

ITS 염기서열에 의한 미치광이풀속의 계통

김영동^{1*}, 백진협², 김성희¹, 홍석표²
(한림대학교 생명과학부¹, 경희대학교 생물학과²)

Scopolia s. str.(미치광이풀속) 및 그 근연속인 *Anisodus*, *Atropanthe* 등을 대표하는 8 분류군으로부터 얻은 14개체를 대상으로 핵 ribosome DNA의 ITS 염기서열 결정을 실시하였다. 그 결과 한반도 고유종인 *S. parviflora*(미치광이풀)은 ITS 전체 길이와 염기서열 변이에 있어서 근연종인 *S. japonica*와 매우 큰 차이가 있음이 밝혀졌다. 이와 같은 결과는 두 종을 동일시했던 대부분의 분류학적 견해와 배치되는 것이다. 한편, *S. parviflora*는 유럽에 격리분포하는 종인 *S. carniolica*와 더 가까운 계통유연관계를 나타냈다. *S. japonica*가 *S. parviflora* 및 *S. carniolica*와 높은 유전적 차이를 나타내는 것과는 대조적으로 매우 높은 형태적 유사성을 보이는 것은 이들이 오랜 격리기간에도 불구하고 유사한 생육환경에 처함으로 인해 형태진화가 지연되었거나 비슷한 형질을 갖는 방향으로 진화가 일어났을 것이라는 형태정체(morphological stasis) 개념으로 이해되었다. 다른 한반도 고유종인 *S. lutescens*(노랑미치광이풀)은 *S. parviflora*와 ITS 염기서열이 거의 동일하였고 계통수 상에서도 두 종에 속하는 개체들이 전혀 구분되지 않는 것으로 밝혀졌다. 자연개체군 내에서 이들 두 종을 구분하는 주요 식별형질들의 유용성도 결여되어 *S. lutescens*는 *S. parviflora*의 품종 혹은 단순한 개체 변이로 이해되었다. 한편, *Scopolia*속으로 최초 기재되었다가 화분의 형질에 의해 *Anisodus*속으로 이전되었던 *A. carniolicoides*는 *A. luridus* 및 *A. tanguticus*와 단계통군을 형성하였으며 *Anisodus*는 단형속인 *Atropanthe*와 자매군 관계를 형성하였다.

주요어 : 계통, 미치광이풀속, 염기서열 변이, *Anisodus*, *Atropanthe*, ITS

미치광이풀속(*Scopolia* Jacq.)은 가지과(Solanaceae Adans.)의 Hyoscyameae DC.속에 속하는 분류군이다. Hyoscyameae속은 *Scopolia s. str.*(4종)을 포함하여 모두 6속(e.g., *Anisodus* Link, 4종; *Atropanthe* Pascher, 1종; *Przewalskia* Maxim., 1종; *Hyoscyamus* L., 20종; *Physochlaina* G. Don, 9종)으로 구성된 분류군이다(Lu and Zhang, 1986). 이들 가운데 *Scopolia s. str.*, *Anisodus*, 및 *Atropanthe*는 단계통군(monophyletic group)을 형성하는

*교신저자 : 전화: (033) 248-2095, 전송: (033) 256-3420, 전자우편: ydkim@hallym.ac.kr
(접수: 2003년 9월 26일, 완료: 2003년 11월 8일)

것으로 여겨지고 있으며 학자에 따라 *Scopolia s. lat.*로 통합되어 처리되기도 한다(Hoare and Knapp, 1997). 한편, *Scopolia s. str.*에 속하는 종들은 동부유럽/서아시아(Alps, Carpathian Mts., Caucasus 등)와 동아시아(한국, 일본)에 격리 분포하며, 이와 밀접한 분류군으로 여겨지는 *Anisodus*는 중국 남서부와 네팔, 부탄, 인도(히말라야 지역)등지에, 또 다른 근연속인 *Atropanthe*는 중국의 Yunnan 북부, Hubei 서부, Sichuan 남부지역에 각각 제한적으로 분포하는 것으로 알려져 있다(Lu and Zhang, 1986; Lu, 1986; D'Arcy, 1991).

*Scopolia s. str.*에 포함되는 종들 가운데 한반도에 자생하는 분류군에는 한반도 고유종으로 알려진 *S. parviflora* (Dunn.) Nakai(미치광이풀)과 최근에 Lee(1993)에 의해 경기도 광덕산에서 발견되어 기재된 *S. lutescens* Y. N. Lee(노랑미치광이풀)이 있다. 그러나 *S. parviflora*의 경우 일본의 *S. japonica* Maxim.와 외형상 매우 유사하여 이들 중에 대한 분류학적 처리가 논쟁의 대상이 되고 있다(Paik, 2002). Lee and Oh(1971)는 이 두 분류군에 대한 세포학 및 일부 해부학적 형질을 조사한 결과 *S. parviflora*와 *S. japonica*의 염색체의 경우 각각 $2n=48$ 과 84 로 다르며, 엽맥과 (줄기 내)유관속 수는 *S. japonica*가 *S. parviflora*에 비해 더 적기 때문에 이들을 구별하는 것이 가능하다고 주장하였다. 그러나 최근 이 두 종을 동일한 분류군으로 처리하고 있고(Lu and Zhang, 1986; Yamazaki, 1993), Lee(1996)도 이러한 견해를 따르고 있어 이에 대한 좀 더 집중적인 계통분류학적 연구가 요구되는 실정이다. 한편, *S. lutescens*의 경우 역시 *S. japonica* for. *lutescens* J. Sugimoto로 동일시되는 등 별개의 종으로서 인식하는 것에 대한 의문이 제기되고 있다(Paik, 2002).

Hyoscyameae속 내의 분류군에 대한 계통 유연관계에 대하여 Lu and Zhang(1986)은 주로 외부형태학적 특징(화관과 꽃받침의 크기, 화관의 형태, 등)을 기술하면서 본 족을 두 개의 군 즉, 원시적인 분류군인 *Scopolia s. str.*과 이로부터 파생된 *Anisodus*, *Atropanthe* 및 *Przewalskia*를 포함하는 군과, 나머지 두 개의 속(*Hyoscyamus*와 *Physochlaina*)을 포함하는 군으로 각각 분류한 바 있다. 그러나 이들의 연구는 형질들에 대한 객관적 분석이 아닌 각 분류군의 분포양상에 주로 의존한 것이어서 계통연구로서의 한계를 보였다. 한편, 본 연구대상의 주된 분류군인 *Scopolia s. str.* 및 근연속들(*Anisodus*, *Atropanthe*)간의 속간 유연관계 및 분류학적 문제점을 해결하기 위한 그동안의 연구는 주로 외부 형태 형질과 일부 화학적 증거를 위주로 진행되어 왔을 뿐이며(D'Arcy and Zhang, 1992), 기타 여러 가지 유용한 분류학적 형질들(종자, 해부학적 구조, 영양기관의 미세구조 등)은 극히 일부분의 분류군에 국한되어 관찰이 이루어졌을 뿐이다(Paik, 2002).

유전자 염기서열을 통한 계통분류학적 연구의 중요성에 대하여 관심이 높아지고 있는 가운데, Olmstead and Palmer(1992)에 의한 제한효소 절단양상 분석과 Olmstead and Sweere(1994)에 의한 염기서열 분석 등, 가지과 전체를 대상으로 분자계통학적 연구가 수행되어, 그 결과 가지과를 구성하는 몇몇 단계통군이 밝혀지기도 하였다. 그러나 위 논문에서 *Scopolia s. str.*는 연구 대상에 포함되지 않았고, 최근 수행된 Hyoscyameae족에 대한 분자계통학적 연구(Zhang and Lu, 2000) 역시 *Scopolia*에 대해서는 상세한 분류학적 논의를 진행하지 못하였다.

Table 1. Taxa in *Scopolia s. str.* and related genera newly sequenced for ITS regions of nuclear rDNA. Voucher specimens are deposited at KHUS (Kyung Hee University), WU, TI, E, BM, and MO.

Taxon, abbreviation	Voucher	Locality/Origin
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA1	Paik 50101, KHUS	Korea, Gyeonggi
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA2	Paik 414, KHUS	Korea, Gyeonggi
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA3	Paik 0417, KHUS	Korea, Gangwon
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA4	Paik 50401, KHUS	Korea, Gyeongnam
<i>Scopolia lutescens</i> Y. N. Lee, SCLU1	Paik 0507, KHUS	Korea, Gyeonggi
<i>Scopolia lutescens</i> Y. N. Lee, SCLU2	Paik 428, KHUS	Korea, Gyeonggi
<i>Scopolia carniolica</i> Jacq., SCCA1	Walter 143, WU	Botanical Garden, University of Vienna
<i>Scopolia carniolica</i> Jacq., SCCA2	Paik 0011, KHUS	Uppsala Bot. Gard.
<i>Scopolia japonica</i> Maxim., SCJA1	Paik 3711, KHUS	Japan, Shizuoka
<i>Scopolia japonica</i> Maxim., SCJA2	Yamazaki s.n., TI	Japan, Ishikawa
<i>Anisodus luridus</i> Link, ANLU	Paik 200208, KHUS	Nepal
<i>Anisodus carniolicoides</i> (C.Y. Wu & C. Chen) D'Arcy & Zhi Y. Zhang, ANCA	Alden et al. 975, E	China (without precise locality)
<i>Anisodus tanguticus</i> (Maxim.) Pascher, ANTA	Ho et al. 2145, BM	China, Qinghai
<i>Atropanthe sinensis</i> (Hemsl.) Pascher, ATSI	Sino-Amer. Exped. 483, MO	China, W. Hubei

따라서 본 연구에서는 한반도 고유종(2종)을 포함하고 있는 *Scopolia s. str.* 내의 모든 종(총 4종)과 이와 근연관계에 있는 *Anisodus*와 *Atropanthe*의 계통유연관계를 구명하여 한반도 고유 분류군인 *Scopolia parviflora*와 *S. lutescens* 및 그 근연 분류군들을 둘러싼 분류학적 문제들에 대해 집중적으로 논의하고자 하였다. 이를 위하여 종간 유연관계 연구에 있어서 유용성이 높은 핵 ribosome 18S-26S DNA의 internal transcribed spacer (ITS) 구간에 대한 염기서열을 결정하여 계통분석을 수행하였다.

재 료 및 방 법

Scopolia s. str., *Anisodus*, 그리고 *Atropanthe* 분류군을 대표하는 총 8종(14개체)에 대한 ITS 염기서열 결정을 수행하기 위해 사용된 DNA시료는 한국, 일본, 네팔 등 야외에서 직접 채집하거나 식물원에서 재배하고 있는 생체 혹은 국내외 표본관(BM, E, KHUS, MO, WU)에 소장된 표본에서 절취한 잎으로부터 각각 추출하였다 (Table 1).

DNA는 생체의 경우 CTAB 방법(Doyle and Doyle, 1987)으로 추출하였고, 표본으로부터 얻은 일부 재료로부터의 DNA 추출은 Loockerman and Jansen(1996)의 방법을 따랐다. Polymerase chain reaction (PCR)은 주형 DNA 20-50 ng, 10X buffer 10 μ l, 200 μ M의 dNTPs 8 μ l, 50 pmol의 primers 각각 1 μ l, 2.5 units의 ExTaq (Takara Co.) 및 증류수가 포함된 총 100 μ l의 반응액을 95°C에서 3분 동안 1차 denaturation한 후, denaturation 95°C 1분, annealing 50°C 1분, extension 72°C 1분으로 구성된 반응을 30회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 10분간 extension하여 수행하였다. PCR 반응액은 QIAquick PCR purification kit (Qiagen Inc., Valencia, CA)으로 정제하였으며 이를 통해 얻어진 DNA를 염기서열 결정에 사용하였다. PCR과 염기서열 결정에는 White *et al.*(1990)에 의해 제작된 primers를 사용하였으나 primer ITS1의 경우 다음과 같이 밑줄 친 두 개의 염기를 달리하는 primer (5'-GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3')를 별도로 제작하여 사용하였다. 염기서열은 ABI PRISM 377 (PE Applied Biosystems) 염기서열 자동분석기를 이용해 결정하였다. 한편, 분석 외군(outgroup)은 기존의 연구결과를 토대로(Olmstead and Palmer, 1992) *Scopolia*가 속한 족과 가장 가까운 족에 속하는 *Atropa belladonna* L.를 이용하였고 이 종의 ITS 염기서열은 Genbank에서 얻었다(accession numbers: *A. belladonna* 1 - AB019288 [ITS 1], AB019948 [ITS 2]; *A. belladonna* 2 - AY028129 [ITS 1], AY028147 [ITS 2]).

결정된 염기서열의 ITS 1, 2 구간은 기존의 연구 결과(Suh *et al.*, 1993; Kim and Jansen, 1994)와 비교하여 결정하였고, Clustal W (ver. 1.6, Thomson *et al.*, 1995) 및 최종 수작업으로 정렬하였다. 정렬 결과 발생한 gap은 이후 분석과정에서 결여형질(missing characters)로 처리하였다. 염기서열 간의 유전적 거리(Kimura's 2 parameter 방법; Kimura, 1980)계산과 neighbor-joining, maximum-likelihood, 및 parsimony 계통수의 제작은 PAUP* ver. 4.0b (Swofford, 2002)를 사용하여 수행하였다. Maximum-likelihood 계통수의 경우 HKY85 (Hasegawa *et al.*, 1985)모델을 기본으로 다양한 transversion/transition 값(초기 2.0 및 1차 계통수에서 산출된 값)과 shape parameter를 적용해 heuristic search (TBR branch-swapping)를 수행하여 제작하였다. Parsimony 분석에서는 가장 parsimony한 계통수를 찾는 것을 보장하는 branch-and-bound 사양을 적용하였다. 한편, 단계통군의 지지도를 알아보기 위해 위의 세 가지 분석에 대해 각각 동일한 사양으로 bootstrap 분석(Felsenstein, 1985)을 수행하였다(1000 replicates).

Table 2. Size and G+C% of ITS 1 and 2 of *Scopolia s. str.* and related taxa.

Taxon, abbreviation	ITS 1		ITS 2	
	length	G+C%	length	G+C%
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA1	245	71.8	224	74.5
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA2	246	71.9	224	74.5
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA3	245	72.2	224	74.5
<i>Scopolia parviflora</i> (Dunn.) Nakai, SCPA4	243	71.6	224	74.5
<i>Scopolia lutescens</i> Y. N. Lee, SCLU1	234	71.3	224	74.5
<i>Scopolia lutescens</i> Y. N. Lee, SCLU2	231	70.9	224	74.5
<i>Scopolia carniolica</i> Jacq., SCCA1	246	73.9	224	74.4
<i>Scopolia carniolica</i> Jacq., SCCA2	246	73.5	224	74.4
<i>Scopolia japonica</i> Maxim., SCJA1	161	68.3	187	74.3
<i>Scopolia japonica</i> Maxim., SCJA2	162	67.9	187	74.3
<i>Anisodus luridus</i> Link, ANLU	236	69.9	225	72.4
<i>Anisodus carniolicoides</i> (C.Y. Wu & C. Chen) D'Arcy & Z.-Y. Zhang, ANCA	185	66.4	194	69.5
<i>Anisodus tanguticus</i> (Maxim.) Pascher, ANTA	247	70.8	225	72.0
<i>Atropanthe sinensis</i> (Hemsl.) Pascher, ATSI	243	71.6	224	72.3
<i>Atropa belladonna</i> L., ATBE1	237	70.0	229	65.0
<i>Atropa belladonna</i> L., ATBE2	240	70.0	223	65.4
after alignment	261	-	229	-

결 과

1. 염기서열 분석

본 실험을 통해 얻어진 ITS지역(1과 2) 염기서열의 길이와 G+C%는 Table 2에 정리하였다. ITS 1과 2의 길이는 각각 161-247bp, 187-229bp로 비교적 심한 변이가 관찰되었다. 평균 길이는 ITS 1이 2보다 더 길었고, 길이변이는 ITS 1이 2에 비해 더 높게 나타났다. *Scopolia japonica*와 *Anisodus carniolicoides*의 경우 ITS 지역이 다른 종에 비해 매우 짧은 특징을 보였으나, 이들을 제외한 나머지 분류군들 사이의 각 ITS지역 길이차이는 10 bp 이내였다. *S. parviflora*와 *S. lutescens*의 경우 insertion/deletion (indel)에 의한 길이 변이를 제외하고는 전 지역에 걸쳐 동일한 염기서열을 나타냈다. 모든 개체들의 ITS 지역에 대한 정렬에 의해 gap이 발생했으며 그 결과 ITS 1, 2는 각각 261, 229bp로 재정리 되었다(Fig. 1). G+C%는 일반적으로 ITS 2가 1에 비해 약간 높았으며(약 1-3% 포인트), 전체적으로 약 71%로 계산되었다.

한편, 염기서열거리(sequence distance)를 계산한 결과는 Table 3에 정리하였다. 가장 긴 거리(17.252)는 *Scopolia japonica*와 분석외군인 *Atropa belladonna* 사이에서 관찰되었다. *Scopolia s. str.* 내에서는 *S. parviflora*와 *S. lutescens* 사이의 거리는 0이었고, 반면 이들과

Table 3. Pairwise sequence distance between taxa examined. Absolute distances are shown below the diagonal, and sequence divergence values(X100) by Kimura's two parameter method are above diagonal. Refer Table 1 and 2 for taxon abbreviations.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 SCPA1	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	2.132	2.345	11.304	11.304	11.283	11.051	11.638	11.547	16.079	15.859
2 SCPA2	0	-	0.000	0.000	0.000	0.000	2.128	2.340	11.561	11.561	11.258	11.022	11.828	11.522	16.044	15.824
3 SCPA3	0	0	-	0.000	0.000	0.000	2.132	2.345	11.561	11.561	11.062	11.022	11.828	11.329	16.044	15.824
4 SCPA4	0	0	0	-	0.000	0.000	2.141	2.355	11.594	11.594	11.283	11.051	11.905	11.597	16.150	15.929
5 SCLU1	0	0	0	0	-	0.000	2.183	2.402	11.561	11.561	11.512	11.172	11.921	11.583	16.027	15.801
6 SCLU2	0	0	0	0	0	-	2.198	2.418	11.561	11.561	11.591	11.264	11.778	11.685	15.873	15.646
7 SCCA1	10	10	10	10	10	10	-	0.213	10.983	10.983	11.479	10.215	11.828	10.217	16.264	15.604
8 SCCA2	11	11	11	11	11	11	1	-	10.983	10.983	11.700	10.484	13.043	10.435	16.484	15.824
9 SCJA1	39	40	40	40	40	40	38	38	-	0.000	13.913	13.183	12.968	14.620	17.009	15.929
10 SCJA2	39	40	40	40	40	40	38	38	0	-	13.913	13.183	12.931	14.620	17.251	16.176
11 ANLU	51	51	50	51	51	51	52	53	48	48	-	2.660	6.374	9.598	16.479	15.801
12 ANCA	41	41	41	41	41	41	38	39	41	41	10	-	4.800	8.743	15.574	15.110
13 ANTA	54	55	55	55	54	53	55	56	45	45	29	18	-	10.412	16.304	15.652
14 ATSI	53	53	52	53	53	52	48	48	50	50	43	32	48	-	15.673	14.790
15 ATBE1	73	73	73	73	71	70	74	75	58	59	73	57	75	71	-	1.525
16 ATBE2	72	72	72	72	70	69	71	72	54	55	70	55	72	67	7	-

2. 계통분석

본 연구를 통해 얻어진 염기서열을 neighbor-joining(NJ), maximum-likelihood(ML), maximum parsimony(MP) 방법으로 각각 분석하여 계통수를 작성한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. NJ 및 ML 분석에 있어서 다양한 distance options을 적용해 보았으나 전체적인 유연관계에는 아무런 차이를 만들지 못했다. Fig. 2의 계통수들은 기본적으로 동일한 topology를 나타내고 있으나 *S. japonica*의 경우 NJ 및 ML 계통수(Fig. 2-A,B)에서는 다른 *Scopolia* 분류군들과 단계통군을 형성한 반면 MP 계통수(Fig. 2-C)에서는 분류군간의 유연관계가 확정되지 않은 상태로 나타났다. MP 계통수는 2개가 얻어졌는데(201 steps, RI=0.9019), 이들 가운데 하나는 *S. japonica*가 다른 *Scopolia* 분류군들과 단계통군을 이루었고 다른 하나는 내군(ingroup 즉, *Atropa*를 제외한 나머지)의 기부에 위치하였다. Fig. 2-C는 이들의 strict consensus 계통수다. 한반도 고유종으로 알려진 *S. parviflora*의 여러 개체들은 다른 한반도 고유종인 *S. lutescens*의 개체들과 뒤섞여 유집되었다. 이들 *S. parviflora*/*S. lutescens* clade는 유럽동지에 분포하는 *S. carniolica*와 가장 가까운 유연관계를 보였고(bootstrap values 99 혹은 100으로 지지됨) 일본에 분포하는 *S. japonica*는 독자적인 clade를 형성하는 것으로 밝혀졌다. *Anisodus*속에 속하는 3종은 단계통군으로 지지되었고(bootstrap values 95 혹은 100) 이는 단형속(monotypic genus)인 *Atropanthe*와 깊은 유연관계를 보였다(Fig. 2).

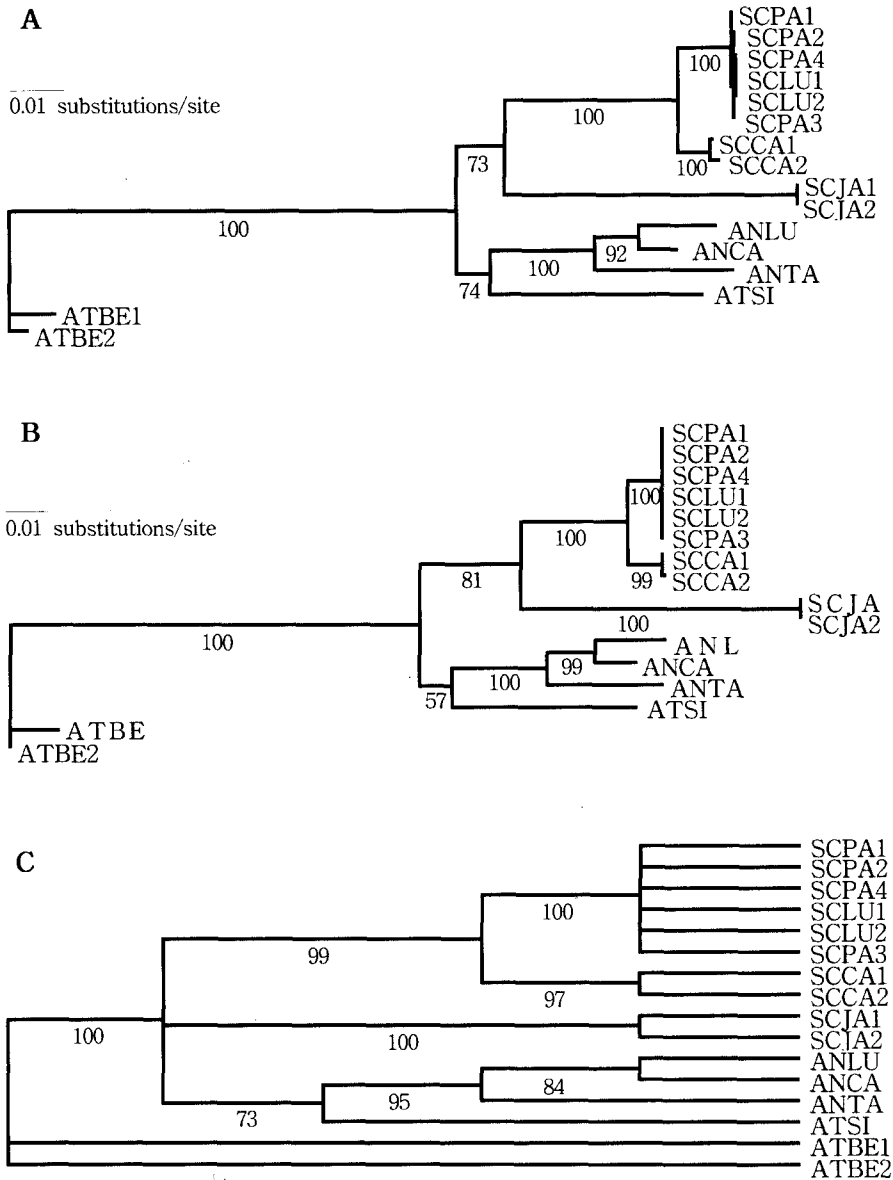


Fig. 2. Phylogenetic trees of *Scopolia s. str.* and related taxa reconstructed by the neighbor-joining (A), maximum-likelihood (B), and maximum parsimony (C) method. The parsimony tree is a strict consensus tree of two equally parsimonious trees (201 steps, RI=0.9019). Numbers below branches are bootstrap support (%). Refer Table 1 and 2 for taxon abbreviations.

고 찰

본 연구를 통해 제작된 ITS 계통수는 *Scopolia s. str.*의 분류학적 문제와 관련하여 몇 가지 중요한 정보를 제공하였다. 이 가운데 가장 주목할만한 결과는 그동안 한반도 고유종으로 알려져 왔던 *Scopolia parviflora*(미치광이풀)를 *S. japonica*에 이명 처리하였던 Yamazaki(1993)와 Lee(1996)의 견해나, 혹은 이 두 종을 동일시한 대부분의 문헌(Weinert, 1972; Lu and Zhang, 1986; D'Archy and Zhang, 1992)의 내용은 본 연구 결과에 의해 지지되지 않는다는 것이다. *S. japonica*의 ITS 염기서열은 *S. parviflora*와 비교했을 때 10 bp 이상의 deletion 돌연변이를 7회 포함하고 있으며(Fig. 1; Table 2, 3), 염기치환 변이에 있어서도 본 연구에서 조사된 모든 분류군 가운데 가장 독특하였다(Fig. 1 참조). 뿐만 아니라 다양한 방법으로 제작된 계통수(Fig. 2-A,B,C) 상에서도 *S. parviflora*는 *S. japonica*와 뚜렷이 구분되어졌고 오히려 유럽에 분포하는 *S. carniolica*와 더 가까운 유연 관계를 나타내었다. 따라서 염색 및 염색체의 수로 *S. parviflora*와 *S. japonica*를 구분하여 둘을 별개의 종으로 인정한 Lee and Oh(1971)의 견해는 타당한 것으로 생각된다. 이와 관련하여 Paik(2002)은 *Scopolia s. str.*에 속하는 4 분류군 모두 형태적으로 매우 유사하여 하나의 분류군으로 통합할 수도 있으나, 공식적인 분류학적 처리를 위해서는 보다 많은 개체를 대상으로 한 다변량분석 등이 선행되어야 하리라고 지적한 바 있다. 이처럼 *Scopolia s. str.*에 속하는 분류군, 특히 일본에 분포하는 종이 한국과 유럽에 각각 격리 분포하는 종들과 높은 유전적 거리를 보임에도 불구하고(Table 3) 형태적으로 매우 유사한 것은 이들이 오랜 격리 기간동안 유사한 생육환경 속에서 비슷한 형질을 갖는 방향으로 진화 하였거나 혹은, 형태형질의 분화가 지연되어온 결과로 이해된다. Qiu *et al.*(1995)은 불연속분포 분류군을 포함하는 *Magnolia*속 *Rytidospermum*절의 진화와 계통을 이해함에 있어서 이러한 형태정체(morphological stasis) 개념을 도입한 바 있다. 그러나 Kim and Kim(1999)은 *Weigela*의 계통 및 식물지리학적 연구에서 이와 같은 형태정체 개념에 반하는 증거를 제시하기도 하였다. 위와 같은 연구 결과들은 형태 및 분자 진화양상에 있어서 각 분류군마다 특이성이 존재함을 상기시키며, 식물의 진화와 계통을 이해하고 이를 통해 분류학적 논의를 진행함에 있어서 형태형질과 분자적 형질을 종합적으로 검토해야 할 필요가 있음을 암시한다.

한편, Lee(1993)에 의해 한반도 고유종으로 보고된 *S. lutescens*를 별개의 종으로 인식하는 것은 ITS 자료에 의해 지지되지 못했다. *S. lutescens*(노랑미치광이풀)은 *S. parviflora*와 일부 indel 돌연변이에 의한 길이차이를 제외하면 동일한 ITS 염기서열을 공유했고, 두 종 사이의 유전적 거리는 0으로 계산되었다(Table 3). 또한 본종은 계통수 상에서도 *S. parviflora*의 개체들과 전혀 구분되지 않았으며(Fig. 2), 자연 집단에서도 *S. parviflora*와 동소적일 뿐만 아니라, 주요 식별형질인 화관의 색도 변이가 심하고, 자방이 성숙될 때 꽃받침이 잎처럼 길게 성장한다는 본종의 식별형질 역시 *S. parviflora*개체에서 흔히 발견된다(J.-H. Paik, pers. obs.). 이러한 점을 종합해서 고려할 때 *S. lutescens*는 독

립된 종이라기보다는 *S. parviflora*의 품종 혹은 개체 변이로 이해된다. 한편, *S. lutescens*를 일본에 분포하는 *S. japonica* f. *lutescens*와 동일시 할 것인지에 대해서는 이 품종에 대한 시료확보를 하지 못해 확인할 수는 없었다. 그러나 *S. parviflora*와 *S. japonica*가 ITS 염기서열에 있어서 분명한 차이를 보이며 *S. lutescens*와 *S. parviflora*의 유전적 거리가 0인 점으로 미루어 볼 때 *S. lutescens*와 *S. japonica* f. *lutescens*를 동일시하는 것은 타당하지 않은 것으로 생각된다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 일본내 *S. japonica* 가운데 황색 화관을 갖는 품종과 국내 *S. lutescens*와의 비교연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

Lee and Oh(1971)에 의해 *S. japonica* 및 *S. parviflora*와 계통유연관계가 깊으리라고 제안되었던 *Anisodus luridus* Link는 동일 속 내의 다른 종들과 강력한 단계통군을 형성하였다. 또한 본래 Lu and Zhang(1986)에 의해 *Scopolia* s. str.로 분류되었던 *S. carniolicoides* C.Y. Yu & C. Chen을 화분형질에 의해 *Anisodus carniolicoides* (C.Y. Yu & C. Chen) D'Archy & Z.-Y. Zhang으로 처리한 D'Archy(1991)의 견해는 본 연구결과에 의해 강하게 지지되었다. Pascher(1909)가 *Scopolia sinensis* Hemsl.를 별개의 속으로 독립시켜 설정한 단형속 *Atropanthe*가 *Anisodus*속과 자매군 관계를 보인 것은 이들이 bellardine (alkaloid 화합물의 일종)을 공유한다는 Lu and Zhang(1986)의 언급과, *Scopolia* s. str.와는 달리 이들 두 속에서는 다세포성 선모가 발달하지 않는다는 Hong and Paik(2001)의 연구결과와 일치한다. 그러나 *Anisodus*속이 *Scopolia* s. str.와 더 가깝다는 Paik(2002)의 화분 및 형태 형질분석 결과와는 배치되는 것이어서 이에 대한 추가적인 연구가 요구된다. 본 연구결과 ITS 자료는 *Scopolia* s. str.의 계통을 이해함에 있어서 매우 유용한 것으로 판명되었으며, 향후 *Scopolia*가 포함되는 Hyoscyameae족 전체의 계통유연관계를 구명하기 위해 본 연구에서 누락된 속들 즉, *Przewalskia*, *Hyoscyamus*, 및 *Physochlaina*을 포함하는 보다 광범위한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문의 심사를 맡아주신 심사자들과 표본을 대여해준 표본관들에 대해 사의를 표합니다. 본 연구는 한림대학교 교비연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- D'Arcy, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Hawkes, J. G., R. N. Lester, M. Nee and N. Estrada. (eds.), Royal Botanic Gardens, Kew, Pp. 75-137.
- _____. and Z.-Y. Zhang. 1992. Notes on the Solanaceae of China and neighboring areas. *Novon* 2: 124-128.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytoch. Bull.* 19: 11-15.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Hasegawa, M., H. Kishino and T.-A. Yano. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 22: 160-174
- Hoare, A. L. and S. Knapp. 1997. A phylogenetic conspectus of the tribe Hyocyameae (Solanaceae). *Bull. Nat. Hist. Mus. London. (Bot.)* 27: 11-29.
- Hong, S.-P. and J.-H. Paik. 2001. Leaf epidermal microstructure of the genus *Scopolia* Jacq. s. l. (Solanaceae-Hyoscyameae) and its systematic significance. *Kor. J. Plant Tax.* 31: 267-282 (in Korean).
- Kim, K.-J. and R. K. Jansen. 1994. Comparison of phylogenetic hypotheses among different data sets in dwarf dandelions (*Krigia*): Additional information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 190: 157-185.
- Kim, Y.-D. and S.-H. Kim. 1999. Phylogeny of *Weigela* and *Diervilla* (Caprifoliaceae) based on nuclear rDNA ITS sequences: Biogeographic and taxonomic implications. *J. Plant Res.* 112: 331-341.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of the base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Lee, W. C. 1996. *Lineamenta Florae Koreae*. Academy Publ. Co., Seoul.
- Lee, Y. N. and Y. J. Oh. 1971. A cytological study on the genus *Scopolia* in South East Asia. *J. Korean Res. Inst. Better Living* 4: 63-68 (in Korean).
- _____. 1993. New taxa on Korean Flora (5). *Kor. J. Plant Tax.* 23: 263-268 (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. F. and S. Sohmer (eds.), Columbia University Press, New York. Pp. 205–220.
- Lu, A.-M. 1986. Solanaceae in China. *In* Solanaceae: Biology and Systematics. D'Arcy, W. G. (ed.), Columbia University Press, New York. Pp. 79–85.
- _____ and Zhang, Z.-Y. 1986. Studies of the subtribe Hyoscyaminae in China. *In* Solanaceae: Biology and Systematics. D'Arcy, W. G. (ed.), Columbia University Press, New York. Pp. 56–78.
- Olmstead, R. G. and J. D. Palmer. 1992. A chloroplast DNA phylogeny of the Solanaceae: Subfamilial relationships and character evolution. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 346–360.
- _____ and J. A. Sweere. 1994. Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Syst. Biol.* 43: 467–481.
- Paik, J.-H. 2002. Systematic studies of the genus *Scopolia* Jacq. *s. lat.* (Solanaceae). MS thesis, Kyung Hee University, Seoul, Korea (in Korean).
- Pascher, A. 1909. Zwei neue Arten der Gattung Anisodus. *Feddes Repert.* 7: 226 (in German).
- Qiu, Y.-L., M. W. Chase and C. R. Parks. 1995. A chloroplast DNA phylogenetic study of the eastern Asia-eastern North America disjunct section *Rytidospermum* of *Magnolia* (Magnoliaceae). *Amer. J. Bot.* 82: 1582–1588.
- 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. *Amer. J. Bot.* 80: 1042–1055.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*, Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), ver. 4.0b, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson. 1995. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
- Weinert, E. 1972. Zur Taxonomie und Chorologie der Gattung *Scopolia* Jacq. *Feddes Repert.* 82: 617–628 (in German).
- White, T. J., T. Birns, 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, Innis, M., D. Gelfand, J. Sninsky and T. White (eds.), Academic Press, San Diego. Pp. 315–322.
- Yamazaki, T. 1993. Solanaceae. *In* Flora of Japan, Vol. IIIa.. Iwatsuki, K., T.

Yamazaki, D. E. Boufford and H. Ohba (eds.), Kodansha Ltd., Tokyo, Pp. 183-194.

Zhang, Z.-Y. and A.-M. Lu. 2000. Systematics of the tribe Hyoscyameae (Solanaceae). *In* Abstract: Fifth international Solanaceae conference, Botanical Garden of Nijmegen. P. 55.

Phylogeny of *Scopolia* Jacq. s. str. based on ITS sequences

Kim, Young-Dong^{1*} · Jin-Hyub Paik² · Sung-Hee Kim¹ · Suk-Pyo Hong²

¹Division of Life Sciences, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

²Department of Biology, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea)

Internal transcribed spacer(ITS) sequences of nuclear ribosomal DNA were determined for 14 individuals representing eight taxa from *Scopolia* s. str. and related genera, *Anisodus* and *Atropanthe*. We found that the ITS sequences of Korean endemic species, *S. parviflora*, are significantly different from its allied species, *S. japonica*. This is contradictory to traditional taxonomic treatments in which those species are regarded as conspecific. *S. parviflora* exhibited closer relationship to *S. carniolica*, which is disjunctly distributed in Europe. In spite of substantially high sequence divergence between *S. japonica* and *S. parviflora*/*S. carniolica* clade, morphological resemblance is evident among the species. Morphological stasis concept (retardation of morphological differentiation or evolution of similar characters among the disjuncts in a similar ecological habitat) was referred to understand this rather unusual evolutionary feature. *S. lutescens*, another Korean endemic species, shared almost identical ITS sequences with *S. parviflora*. Lack of diagnostic character distinguishing the taxa suggests that they are conspecific. *Anisodus carniolicoides*, which was originally described in *Scopolia*, was grouped with *A. luridus* and *A. tanguticus*. The monophyletic *Anisodus* formed a sister group relationship with a monotypic genus *Atropanthe*.

Key words : Phylogeny, *Scopolia* s. str., Sequence variation, *Anisodus*, *Atropanthe*, ITS

*Corresponding author: Phone: +82-33-248-2095, FAX: +82-33-245-3420,
e-mail: ydkim@hallym.ac.kr