 충북 충주, 충남 서천, 경북 상주, 경남 창원, 부산, 전북 전주, 전남 장흥 등 30지역 42지점에서 채집된 좁개구리밥속(37개체) 및 개구리밥과 내 타 속 개체(5개체)를 사용하였다(Table 2). 채집한 개체들 중 일부는 70% 에탄올에 고정하여 액침표본으로 제작한 후 국립낙동강생물자원관 식물표본관에 보관하였다.

2. 방법

DNA추출: 재료는 각 채집지마다 1개체를 선정하여 사용하였다. 식물체를 증류수로 깨끗이 행군 후, Extract-N-amp plant kits(SIGMA)를 사용하여 total genomic DNA를 추출하였으며, 모든 추출 과정은 공급자의 안내서를 따랐다.

계통분석구간: 계통분석 마커는 선행연구(Wang et al., 2010)에서 좁개구리밥속 식물에 유용하게 사용되었던 엽록체 DNA의 *atpF*-H구간을 선정하였다.

PCR 및 염기서열 결정: 유전자 증폭을 위한 중합효소연쇄반응(PCR)은 최종 volume 50 μ L로 정량하여 실시하였다. 반응구성물은 5 μ L의 Takara 10X Ex-Taq buffer (Takara Bio Inc., Japan), 4 μ L의 2.5mM dNTP, 양방향의 0.5 μ L의 10 pmol 프라이머, 1 μ L의 template DNA(10-20ng), 0.5 μ L의 Taq DNA 중합효소(Takara Bio Inc., Japan)와 나머지는 증류수로 채워 50 μ L를 정량하였다. Primer로는 Forward 5'-ACTCGCACACTCCCTTCC-3', Reverse 5'-GCTTTTATGGAAGCTTTAACAAT-3'를 사용하였다 (Wang et al., 2010). 구간의 증폭은 98 $^{\circ}$ C에서 5분간 초기 해리반응을 한 후, 95 $^{\circ}$ C에서 30초, 55 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 1분을 하나의 cycle로 하여 총 30cycle을 반복하고, 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 고정하여 수행하였다. PCR 산물은 QIAquick PCR purification Kit(QIAGEN, Germany)를 이용하여 공급자 매뉴얼에 따라 증폭된 DNA만을 정제하고, 1% agarose gel에 1 μ L를 적재하여 농도를 확인하였다. 정제된 PCR 산물은 마크로젠(MACROGEN Co., Korea)에 의뢰하여 양방향으로 염기서열을 결정하였다.

염기서열 정렬 및 계통 분석: 엽록체 DNA의 *atpF*-H구간을 대상으로 한국산 개구리밥과 4속 42개 시료에서 얻은

염기서열자료와 GenBank에서 다운받은 개구리밥과 종들의 자료(Table 3)를 이용하여 염기서열 정렬과 계통분석을 수행하였다. 좀개구리밥속의 외군(outgroup)으로는 개구리밥과 내 자매속(sibling genus)의 *Landoltia punctata* (G.Mey.) Les & Crawford(Les and Crawford, 1999)와 그 외 과 내 타 속(*Wolffia*, *Wolffia*, *Spirodela*)에 속하는 종들이 사용되었다.

각 시료의 정방향 및 역방향 염기서열은 Geneious®(ver. 6.1.6.; <https://www.geneious.com>, Kearse et al., 2012)를 사용하여 조합(assembly)하였다. 결정된 염기서열은 Clustal X program(Thompson et al., 1997)을 사용하여 정렬하였다.

계통분석은 실험에서 얻은 자료와 GenBank 자료를 함께 염기서열 정렬한 후, PAUP* program(ver.4.01b; Swofford, 2003)을 사용하여 최대절약계통분석(Maximum parsimony analysis)을 수행하였으며, heuristic search, 'TBR' branch swapping, 'SIMPLE' addition, hold=10, 'steepest descent', 'collapse of zero branch lengths', 'MULPAR', equal weighting of all characters, 'ACCTRAN' option을 적용하였다. Bootstrap 분석(Felsenstein, 1985)은 상기 계통분석에서 사용한 조건을 적용하여 heuristic search를 1000번 반복하여 수행하였다.

결 과

엽록체 DNA 염기서열 변이: 한국산 좀개구리밥속 37개체의 엽록체 DNA *atpF-H* 구간 염기서열을 결정한 결과, 염기서열 길이는 463-483bp인 것으로 확인되었다. 37개체의 염기서열을 정렬한 길이는 488bp였으며, 47개 뉴클레오티드지점에서 변이가 나타났다. 정렬 결과, 크게 Type I과 Type II로 구분되었으며 Type I은 다시 두 유형으로 구성되어 있는 것으로 나타났다(Figure 1). 이는 현재까지 우리나라에 1분류군만이 분포한다고 알려진 것과는 다른 결과로 최소 2분류군 이상이 국내에 분포할 가능성이 높음을 의미하며 염기서열 비교를 통해 확인할 수 있었다(Figure 1).

한편, 한국산 좀개구리밥속 37개체, 그 외 한국산 좀개구리밥과 3속 3종 5개체, GenBank에 등록된 전세계에 분포하는 개구리밥과 5속 17종 32개체에서 얻은 엽록체 DNA *atpF-H* 구간 염기서열자료 모두를 종합한 결과, 염기서열 길이는 463-491bp였고, 염기서열을 정렬한 길이는 557bp였으며, 134개 뉴클레오티드지점에서 변이가 나타났고 그 중 122개 뉴클레오티드지점이 유효한 변이였다(Table 4, Appendix 1).

계통분석: 염기서열변이 비교분석에서 확인된 국내 좀

개구리밥속 2계열의 계통분류학적 위치를 파악하기 위해 본 연구에서 채집된 한국산 개구리밥과(Lemnaceae)와 GenBank에 등록된 개구리밥과의 염기서열을 사용하여 최대절약계통분석법(maximum parsimony analysis)을 통해 최대절약계통수(most parsimonious tree)를 산출한 결과, 171 step의 branch length를 갖는 36개의 최대절약계통수(MP tree)를 얻었으며, 유효하지 않은 변이 지점(uninformative site)을 제외하고 계산한 CI 값은 0.865, RI 값은 0.977이었다(Table 4). 이들 36개 최대절약계통수의 엄밀합의계통수(strict consensus tree)를 구한 결과, 좀개구리밥속은 전체적으로 단일계통군을 형성하였으며, 높은 bootstrap값(BS=95)에 의해 단일계통성이 지지되었다(Figure 2).

엄밀합의계통수에서 한국산 좀개구리밥속 식물 37개체군 중 18개체군은 *Lemna minor*와, 그 외 19개체군은 *L. aequinoctialis*와 깊은 유연관계를 나타내었다(Figure 2). 즉, 엄밀합의계통수에서 한국산 좀개구리밥속 개체들은 1) *L. minor*를 포함하는 clade와, 2) *L. aequinoctialis*를 포함하는 clade에 나누어 속하였다. *Lemna aequinoctialis*를 포함하는 clade는 두 개의 subclade로 분기되었으며, 한국산 좀개구리밥 개체들도 두 subclade로 세분되었다(Figure 2). 계통분석 결과는 염기서열 비교 분석 결과와 같은 양상으로 나타났다(Figure 1).

고 찰

한국산 좀개구리밥속(*Lemna*) 식물의 계통과 실제: 본 연구에서 우리나라에 분포하는 좀개구리밥속 식물은 분자계통학적으로 뚜렷이 차이가 나는 2개의 계열이 존재하는 것으로 밝혀졌으며, 두 계열 중 하나는 *L. minor* 및 *L. japonica*와 유연관계가 깊은 것으로 나타났고, 또 하나는 *L. aequinoctialis*와 유연관계가 깊은 것으로 나타나 2종 이상이 분포하는 것으로 판단된다(Figure 2). 또한, 본 연구기간에 좀개구리밥속과 더불어 개구리밥과 내 개구리밥속(*Spirodela*), 분개구리밥속(*Wolffia*) 및 점개구리밥속(*Landoltia*) 개체군이 채집되어 우리나라의 개구리밥과 식물은 4개 속이 분포하는 것으로 확인되었다(Table 2, Figure 2).

초창기 우리나라 식물을 집중적으로 연구한 Nakai(1911)가 한국산 좀개구리밥속 식물을 *L. minor*로 최초 보고한 이후, 우리나라의 학자들은 한국산 좀개구리밥속 식물에 대해 1종이 존재한다고 인식하고 *L. minor* 또는 *L. minor*를 이명처리하면서 채택한 학명 *L. paucicostata*를 사용하였다(Chung, 1937, 1957; Lee, T.B., 1980, 2003; Table 1). 한편, 근래의 학자들(Lee, Y.N., 1996; 2006; Lee, W.T., 1996; Choi, 2007; Table 1)도 선대 학자들(Chung, 1957;

Table 2. Collection data for 42 populations of the *Lemna minor* L. complex and other genera (Lemnaceae) in Korea

Population code	Collection date	Voucher information		
		Collection site	Latitude	Longitude
<i>Lemna minor</i> L. complex				
L001	2015.10.23.	Gangwon-do, Gangreung-shi, Wichoncheon Stream	37°45'35.09"N	128°50'16.06"E
L002	2015.10.23.	Gangwon-do, Yeongwol-gun, Near Jucheon High Sch.	37°47'43.93"N	128°53'50.52"E
L003	2015.10.23.	Gangwon-do, Wonju-shi, Munmakgyo	37°15'12.31"N	128°46'42.47"E
L005	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Namyangju-shi, Chasan-ri	37°18'30.87"N	127°48'34.77"E
L006	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Namyangju-shi, Geomdan-gyo	37°32'12.34"N	127°19'6.62"E
L008	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Pocheon-shi, Korea Arboretum	37°45'16.09"N	127°10'8.13"E
L009	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Pocheon-shi, Gunnae-myeon, rice paddy	37°51'46.44"N	127°13'31.13"E
L011	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Pocheon-shi, Myeongsan-ri	37°51'55.39"N	127°13'33.48"E
L012	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Siheung-shi, Gwan-gok pond	37°24'08.16"N	126°48'17.91"E
L013	2015.10.23.	Gyeonggi-do, Siheung-shi, Yeonkkot Thema park	37°24'08.16"N	126°48'17.91"E
L014	2015.10.28.	Gyeongbuk-do, Sangju-shi, hoesang-ri	36°27'28.75"N	128°15'49.22"E
L016	2015.10.28.	Gyeongbuk-do, Sangju-shi, Hyeonsin-dong	36°25'46.85"N	128°12'08.64"E
L017	2015.10.28.	Chungbuk-do, Chungju-shi, Dalcheongyo	36°57'39.38"N	127°53'35.84"E
L018	2015.10.28.	Chungbuk-do, Chungju-shi, Sinnamgyo	36°54'16.85"N	127°57'35.19"E
L019	2015.10.28.	Chungbuk-do, Chungju-shi, Neung-Am Wetland Park	36°59'32.04"N	127°54'39.34"E
L025	2015.11.05.	Gyeongbuk-do, Chilgok-gun, Yeong-O-gyo	35°55'48.14"N	128°29'19.53"E
L026	2015.11.05.	Gyeongbuk-do, Chilgok-gun, Sinnamgyo	36°54'16.85"N	127°57'35.19"E
L027	2015.11.05.	Gyeongnam-do, Changnyeong-gun, Mokpo Swamp 1	35°32'49.54"N	128°25'01.64"E
L029	2015.11.05.	Gyeongnam-do, Changnyeong-gun, Mokpo Swamp 3	35°32'49.54"N	128°25'01.64"E
L030	2015.11.05.	Gyeongnam-do, Uiryeong-gun, Sincheon-2-gyo	35°24'33.25"N	128°17'15.45"E
L031	2015.11.05.	Busan Metropolitan City, Samrak Eco-park	35°09'45.36"N	128°58'24.82"E
L032	2015.11.05.	Busan Metropolitan City, Samrak Yeonkkot-danji	35°09'45.36"N	128°58'24.82"E
L033	2015.11.05.	Gyeongnam-do, Miryang-shi, Miryang-gang River	35°31'15.94"N	128°46'28.19"E
L034	2015.11.17.	Chungnam-do, Taean-gun, Chollipo Arboretum	35°10'44.49"N	126°59'54.25"E
L035	2015.11.17.	Chungnam-do, Taean-gun, Duya-ri	34°27'54.06"N	126°18'43.31"E
L036	2015.11.18.	Jeonbuk-do, Jeonju-shi, Deokjin Park	35°50'51.42"N	127°07'19.00"E
L037	2015.11.18.	Gwangju Metropolitan City, Jeonpyeongje Pond	35°06'51.71"N	126°50'56.29"E
L039	2015.11.18.	Jeonnam-do, Gangjin-gun, Tamjin-gang River	34°38'03.91"N	126°48'44.32"E
L040	2015.11.18.	Jeonnam-do, Jangheung-gun, Jangheung-gyo	34°40'22.47"N	126°54'12.69"E
L041	2015.11.18.	Jeonnam-do, Suncheon-Shi, Kkum-ui-dari Bridge	34°55'45.19"N	127°30'06.18"E
L041-1	2015.11.18.	Jeonnam-do, Suncheon-Shi, Kkum-ui-dari Bridge	34°55'45.19"N	127°30'06.18"E
L042	2015.11.18.	Jeonbuk-do, Namwon-shi, Yocheon Stream	35°22'55.68"N	127°20'34.13"E
L043	2015.11.19.	Gyeongnam-do, Ham-yang-gun, Sangrim Forest	35°31'26.40"N	127°43'15.00"E
L044	2015.11.19.	Gyeongnam-do, Changwon-shi, Taebong-ri	35°09'32.59"N	128°30'09.17"E
L046	2015.12.05.	Jeju-do, Jeju-shi, Geum-Oreum Hillside small pond 1	33°27'12.14"N	126°43'16.29"E
L047	2015.12.05..	Jeju-do, Jeju-shi, Geum-Oreum, Hillside small pond 2	33°27'12.14"N	126°43'16.29"E
L051	2015.12.05.	Jeju-do, Seogwipo-shi, Suwol-i-mot Pond 2	33°15'28.92"N	126°16'42.79"E
<i>Landoltia punctata</i> (G.Mey.) Les & D.J.Crawford				
L038	2015.11.18.	Jeonnam-do, Muan-gun, Hoesanbakryeon-Ji Reservoir	34°51'43.37"N	126°31'38.30"E
L045	2015.12.05..	Jeju-do, Jeju-shi, Yunnam-mot Pond	33°28'06.16"N	126°22'06.39"E
L048	2015.12.05..	Jeju-do, Jeju-shi, Gangjeong-mot Pond 1	33°20'00.02"N	126°16'35.20"E
<i>Wolffia arrhiza</i> (L.) Horkel ex Wimm.				
L049	2015.12.05.	Jeju-do, Jeju-shi, Gangjeong-mot Pond 2	33°20'00.02"N	126°16'35.20"E
<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid.				
L050	2015.12.05..	Jeju-do, Seogwipo-shi, Suwol-i-mot Pond 1	33°15'28.92"N	126°16'42.79"E

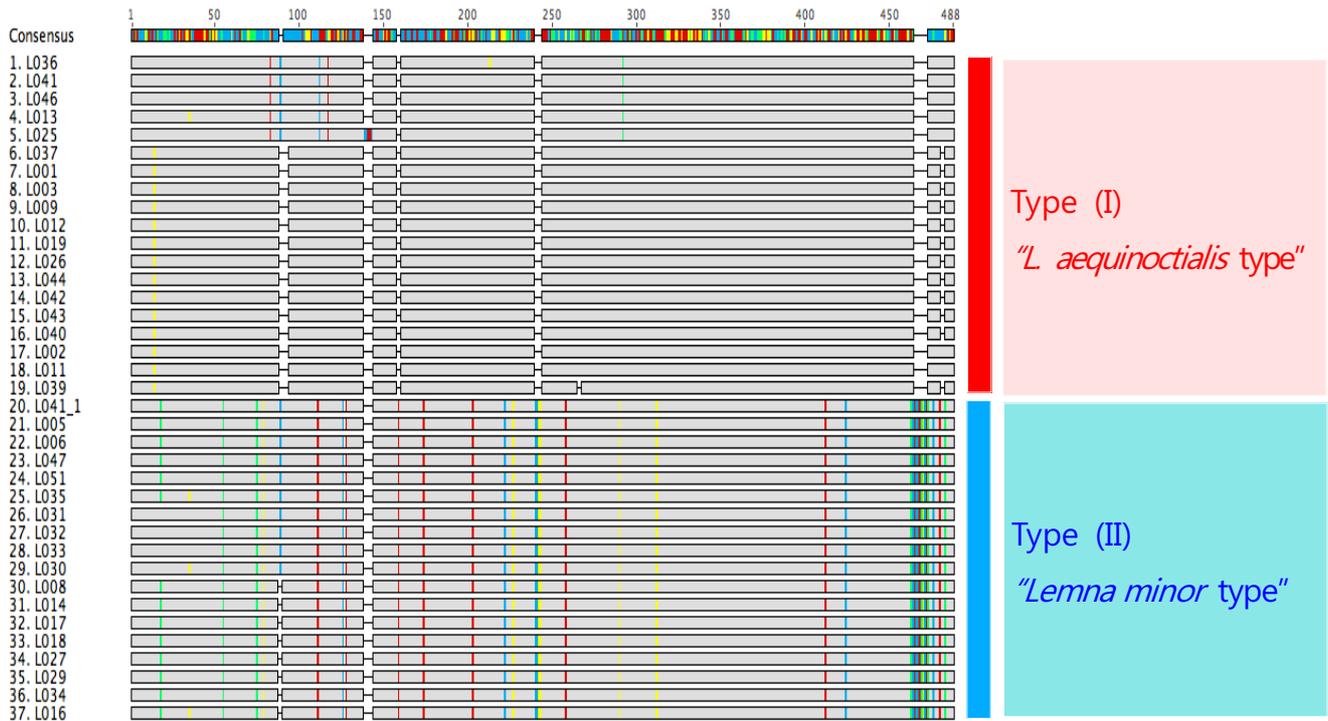


Figure 1. Aligned sequences of cpDNA *atpF-H* region from 37 populations of the genus *Lemna* in Korea. See Table 2 for population acronyms

Lee, 1980)이 사용한 학명(*L. paucicostata*)을 이명으로 처리하면서 새로운 학명 *L. perpusilla*를 사용하였으나, 한국산 좁개구리밥속 식물을 1종으로 인식하여 왔다(Table 1).

그러나 우리나라에 좁개구리밥속 식물이 1종이 분포한다는 우리나라 대부분 학자들의 기존 보고는 본 연구에서 분자계통학적으로 크게 2개의 계열이 있으며 더 세분될 가능성도 있다는 실험 결과와는 배치된다(Figure 1, 2). 박과 오 (Park and Oh, 1986)는 우리나라의 개구리밥(*Spirodela polyrrhiza*)과 좁개구리밥(*Lemna aequinoctialis*)의 분포에 대한 연구를 발표하면서 유속이 느린 하천에서 *Lemna japonica*가 생육한다고 처음으로 언급하였다. 그러나 그 이후에 우리나라의 식물분류학자들은 박과 오가 언급한 *L. japonica*에 대해 전혀 보고한 바가 없이 1종만 분포하는 것으로 발표해 왔으며, 박과 오 자신들도 해당 논문에서 *L. aequinoctialis*의 분포만 언급할 뿐 *L. japonica*에 대해서는 분포나 *L. aequinoctialis*와의 차이점과 같은 정보를 전혀 언급하지 않았다(Park and Oh, 1986; Table 1). 본 연구의 계통분석에서 한국산 좁개구리밥속 18개체군이 *L. minor* 및 *L. japonica*와 한 clade를 형성하고 있으므로 박과 오가 언급한 *L. japonica*가 이 18개체군과 유사한 종이라고 추정할 수는 있으나(Figure 2), *L. minor*와 *L. japonica*의 유연관계 및 동일종 여부를 포함하여 *L. japonica*의 실체에

대한 연구가 필요하다고 사료된다.

한편, 우리나라 대부분의 학자들이 *L. minor* 또는 *L. perpusilla* 1종만 생육한다는 견해는 주변국 학자들의 견해와 다르며, 학명 사용에 있어서도 견해 차이가 있다(Ohwi, 1965; Li and Landolt, 2010; Table 1, 5). Li and Landolt (2010)는 중국식물지(Flora of China) 개구리밥과(Lemnaceae) 편에서 좁개구리밥속(*Lemna*) 식물로 자국에 5종이 분포하며, 그 중 *L. turionifera* Landolt와 *L. japonica* Landolt가 인접국인 한국에 분포한다고 기재하였다(Table 5). 또한 그들은 본 연구에서 언급된 *L. minor*가 중국의 경우 극동아시아와는 떨어진 서티벳에 분포하며, 일본, 호주, 태평양의 섬들에 도입종으로 분포하고 있다고 기재하고 한국에 분포한다는 언급은 없다(Li and Landolt, 2010; Table 5). 그러나 본 연구의 DNA 분석 결과는 한국산 좁개구리밥속 식물들이 *L. turionifera*와 유전적으로 가깝지 않고 *L. minor* 및 *L. japonica*, *L. aequinoctialis*와 밀접한 관계가 있음을 보여준다(Figure 2).

Li and Landolt(2010)는 본 연구에서 언급된 *L. aequinoctialis*를 중국에 분포하는 종으로 기록하면서 *L. paucicostata*와 *L. perpusilla* Torr. var. *trinervis* Austin (\equiv *L. trinervis* (Austin) Small)를 *L. aequinoctialis*의 이명으로 처리하였다. 그리고, 과거 중국어판 중국식물지에서 *L. aequinoctialis*를

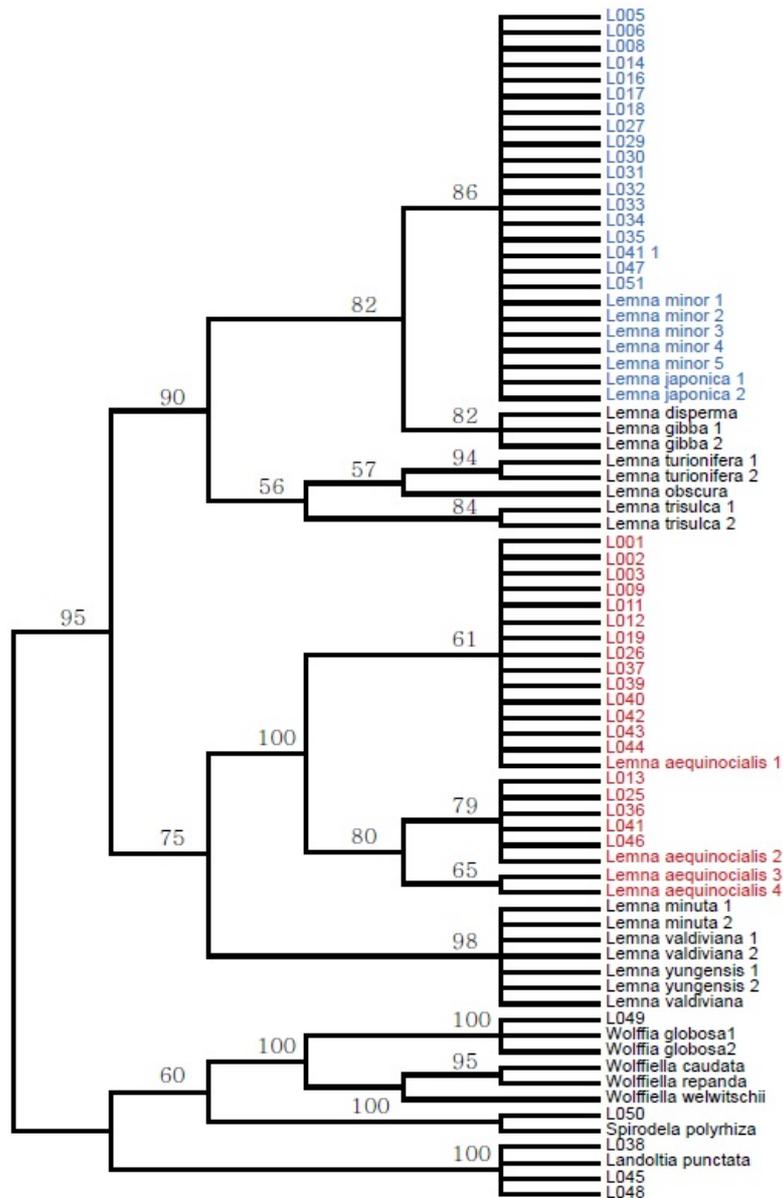


Figure 2. Strict consensus tree of the 36 most parsimonious trees (Length=171; CI = 0.865; RI = 0.977) obtained from maximum parsimony analysis of the cpDNA *atpF-H* region sequence data of the genus *Lemna* in Korea and related taxa. The species of other genera in Lemnaceae were used as outgroups. Bootstrap values higher than 50% are shown above the branches

L. perpusilla Torr. var. *perpusilla*라 한 것은 오동정이며, *L. aequinoctialis*와 *L. perpusilla* var. *perpusilla*는 같은 종이 아니고 중국에 *L. perpusilla* var. *perpusilla*는 존재하지 않는다고 주장하였다(Li and Landolt, 2010; Table 5). Li and Landolt(2010)가 *L. aequinoctialis*의 중국 내 분포지로 한국에 가까운 동쪽 대부분의 지역(헤이룽장성, 랴오닝성, 산둥성, 장수성, 저장성 푸젠성, 대만 등)을 언급하면서 전세계적으로 분포한다고 기술하였고, 한국에 분포하는 개체들 중 유전적

으로 *L. aequinoctialis*와 비슷한 개체군이 많은 본 연구결과로 볼 때, 우리나라에 분포하는 종 중 하나가 *L. aequinoctialis*일 가능성이 있다고 추론된다(Figure 2). 최근 식물지를 정리하거나 도감을 발간하는 우리나라 학자들은 좁개구리밥속 종의 학명을 *L. aequinoctialis*나 *L. paucicostata* 대신 *L. perpusilla*를 사용하고 있으므로(Table 1), *L. perpusilla*에 대한 정확한 분류학적 실체 확인이 필요하다.

상기한 바와 같이 본 연구에서 우리나라는 좁개구리밥속

Table 3. Species/individual codes and GenBank accession numbers for GenBank-downloaded *atpF*-H sequences used in this study

	Species/individual Code	Genbank accession number
MIN1	<i>Lemna minor</i> 1	GU454230
MIN2	<i>Lemna minor</i> 2	GU454229
MIN3	<i>Lemna minor</i> 3	HQ594751
MIN4	<i>Lemna minor</i> 4	GU454228
MIN5	<i>Lemna minor</i> 5	KF726193
JAP1	<i>Lemna japonica</i> 1	KJ921746
JAP2	<i>Lemna japonica</i> 2	KJ921747
GIB1	<i>Lemna gibba</i> 1	GU454224
GIB2	<i>Lemna gibba</i> 2	GU454223
DIS	<i>Lemna disperma</i>	GU454218
TUR1	<i>Lemna turionifera</i> 1	KF726146
TUR2	<i>Lemna turionifera</i> 2	GU454239
OBS	<i>Lemna obscura</i>	GU454235
TRI1	<i>Lemna trisulca</i> 1	GU454237
TRI2	<i>Lemna trisulca</i> 2	GU454238
AEQ1	<i>Lemna aequinoctialis</i> 1	KP017653
AEQ2	<i>Lemna aequinoctialis</i> 2	KJ630565
AEQ3	<i>Lemna aequinoctialis</i> 3	KJ630552
AEQ4	<i>Lemna aequinoctialis</i> 4	KP017640
MTA1	<i>Lemna minuta</i> 1	GU454234
MTA2	<i>Lemna minuta</i> 2	GU454233
VAL1	<i>Lemna valdiviana</i> 1	GU454241
VAL2	<i>Lemna valdiviana</i> 2	GU454242
YUN1	<i>Lemna yungensis</i> 1	KJ136034
YUN2	<i>Lemna yungensis</i> 2	KJ136035
PUN	<i>Landoltia punctata</i>	KF726217
POL	<i>Spirodela polyrhiza</i>	KF726220
GLO1	<i>Wolffia globosa</i> 1	KP017634
GLO2	<i>Wolffia globosa</i> 2	KJ630517
CAU	<i>Wolffiella caudata</i>	KJ136036
REP	<i>Wolffiella repanda</i>	KJ136040
WEL	<i>Wolffiella welwitschii</i>	KJ136043

식물이 2종 또는 그 이상이 분포할 가능성이 있고, 학명 사용에 있어서도 혼란이 있는 것으로 확인된 바 이는 1종이 분포한다는 기존의 보고와는 차이가 나는 것으로서, 향후 상세한 형태학적, 분자계통학적 연구를 수행하여 한국산 잠개구리밥속 식물의 분류학적 실체를 규명하는 것이 필요하

다고 판단된다.

잠개구리밥속 식물은 크기가 매우 작고 단순하며 꽃이 거의 피지 않아 형질 수가 적어 동정에 어려움이 많으며, 연구 시 거의 영양기관 형질만 이용할 경우가 많아 분류학적 연구를 수행하기가 어렵다. 예를들어, 본 연구에서

Table 4. Statistics for *atpF-H* data set and maximum parsimony analysis of this study. GenBank Data of 4 outgroup taxa and 12 *Lemna* taxa were included

	<i>atpF-H</i>
Sequence length (bp)	463-491
Aligned length (bp)	557
G+C ratio (%)	27.4-30.2
No. of variable sites (%)	134 (24.1)
No. of informative sites (%)	122 (21.9)
Tree length	171
No. of MP trees	36
Consistency index (CI)	0.865
Retention index (RI)	0.977

Table 5. Taxa of *Lemna* in E Asia recognized by Chinese and Japanese scholars

Author	Taxa Name	Taxonomic treatment (Synonym)	Note
Li and Landolt (2010) (Flora of China)	<i>L. trisulca</i> L.	-	China, Worldwide
	<i>L. turionifera</i> Landolt	-	China, Korea, N Japan
	<i>L. japonica</i> Landolt	putative hybrid between <i>L. minor</i> and <i>L. turionifera</i>	China, Korea, Japan
	<i>L. minor</i> L.	-	W.Xizang, introduced in Japan
	<i>L. aequinoctialis</i> Welw.	<i>L. paucicostata</i> <i>L. perpusilla</i> Torr. var. <i>trinervis</i> Austin (= <i>L. trinervis</i> (Austin) Small) ≠ <i>L. perpusilla</i> Torr. var. <i>perpusilla</i>	E China (including Liaoning, Shandong, Taiwan) ※ <i>L. perpusilla</i> var. <i>perpusilla</i> misapplied to this species ※ <i>L. perpusilla</i> var. <i>perpusilla</i> not exists in China
Ohwi(1965) (Flora of Japan)	<i>L. trisulca</i>	-	Japan, Worldwide
	<i>L. paucicostata</i> Hegelm.	-	Japan, widely distributed in tropical region
	<i>L. minor</i>	-	Japan, cosmopolitan, introduced in Hokkaido

GenBank로부터 *L. minor*와 *L. japonica*의 *atpF-H* 구간 염기서열 자료를 내려 받아 비교한 결과 두 종의 염기서열 차이가 거의 없었으나, Li and Landolt(2010)는 두 종을 구분되는 종으로 발표하였다(Table 5). 이러한 *L. minor*와 *L. japonica* 염기서열에 대한 GenBank의 자료가 오동정에서 비롯되었는지 중간 DNA 염기서열 변이 양상에서 오는 것 인지는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것이지만, 좁개구리밥속은 종의 구분, 동정, 학명 사용 등에 있어 많은 분류학적 문제점이 누적되어 있는 것으로 생각되며, 한국산 좁개구리

밥속을 이해하기 위해서는 전세계의 좁개구리밥속에 대한 전반적인 분류학적 재검토가 필요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구의 염기서열 분석과 자료 정리에 큰 도움을 주신 서울대학교 식물계통분류학연구실의 상카(Gauri Shankar Bhandari)에게 깊이 감사드립니다.

REFERENCES

- Cheng, J.J. and A.M. Stomp(2009) Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. *Clean – Soil, Air, Water* 37: 17-26.
- Choi, H.K.(2007) Lemnaceae. In: C.W. Park(ed.), *The Genera of Vascular Plants of Korea*, Academy Publishing Co., Seoul, 1096-1097pp.
- Chung, T.H.(1937) Jo-seon-sik-mul-hyang-myeong-jip.(Korean name of plant from Korea). Chosen Natural History Research Society, Seoul, 169pp.(in Korean, Chinese and Japanese)
- Chung, T.H.(1957) *Korean Flora Vol. 2. Herbaceous Plants*. Gyoyooksa, Seoul, 1125pp.(in Korean)
- Cui, W. and J. J. Cheng(2015) Growing duckweed for biofuel production: a review. *Plant Biology* 17:16-23.
- Cui W., J. Xu, J.J. Cheng, and A.M. Stomp(2011) Starch accumulation in duckweed for bioethanol production. *Biological Engineering* 3: 187-197.
- Felsenstein, J.(1985) Confidence limits on phylogeny: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., & Drummond, A.(2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28(12): 1647-1649.
- Kim, E.J. and S.K. Lee(2001) Use of Duckweed (*Lemna gibba*) growth-inhibition test to evaluate the toxicity of chromate in Korea. *Kor. J. Environ. Toxicol.* 16(4): 205-209.(in Korean with English abstract)
- Landolt, E.(1986) Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae), vol. 2. The family of Lemnaceae—a monographic study, volume 1. : Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH, Stiftung Rübel, in Zürich (71 Heft).
- Landolt, E.(2005) Lemnaceae. In: *Flora of North America* Editorial Committee(ed.), *Flora of North America*. Vol. 22. Oxford University Press, New York, 143-154pp.
- Leblebici Z. and A. Aksoy(2011) Growth and Lead Accumulation Capacity of *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza* (Lemnaceae): Interactions with Nutrient Enrichment. *Water Air Soil Pollut.* 214(1-4): 175-184.
- Lee, T.B.(1980) *Illustrated Flora of Korea*. Hyangmunsa, Seoul, 791pp.(in Korean)
- Lee, T.B.(2003) *Coloured Flora of Korea*. vol. 2. Hyangmunsa, Seoul, 910pp.(in Korean)
- Lee, W.T.(1996) *Lineamenta Florae Koreae*. vol. 1. Academy Publishing Co., Seoul, 1437-1438pp.(in Korean)
- Lee, Y.N.(1996) *Flora of Korea*. Kyohak Publishing Co., Seoul, 1247pp.(in Korean)
- Lee, Y.N.(2006) *New Flora of Korea*. vol. 2. Kyohak Publishing Co., Seoul, 885pp.(in Korean)
- Les, D.H. and D.J. Crawford(1999) *Landoltia* (Lemnaceae), a new genus of duckweeds. *Novon* 9: 530-533.
- Les, D.H., D.J. Crawford, E. Landolt, J. D. Gabel, and R.T. Kimball(2002) Phylogeny and Systematics of Lemnaceae, the Duckweed Family. *Syst. Bot.* 27: 221-240.
- Les, D.H., E. Landolt, and D.J. Crawford(1997) Systematics of the Lemnaceae (duckweeds): inferences from micromolecular and morphological data. *Pl. Syst. Evol.* 204: 161-177.
- Li, H. and E. Landolt(2010) Lemnaceae. In: Z.Y. Wu and P.H. Raven(eds.), *Flora of China*. Vol. 23., Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 80-83pp.
- Nakai, T.(1911) *Flora Koreana*. Pars secunda. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo 31: 1-573.
- Nakai, T.(1952) A synoptical sketch of Korean flora. The vascular plants indigenous to Korea, arranged in a new natural order. *Bull. Natl. Sci. Mus.*, Tokyo 31: 1-166.
- Ohwi, J.(1965) *Flora of Japan*. Smithsonian Institution, Washington, D.C.
- Park, B.-K. and I-H. Oh(1986) A study of distribution of Giant Duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) and Small Duckweed (*Lemna aequinoctialis*) in Korea. *Korean J. Ecol.* 9(3): 103-110.(in Korean with English abstract)
- Park, J.H. and S.I. Shim(2014) Influences of PAHs and Ammonium on Growth of Duckweed (*Lemna perpusilla* Torr.). *Korean J. Environ. Ecol.* 28(5): 510-515.(in Korean with English abstract)
- Rejmánková, E.(1975) Comparison of *Lemna gibba* and *Lemna minor* from the production ecological viewpoint. *Aquat. Bot.* 1: 423-427.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins(1997) The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 25: 4876-4882.
- Wang, W.(1990) Literature review on duckweed toxicity testing. *Environ. Res.* 52: 7-22.
- Wang, W., Y. Wu, Y. Yan, M. Ermakova, R. Kerstetter, and J. Messing (2010) DNA barcoding of the Lemnaceae, a family of aquatic monocots. *BMC Plant Biology* 10: 205.
- Xu, J., W. Cui, J.J. Cheng, and A.M. Stomp(2011) Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. *Biosystems Engineering* 110: 67-72.
- Xu, J., H. Zhao, A.M. Stomp and J.J. Cheng(2012) The production of duckweed as a source of biofuels. *Biofuels* 3(5): 589-601.

Appendix. Aligned sequences of cpDNA *atpF*-H region from 32 individuals of Lemnaceae registered in GenBank(NCBI) and from 42 populations of Lemnaceae collected in Korea. See Table 2, 3 for population and species acronyms.

Sites 1 through 100

L005	TACATTTTGCATATACTCTCCTCTTATAGATAGGACTAAAAAGAACAGA	----	GTTCCITTTTGTATTACTTCGCCCC	----	TTTGTITGATTCT
L006		----		----	
L008		----		----	
L014		----		----	
L016	G		----	
L017		----		----	
L018		----		----	
L027		----		----	
L029		----		----	
L030	T		----	
L031	G		----	
L032	T		----	
L033	T		----	
L034		----		----	
L035	G		----	
L041	1			----	
L047		----		----	
L051		----		----	
MIN1		----		----	
MIN2		----		----	
MIN3		----		----	
MIN4		----		----	
MIN5		----		----	
JAP1		----		----	
JAP2		----		----	
D1S		----T	----	
G1B1		----GTTCT	----	
G1B2		----GTTCT	----	
TUR1		----T	----	
TUR2		----T	----	
OBS		----TT	
TR11		----T	----	
TR12		----TTTTG	
L001	GTTC
L002	GTTC
L003	GTTC
L009	GTTC
L011	GTTC
L012	GTTC
L019	GTTC
L026	GTTC
L037	GTTC
L039	GTTC
L040	GTTC
L042	GTTC
L043	GTTC
L044	GTTC
AEQ1	GTTC
L013	GTTC
L025	TTTC
L036	TTTC
L041	TTTC
L046	TTTC
AEQ2	TTTC
AEQ3	TTTC
AEQ4	TTTG
MTA1	GCTC
MTA2	GCTC
VAL1	GCTC
VAL2	GCTC
YUN1	GCTC
YUN2	GCTC
VAL3	GCTC
L049	GATCTC
GL01	GATCTC
GL02	GATCTC
CAU	GTCTC
REP	GTCTC
WEL	GTCTC
L050	TCTC
POL	TCTC
L038	TCTG
PUN	TCTG
L045	TCTG
L048	TCTG

Appendix. (Continued).

Sites 101 through 200

	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
L005	TTTTTTTTTT	TATGGGATTTAAAAAT		GGAATAGATTAATAATTAAT		TTAATTGAGAACTTT		ATTTATTAT		
L006										
L008										
L014										
L016										
L017										
L018										
L027										
L029										
L030										
L031										
L032										
L033										
L034										
L035										
L041	1									
L047										
L051										
MIN1										
MIN2										
MIN3										
MIN4										
MIN5										
JAP1										
JAP2										
DIS		T		G	G					
GIB1		T								
GIB2		T								
TUR1		TT		T						
TUR2		TT		T						
OBS		T						G		
TR11		T								
TR12		T								
L001		T		G.C	C					
L002		T		G.C	C					
L003		T		G.C	C					
L009		T		G.C	C					
L011		T		G.C	C					
L012		T		G.C	C					
L019		T		G.C	C					
L026		T		G.C	C					
L037		T		G.C	C					
L039		T		G.C	C					
L040		T		G.C	C					
L042		T		G.C	C					
L043		T		G.C	C					
L044		T		G.C	C					
AEQ1		T		G.C	C					
L013		TT	A	G.C	C					
L025		TT	A	G.C	CTTAAT					
L036		TT	A	G.C	C					
L041		TT	A	G.C	C					
L046		TT	A	G.C	C					
AEQ2	TT	T	A	G.C	C					
AEQ3		T	A	G.C	C					
AEQ4		TT	A	G.C	C					
MTA1		TT	T	G	TT	A	G	TATTTAT		
MTA2		TT	T	G	TT	A	G	TATTTAT		
VAL1		TT	T	G	TT	A	G	TATTTAT		
VAL2		TT	T	G	TT	A	G	TATTTAT		
YUN1		TT	T	G	TT	A	G	TATTTAT		
YUN2		TT	T	G.C	TT	A	G	TATTTAT		
VAL3		TT	T	G	TT	A	G	TATTTA		
L049		TTG.T	TTTATTTT	C	TTAAT	A	A.G	TATTTA		
GL01		TTG.T	TTTATTTT	C	TTAAT	A	A.G	TATTTA		
GL02		TTG.T	TTTATTTT	C	TTAAT	A	A.G	TATTTA		
CAU		TTTCT	TTT		CAT		A	C.TATTTTATA		
REP		TTTCT	TTT		CAT		A	C.TATTTTATA		
WEL		TTTCT	TTTTTTT		CAT		A	C.TATTTTATA		
L050		TTT		C			A			
POL		TTT		C			A			
L038	A.GG	T		T.G		TTA		TATTTTATA		
PUN	A.GG	T		T.G		TTA		TATTTTATA		
L045	A.GG	T		T.G		TIA		TATTTTATA		
L048	A.GG	T		T.G		TTA		TATTTTATA		

Appendix. (Continued).

Sites 201 through 300

	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
L005	-----	-----	TATTTAATTCTAATTAAGTTTACAATTACAAGAACATAC	-----	-----	-----	-----	TTATTGGGTTAGGTCCT	-----	GGCTATTTTGT
L006	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L008	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L014	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L016	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L017	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L018	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L027	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L029	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L030	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L031	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L032	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L033	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L034	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L035	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L041	1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L047	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L051	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MIN1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MIN2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MIN3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MIN4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MIN5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
JAP1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
JAP2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
DIS	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
GIB1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
GIB2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
TUR1	-----	-----	-----	T	-----	-----	-----	A	-----	-----
TUR2	-----	-----	-----	T	-----	-----	-----	A	-----	-----
OBS	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	A	T	GGCT
TRI1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
TRI2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L001	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L002	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L003	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L009	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L011	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L012	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L019	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L026	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L037	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L039	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L040	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L042	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L043	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L044	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
AEQ1	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L013	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L025	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L036	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L041	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
L046	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
AEQ2	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
AEQ3	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
AEQ4	-----	-----	-----	T	-----	G	-----	G	-----	A
MTA1	TTTAGTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
MTA2	TTTAGTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
VAL1	TTTAGTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
VAL2	TTTAGTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
YUN1	TTTAGTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
YUN2	TTTAGTCT-AATTAAC	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
VAL3	GTCT-AATTAAA	-----	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	A
L049	-----	GAA	AA	A	-----	TC	TTATT	-----	-----	G
GL01	-----	GAA	AA	A	-----	TC	TTATT	-----	-----	G
GL02	-----	GAA	AA	A	-----	TC	TTATT	-----	-----	G
CAU	TT	GACT	A	GA	-----	C	T	-----	-----	G
REP	TT	GACT	A	GA	-----	C	T	-----	-----	G
WEL	TT	GACT	A	GA	-----	C	T	-----	-----	G
L050	-----	A	T	-----	A	AGT	-----	G	-----	G
POL	-----	A	T	-----	A	AGT	-----	G	-----	G
L038	ATAATTAATATTCTAAATTA	-----	CT	A	TA	-----	G	-----	-----	G
PUN	ATAATTAATATTCTAAATTA	-----	CT	A	TA	-----	G	-----	-----	G
L045	ATAATTAATATTCTAAATTA	-----	CT	A	TA	-----	G	-----	-----	G
L048	ATAATTAATATTCTAAATTA	-----	CT	A	TA	-----	G	-----	-----	G

Appendix. (Continued).

Sites 301 through 400

	CAATTGGTAAATACCTTGT	TATTGCGTTACAACGC	ACTCAAAAAA	-GTTTTGCATTACATTATACTA	AAGAACTGAAAAACGGGAAGGAAGAAAGCGGAG
L005
L006
L008
L014
L016
L017
L018
L027
L029
L030
L031
L032
L033
L034
L035
L041
L047
L051
MIN1
MIN2
MIN3
MIN4
MIN5
JAP1
JAP2
DIS	T	-A
GIB1	T	-A
GIB2	T	-A
TUR1	A	G	A
TUR2	A	G	A
OBS	A	C	G	C
TR11	A	T	G
TR12	A	T	G
L001	G	C
L002	G	C
L003	G	C
L009	G	C
L011	G	C
L012	G	C
L019	G	C
L026	G	C
L037	G	C
L039	G	C
L040	G	C
L042	G	C
L043	G	C
L044	G	C
AEQ1	G	C
L013	G	C
L025	G	C
L036	G	C
L041	G	C
L046	G	C
AEQ2	G	C
AEQ3	G	C
AEQ4	G	C
MTA1	A	G	C
MTA2	A	G	C
VAL1	A	G	C
VAL2	A	G	C
YUN1	A	G	C
YUN2	A	G	C
VAL3	A	G	C
L049	A	C	G	G
GL01	A	C	G	G
GL02	A	C	G	G
CAU	A	C	G	G
REP	A	C	G	G
WEL	A	C	G	G
L050	A	C	G	G
POL	A	C	G	G
L038	A	C	G	G
PUN	A	C	G	G
L045	A	C	G	G
L048	A	C	G	G

Appendix. (Continued).

Sites 401 through 500

	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
L005	AGGATCTGCTAATTACTAATCCTAAAATCAGTCCTCCCGGAGGTATTCTCTCAACGAATAAGTAATTGTTAGAGTACAATGTTGATATAAATCGAAGAA									
L006									
L008									
L014									
L016									
L017									
L018									
L027									
L029									
L030									
L031									
L032									
L033									
L034									
L035									
L041									
L047									
L051									
MIN1									
MIN2									
MIN3									
MIN4									
MIN5									
JAP1									
JAP2									
D1S									
G1B1									
G1B2									
TUR1								C	
TUR2								C	
OBS								C	
TR11								C	
TR12								C	
L001							G		G
L002							G		G
L003							G		G
L009							G		G
L011							G		G
L012							G		G
L019							G		G
L026							G		G
L037							G		G
L039							G		G
L040							C		G
L042							G		G
L043							G		G
L044							G		G
AEQ1							G		G
L013							G		G
L025							G		G
L036							G		G
L041							G		G
L046							G		G
AEQ2							G		G
AEQ3							G		G
AEQ4							G		G
MTA1							G		G
MTA2							G		G
VAL1							G		G
VAL2							G		G
YUN1							G		G
YUN2							G		G
VAL3							G		G
L049							G		G
GL01				A			T	G	T.A.G
GL02				A			T	G	T.A.G
CAU				A			T	G	T.A.G
REP		G					C	G	CG
WEL		G					C	G	CG
L050		G					C	G	CG
POL								G	
L038	C			A			T	G	
PUN	C			A			T	G	
L045	C			A			T	G	
L048	C			A			T	G	

Appendix. (Continued).

Sites 501 through 557

	*	*	*	*	*
L005	GCAAAAAGCAAGTCTAAGTCAAAAA	---	GTCTATTACGTACTTTTTT	---	ATTCTAGAA
L006	---	---
L008	---	---
L014	---	---
L016	---	---
L017	---	---
L018	---	---
L027	---	---
L029	---	---
L030	---	---
L031	---	---
L032	---	---
L033	---	---
L034	---	---
L035	---	---
L041	---	---
L047	---	---
L051	---	---
MIN1	---	---
MIN2	---	---
MIN3	---	---
MIN4	---	---
MIN5	---	---
JAP1	---	---
JAP2	---	---
DIS	---	---	TG
GIB1	---	---	TG
GIB2	---	---	TG
TUR1	---	---
TUR2	---	---
OBS	---	---	-G
TR11	---	G	---
TR12	---	G	---
L001	-----	C	---	-T . G
L002	-----	C	---	T-T . G
L003	-----	C	---	-T . G
L009	-----	C	---	-T . G
L011	-----	C	---	T-T . G
L012	-----	C	---	-T . G
L019	-----	C	---	-T . G
L026	-----	C	---	-T . G
L037	-----	C	---	-T . G
L039	-----	C	---	-T . G
L040	-----	C	---	-T . G
L042	-----	C	---	-T . G
L043	-----	C	---	-T . G
L044	-----	C	---	-T . G
AEQ1	-----	C	---	T-T . G
L013	-----	C	---	T-T . G
L025	-----	C	---	T-T . G
L036	-----	C	---	T-T . G
L041	-----	C	---	T-T . G
L046	-----	C	---	T-T . G
AEQ2	-----	C	---	T-T . G
AEQ3	-----	C	---	T-T . G
AEQ4	-----	C	---	T-T . G
MTA1	---	G C	---
MTA2	---	G C	---
VAL1	---	G C	---
VAL2	---	G C	---
YUN1	---	G C	---
YUN2	---	G C	---
VAL3	---	G C	---
L049	---	CA	---
GLO1	---	CA	---
GLO2	---	CA	---
CAU	ATAA	G	---
REP	ATAA	G	---
WEL	A	ATAA	G
L050	A	AAA TACG	A TTC
POL	A	AAA TACG	A TTC
L038	A	A	-C . A
PUN	A	A	-C . A
L045	A	A	-C . A
L048	A	A	-C . A