



Phylogenetic relationships of Korean campanulaceae based on chloroplast DNA sequences

Kyung-Ah Kim and Ki-Oug Yoo*

Department of Biological Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
(Received 21 November 2012; Revised 30 November 2012; Accepted 7 December 2012)

엽록체 DNA 염기서열 분석을 이용한 한국산 초롱꽃과 (Campanulaceae)의 계통유연관계

김경아 · 유기억*

강원대학교 자연과학대학 생명과학과

Abstract: Phylogenetic studies were conducted to evaluate the taxonomic relationships among 28 taxa, including 2 outgroups of Korean Campanulaceae, using *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1* and *trnL-F* regions sequences in chloroplast DNA. The combined analyses of eight chloroplast DNA regions suggest that *Codonopsis* and *Platycodon* basally branches within the phylogenetic tree; *Wahlenbergia* distinguished an independent clade; *Campanula* forms a clade; *Peracarpa* and *Asyneuma* clade is a sister to the *Adenophora-Hanabusaya* clade; *Hanabusaya* is placed within the section *Remotiflorae* of *Adenophora*; *Adenophora* form a clade. Our present results support the generic level, although discordance remained at the infrageneric groups such as section and series based on morphological characteristics in the genus *Adenophora*.

Keywords: Campanulaceae, Chloroplast DNA, Phylogenetic relationships

적 요: 한국산 초롱꽃과 8속 28분류군과 외군 2분류군 등 총 30분류군에 대한 계통유연관계를 알아보기 위하여 엽록체 DNA의 *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1* 그리고 *trnL-F* 지역의 염기서열 분석을 실시하였다. 8개 유전자 지역의 염기서열 자료를 융합하여 분석한 결과 도라지속과 더덕속이 가장 기부에 분계조를 형성하였고 애기도라지속과 초롱꽃속은 각각 독립적으로 유집되었다. 홍노도라지속과 영아자속은 잔대속-금강초롱꽃속 분계조를 위한 자매군을 형성하였으며, 금강초롱꽃속은 잔대속의 모시대절과 분계조를 형성하였고 잔대속은 크게 하나의 군을 형성하였다. 본 연구에서 다룬 엽록체 DNA 8개 지역의 염기서열 자료에 기초한 한국산 초롱꽃과의 계통분석 결과, 속 수준에서의 구분은 가능하였으나 절 또는 계열 등 잔대속 내에서의 일부 분류계급은 형태 형질에 의한 분류체계와 일치하지 않았다.

주요어: 초롱꽃과, 엽록체 DNA, 계통유연관계

de Jussieu (1789)에 의해 설정된 초롱꽃과(Campanulaceae Juss.)는 전 세계에 약 84속 2,737여 종류가 북반구 온대지역을 중심으로 폭넓게 분포하고(Fedorov, 1957; Lammers,

2007), APG 분류체계에 의하면 피자식물군(Angiospermae), 핵심진정쌍자엽식물군(Core Eudicots), 진정국화분계군(Euasterids)의 국화목(Asterales)에 속한다(The Angiosperm Phylogeny Group, 2009). 초롱꽃과에 대한 분류체계는 종속지적(monograph) 연구를 수행한 de Candolle (1830)을 시초로 하여 Fedorov (1957), Hong (1983), Kolakovsky (1987) 등에 의해 정립되어져 왔으나, 학자에 따라 숫잔대과(Lobeliaceae Juss.)와의 통합여부에 관해서는 견해 차이가

*Author for correspondence: yooko@kangwon.ac.kr

있어왔다.

한국산에 관해서는 Hemsley (1889)가 *Campanula glomerata* L., *Phyteuma japonicum* Miq., 인천잔대 (*Adenophora remotidens* Hemsl.), 층층잔대(*Adenophora verticillata* (Pall.) Fisch.), 초롱꽃(*Campanula punctata* Lam.), 도라지(*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC.), 숫잔대 (*Lobelia sessilifolia* Lamb.) 등 5속 7종을 기재한 것을 시점으로 Nakai (1909, 1911), Kitamura (1941), Baranov (1963), Lee and Lee (1990), Lee et al. (1990), Lee et al. (1997) 등에 의해 종의 분포가 밝혀지거나 새로운 분류군이 추가되었으며, Oh (1981)는 국내에 분포하는 초롱꽃과를 9속 29종 19변종 12품종으로, 그리고 Yoo (1995)는 8속 25종 9변종 8 품종으로 정리한 바 있다.

한국산 초롱꽃과에 대한 분류학적 연구로는 국내에 분포하는 일부 분류군을 대상으로 염색체 수(Lee, 1967) 및 화분형태(Chang, 1979; Lee et al., 1988), 동위효소와 형태형질변이(Park and Jung, 2000)에 관한 연구가 수행되었고, 단일 속을 대상으로 한 연구로는 Yoo and Lee (1989)와 Lee (1989, 1997)에 의해 더덕속(*Codonopsis* Wall.)과 잔대속 (*Adenophora* Fisch.)에 대한 분류학적 연구가 수행되었다. 또한 최근에는 Kim and Yoo (2011)에 의해 PCR-RFLP와 ITS 염기서열 분석을 이용한 한국산 초롱꽃과의 계통유연관계가 밝혀진 바 있다. 한편 우리나라 특산속인 금강

초롱꽃속(*Hanabusaya* Nakai)의 경우 초롱꽃과 내에서의 계통학적 유연관계를 밝히기 위해 화분형태연구(Lee et al., 1986)를 비롯한 RAPD분석(Yoo et al., 1996), ITS 염기서열 분석(Kim et al., 1999), 외부형태형질분석(Park and Ko, 2000) 등 다양한 측면에서의 연구가 수행된 반면, 가장 최근에 우리나라 특산종으로 보고된 외대잔대(*Adenophora racemosa* J. Lee et S. Lee)는 근연 분류군과의 중간 유연관계를 밝히기 위해 ITS와 RAPD분석만이 실시되었다(Ji et al., 2010).

본 연구는 주로 외부형태 형질에 의해 분류되거나 일부 분류군에 대한 분류학적 유연관계가 밝혀졌을 뿐, 일부 연구(Yoo, 1995; Kim and Yoo, 2011)를 제외하고는 분자계통학적 연구가 수행되지 않은 한국산 초롱꽃과 식물을 대상으로 피자식물 분류군에서 계통학적 유연관계를 밝히는데 널리 사용되고 있는 엽록체 DNA의 염기서열을 비교·분석하여 계통수를 작성하고 이를 기존의 연구 결과와 비교해 보고자 한다.

재료 및 방법

실험재료는 2009년 6월부터 2011년 8월까지 자생지에서 직접 채집한 생체 재료를 사용하였으며 일부는 건조된 식엽 표본의 잎을 이용하였다. 증거표본은 강원대학교 생

Table 1. List of samples used in this study.

Taxa	Voucher	Source
Family Campanulaceae Juss. 초롱꽃과		
Genus <i>Adenophora</i> Fisch. 잔대속		
Section <i>Microdiscus</i> Fed. 진퍼리잔대절		
<i>A. lamarckii</i> Fisch. 두베잔대	Yoo53180(KWNU)	Korea, Mt. Samyeong
<i>A. liliifolia</i> (L.) Besser 나리잔대	Yoo143(KWNU)	Korea, Mt. Seorak
Section <i>Platyphyllae</i> (Borbas) Fed. 층층잔대절		
<i>A. verticillata</i> (Pall.) Fisch. 층층잔대	Yoo75356(KWNU)	Korea, Seonjaryeong
var. <i>hirsuta</i> F. Schmidt 털잔대	KHB090825-262(KH)	Korea, Mt. Jeonggak
<i>A. divaricata</i> Franch. & Sav. 넓은잔대	Yoo73736(KWNU)	Korea, Mt. Daedeok
<i>A. kayasanensis</i> Kitam. 가야산잔대	Yoo75358(KWNU)	Korea, Mt. Gaya
<i>A. racemosa</i> J. Lee et S. Lee 외대잔대	Yoo58475(KWNU)	Korea, Mt. Odae
<i>A. triphylla</i> var. <i>japonica</i> (Regel) H.Hara 잔대	Yoo63275(KWNU)	Korea, Mt. Samak
Section <i>Remotiflorae</i> (Baranov) Ponomarchuk 모시대절		
<i>A. erecta</i> S. Lee, J. Lee et S. Kim 선모시대	Yoo80073(KWNU)	Korea, Ulleungdo
<i>A. grandiflora</i> Nakai 도라지모시대	Yoo54257(KWNU)	Korea, Mt. Daedeok
<i>A. remotiflora</i> (S. et Z.) Miq. 모시대	Yoo75355(KWNU)	Korea, Mt. Bohyeon
var. <i>hirticalyx</i> S. Lee, Y. Chung & J. Lee 그늘모시대	Yoo19500(KWNU)	Korea, Mt. Jiri
Section <i>Thyrsanthae</i> (Fed.) Baranov 당잔대절		
<i>A. coronopifolia</i> Fisch. 둥근잔대	Yoo18845(KWNU)	Korea, Mt. Halla
<i>A. polyantha</i> Nakai 수원잔대	Yoo62036(KWNU)	Korea, Mt. Hakga
<i>A. stricta</i> Miq. 당잔대	Yoo61921(KWNU)	Korea, Podaebong

Table 1. Continued.

Taxa	Voucher	Source
Genus <i>Campanula</i> L. 초롱꽃속		
<i>C. punctata</i> Lam. 초롱꽃	Yoo75339(KWNU)	Korea, Mt. Balgyo
<i>C. takesimana</i> Nakai 섬초롱꽃	KHB090723-016(KH)	Korea, Ulleungdo
<i>C. glomerata</i> var. <i>dahurica</i> Fisch. ex Ker Gawl. 자주꽃방망이	Yoo75359(KWNU)	Korea, Mt. Daedeok
Genus <i>Codonopsis</i> Wall. 더덕속		
<i>C. lanceolata</i> (S. et Z.) Trautv. 더덕	Yoo62006(KWNU)	Korea, Mt. Bonghwa
<i>C. pilosula</i> (Franch.) Nannf. 만삼	Yoo75340(KWNU)	Korea, Mt. Gyeong
<i>C. ussuriensis</i> (Rupr. & Maxim.) Hemsl. 소경불알	Yoo56567(KWNU)	Korea, Seowon-myeon
Genus <i>Hanabusaya</i> Nakai 금강초롱꽃속		
<i>H. asiatica</i> (Nakai) Nakai 금강초롱꽃	Yoo75337(KWNU)	Korea, Mt. Hwaak
Genus <i>Asyneuma</i> Griseb. & Schenk 영아자속		
<i>A. japonicum</i> (Miq.) Briq. 영아자	Yoo75333(KWNU)	Korea, Seonjaryeong
Genus <i>Peracarpa</i> Hook. f. Thomson 홍노도라지속		
<i>P. carnosae</i> var. <i>circaeoides</i> (F.Schmidt ex Miq.) Makino 홍노도라지	Yoo75152(KWNU)	Korea, Gyorae-ri
Genus <i>Platycodon</i> A. DC. 도라지속		
<i>P. grandiflorus</i> (Jacq.) A. DC. 도라지	Yoo75331(KWNU)	Korea, Mt. Yak
<i>P. grandiflorus</i> f. <i>albiflorum</i> Hara 백도라지	Yoo73108(KWNU)	Korea, Mt. Bohyeon
Genus <i>Wahlenbergia</i> Schrad. ex Roth 애기도라지속		
<i>W. marginata</i> (Thunb.) A. DC. 애기도라지	Yoo75148(KWNU)	Korea, Dalsanbong
Family Lobeliaceae Juss. 숫잔대과		
<i>L. chinensis</i> Lour. 수염가래꽃	Yoo63251(KWNU)	Korea, Mt. Bukbae
<i>L. sessilifolia</i> Lamb. 숫잔대	Yoo75343(KWNU)	Korea, Mt. Daeam

명과학과 식물표본실(KWNU)에 보관하였고, 외군은 초롱꽃과와 가장 유사한 분류군으로 알려진 숫잔대과의 2분류군을 사용하였다. 실험에 사용된 분류군의 채집지 정보는 Table 1과 같으며 GenBank accession number는 Appendix 1과 같다.

DNA의 추출은 Doyle and Doyle (1987)의 방법을 따랐고, 추출한 DNA는 Beckman spectrophotometer로 정량한 후 5 ng/μL로 희석하여 PCR을 위한 DNA로 사용하였다. DNA 증폭은 DNA Thermal Cycler (Biometra, Whatman Co.)로 수행하였으며, *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1* 그리고 *trnL-F* 지역의 증폭을 위한 primer는 Table 2와 같다. PCR 조건은 94°C에서 5분 동안 pre denature 시킨 후 94°C에서 1분, 45-55°C에서 1분, 72°C에서 2분을 cycle로 하여 35-40회 반복한 후 72°C에서 10분간 더 유지시켰다. 증폭된 DNA는 1.0% agarose gel에 전기영동하여 UV 아래에서 확인하였으며 Wizard PCR Preps DNA Purification System (Promega Co., Madison, WI, USA)을 이용하여 정제하였다. 분자량 비교를 위한 marker로는 1 Kb Plus DNA Ladder를 사용하였다.

염기서열 분석은 automatic DNA analyzer system ABI PRISM 3730XL analyzer (Applied Biosystems)를 이용하였다. 염기서열은 Sequencher (Gene codes Corporation, Ann

Arbor, Michigan)와 Clustal X를 이용하여 정렬하였고, 최종 세부 정렬은 수작업을 통해 수행하였으며 정렬된 염기서열은 PAUP*4.02b10 (Swofford, 2003)을 사용하여 최대절약 분석(maximum parsimony analysis)을 실시하였다. 분석방법은 heuristic search를 이용하였고, 그에 따른 option으로는 1,000 random-addition-sequence replications, ACCTRAN, MULPARS 그리고 TBR을 사용하였으며 작성된 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 형질 재 추출 과정을 1,000회 반복하여 bootstrap (BS; Felsenstein, 1985)값을 산출하였다. 또한 염기변이는 Kimura two-parameter methods (Kimura, 1980)로 계산된 값을(Farris et al., 1996) 백분율로 환산하여 사용하였고, Consistency index (CI), Retention index (RI), Rescaled consistency index (RC)를 산출하였다 (Farris, 1989).

결 과

염기서열 분석

본 연구에서 다룬 외군 2종을 포함한 총 30분류군에 대한 *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1* 그리고 *trnL-F* 지역의 염기서열을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 정렬된 유전자의 길이는 *atpB-rbcL*이 2,801개로 가

Table 2. Primer used for amplification and sequencing in this study.

	Primer*	Sequences
<i>atpB</i>	S2F	5'-TATGAGAATCAATCCTACTACTTCT-3'
	S1494R	5'-TCAGTACACAAAGATTTAAGGTCA T-3'
<i>atpB-rbcL</i>	atpB2	5'-GAAGTAGTAGGATTGATTCTC-3'
	S385R	5'-GCGCAGATCTATGAATAGGAGACGT-3'
	S2R	5'-AGAAGTAGTAGGATTCATTCTCATA-3'
	atpB5	5'-TACAGTTGTCCATGTACCAG-3'
	rbcL1	5'-GAATCCAACACTTGCTTTAGTCTCT-3'
<i>atpF-H</i>	M13F+atpF	5'-GTTTTCCCAGTCACGACACTCGCACACACTCCCTTTCC-3'
	M13R+atpH	5'-CAGGAAACAGCTATGACGCTTTTATGGAAGCTTTAACAAT-3'
<i>matK</i>	trnK-3914F	5'-TGGGTTGCTAACTCAATGG-3'
	trnK-253F	5'-TTGGGTCGAGTCAATAAAT-3'
	matK-934F	5'-ATTTTGGTTATGACAATAA-3'
	matK-1848R	5'-TATCGAACTTCTTAATAGC-3'
	matK-2200R	5'-TCTGTATAACCTCCACAAAG-3'
	trnK-2R	5'-AACTAGTCGGATGGAGTAG-3'
<i>rbcL</i>	1F	5'-ATGTCACCACAAACAGARACTAAAGC-3'
	CNEWR	5'-GTATCCATTGCGGCAAATC-3'
<i>rpl16</i>	rpl16-F71	5'-GCTATGCTTAGTGTGTGACTCGTTG-3'
	rpl16-R1516	5'-CCCTTCATTCTTCTCTATGTTG-3'
<i>rpoC1</i>	M13F+rpoC1	5'-GTTTTCCCAGTCACGACGTGGATAACTTCTTGATAATGG-3'
	M13R+rpoC1	5'-CAGGAAACAGCTATGACCATAAGCATATCTTGAGTTGG-3'
<i>trnL-F</i>	trnK-L(c)	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'
	trnK-L(e)	5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3'
	trnK-L(f)	5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'
	trnK-L(d)	5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3'

**atpB*: Hoot et al. (1995), *atpB-rbcL*: Savolainen et al. (1994), Hoot et al. (1995), *atpF-H*: Kress et al. (2005), *matK*: Johnson and Soltis (1994), *rbcL*: Olmstead et al. (1992), *rpl16*: Jordan et al. (1996), *rpoC1*: Downie et al. (1996), *trnL-F*: Taberlet et al. (1991).

Table 3. Characteristics of *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1*, *trnL-F* region and combined data for 30 taxa of Korean Campanulaceae and outgroup.

Characters	<i>atpB</i>	<i>atpB-rbcL</i>	<i>atpF-H</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>rpl16</i>	<i>rpoC1</i>	<i>trnL-F</i>	combined
Length of sequence (sites)	1,402	835- 2,651	493- 627	1,682- 1,919	1,287	953- 1,077	517	864- 903	8,244- 10,165
Aligned length (sites)	1,402	2,801	667	1,955	1,287	1,240	517	979	10,848
No. of variable sites	184	324	192	583	176	363	82	266	2,170
No. of informative sites	136	217	139	292	122	249	62	195	1,412
Sequence distance (%)									
Campanulaceae+outgroup	0-7.07	0-17.86	0-15.30	0-18.60	0-6.99	0-17.24	0-8.70	0-16.14	0.01-12.08
Within Campanulaceae	0-4.92	0-14.77	0-13.52	0-14.28	0-6.37	0-12.34	0-8.70	0-12.64	0.01-9.34

장 길었고 다음으로는 *matK* (1,955개), *atpB* (1,402개), *rbcL* (1,287개) 등의 순이었으며, *atpB*, *rbcL* 그리고 *rpoC1*은 모든 분류군의 염기서열 길이가 동일하였다. *matK*의 경우 정렬된 1,955개 중 1,372개는 염기서열 변화가 없었고 나머지 583개는 변화가 있었으며, 8개 유전자 지역 중 가장

많은 염기(292개)가 계통수를 그리는데 유용하게 사용되었다. 엽록체 DNA 8개 지역을 융합한 결과 염기서열의 길이는 애기도라지(*Wahlenbergia marginata* (Thunb.) A. DC.)가 8,244개로 가장 짧았고 영아자(*Asyneuma japonicum* (Miq.) Briq.)가 10,165개로 가장 길었으며, 정렬된 30분류

군의 염기서열은 총 10,848개였다. 이중 8,678개는 변이가 없었고, 나머지 2,170개는 변이가 있었으며, 이 중 1,412개가 계통수를 그리는 데 유용한 형질로 사용되었다.

분류군간의 염기변이를 Kimura's two parameter distance로 계산하여 백분율로 환산한 결과 외군을 포함한 자료에서는 *matK* 지역의 홍노도라지(*Peracarpa carnosa* var. *circaeoides* (F.Schmidt ex Miq.) Makino)-수염가래꽃(*Lobelia chinensis* Lour.)이 18.60%로 가장 높았으며, 다음으로는 *atpB-rbcL*과 *rpl16* 지역에서 영아자-수염가래꽃이 각각 17.86%와 17.24%로 높은 염기변이를 보였다. 내군의 염기변이는 *atpB-rbcL*이 14.77%(도라지-애기도라지)로 가장 높았고, *atpB*의 도라지-금강초롱꽃(*Hanabusaya asiatica* (Nakai) Nakai)과 백도라지(*Platycodon grandiflorus* f. *albiflorum* Hara)-금강초롱꽃이 4.92%로 가장 낮았다. 8개 지역을 합하여 염기변이를 산출한 결과는 외군을 포함해

서는 0.01-12.08%로 나타났고, 외군을 제외한 28분류군 내에서는 0.01-9.34%로 비교적 낮게 나타났다. 속 내에서의 변이는 더덕속이 0.73-1.21%로 가장 높았고, 다음으로는 잔대속(0.01-1.21%), 초롱꽃속(*Campanula* L.)(0.01-0.99%), 도라지속(*Platycodon* A. DC.)(0.05%) 등의 순이었다.

계통학적 분석

1) *atpB* 분석: *atpB*의 염기서열을 이용하여 최대절약분석을 실시한 결과, 계통수는 크게 4개의 분계조(clade)를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 가장 기부에 분계조를 형성하였고(BS = 100%), 애기도라지속(*Wahlenbergia* Schrad. ex Roth)과 초롱꽃속이 함께 유집되었으며(BS = 54%), 홍노도라지속(*Peracarpa* Hook. f. Thomson)과 영아자속(*Asyneuma* Griseb. & Schenk)이 하나의 분계조를 형성하였다(BS = 63%). 우리나라 특산속인 금강초롱꽃속은

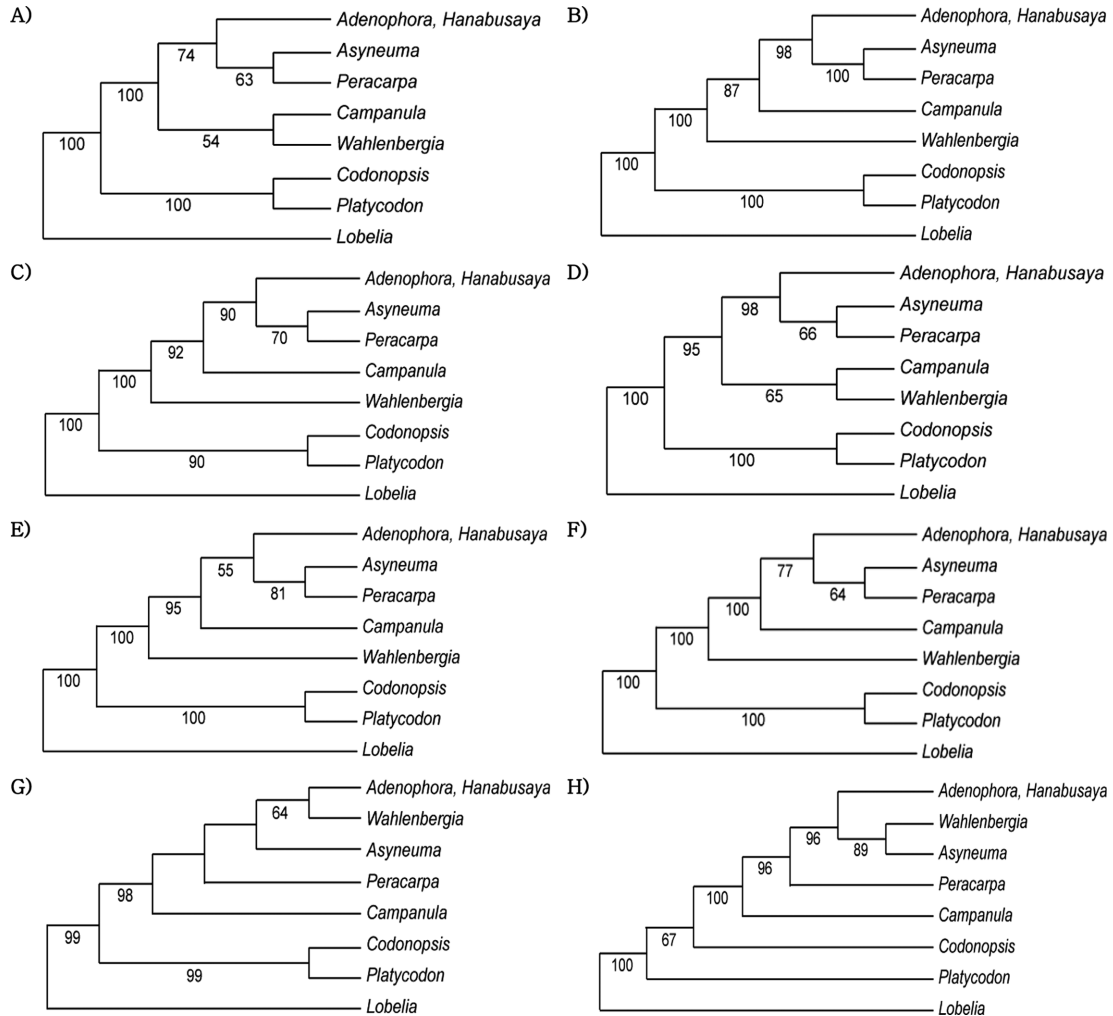


Fig. 1. Schematic summaries of results. The bootstrap values greater than 50% are below the clades (A: *atpB* strict consensus tree, B: *atpB-rbcL* strict consensus tree, C: *atpF-H* strict consensus tree, D: *matK* strict consensus tree, E: *rbcL* strict consensus tree, F: *rpl16* strict consensus tree, G: *rpoC1* strict consensus tree, H: *trnL-F* strict consensus tree).

잔대속과 크게 하나의 군을 형성하였으나, 병계원적인 유집 양상을 보였다(Fig. 1A).

2) *atpB-rbcL* 분석: *atpB-rbcL* 염기서열의 최대절약 분석 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 가장 기부에 위치하였고(BS = 100%), 애기도라지속과 초롱꽃속은 각각 독립적으로 유집되었으며, 홍노도라지속과 영아자속이 단계통을 형성하였다(BS = 100%). 금강초롱꽃속은 잔대속과 함께 유집되었으나, 속 간 구별이 불가능하였다(Fig. 1B).

3) *atpF-H* 분석: *atpF-H*의 염기서열을 이용한 분석 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였는데, 가장 기부에 도라지속과 더덕속이 하나의 분계조를 형성하였고(BS = 90%), 애기도라지속과 초롱꽃속은 각각 독립적으로 유집되었다. 홍노도라지속과 영아자속은 단계통을 형성하였으며(BS = 70%), 잔대속-금강초롱꽃속도 하나의 분계조를 형성하면서 홍노도라지속-영아자속을 위한 자매군을 형성하였다(Fig. 1C).

4) *matK* 분석: *matK*의 염기서열을 이용하여 최대절약 분석을 실시한 결과, 계통수는 크게 4개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 가장 먼저 유집되었고(BS = 100%), 애기도라지속과 초롱꽃속, 홍노도라지속과 영아자속은 각각 65%와 66%의 지지도를 가지고 각각 단계통을 형성하였다. 금강초롱꽃속은 잔대속과 함께 유집되었으나 unresolved하게 나타났다(Fig. 1D).

5) *rbcL* 분석: *rbcL*의 염기서열 분석 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였는데, 도라지속과 더덕속이 기부에서 가장 먼저 유집되었고(BS = 100%), 애기도라지속과 초롱꽃속은 각각 독립적으로 유집되었다. 홍노도라지속과 영아자속은 81%의 bootstrap값을 가지고 하나의 분계조를 형성하며 초롱꽃속과 잔대속-금강초롱꽃속 분계조 사이에 위치하였다(Fig. 1E).

6) *rpl16* 분석: *rpl16* 염기서열의 최대절약 분석 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 기부에서 단계통을 형성하였고(BS = 100%), 애기도라지속과 초롱꽃속은 각각 독립적으로 유집되었으며, 홍노도라지속과 영아자속은 초롱꽃속과 잔대속-금강초롱꽃속 분계조 사이에서 단계통을 형성하였다(BS = 64%)(Fig. 1F).

7) *rpoC1* 분석: *rpoC1*의 염기서열을 이용한 최대절약 분석 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 가장 기부에 단계통을 형성하였고(BS = 99%), 초롱꽃속, 홍노도라지속 그리고 영아자속이

각각 독립적으로 유집되었으며, 애기도라지속은 잔대속-금강초롱꽃속 분계조와 함께 64%의 지지도를 가지고 유집되었다(Fig. 1G).

8) *trnL-F* 분석: *trnL-F*의 염기서열을 이용한 최대절약 분석 결과, 계통수는 크게 6개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속이 가장 기부에 위치하였고, 다음으로는 더덕속, 초롱꽃속 그리고 홍노도라지속이 각각 독립적으로 유집되었다. 애기도라지속과 영아자속은 89%의 bootstrap값을 가지고 홍노도라지속과 잔대속-금강초롱꽃속 분계조 사이에 위치하였다(Fig. 1H).

9) 엽록체 DNA 8개 지역을 통합한 분석: 본 연구에서 사용한 8가지 엽록체 DNA 염기서열을 융합하여 분석한 결과, 계통수는 크게 5개의 분계조를 형성하였다. 먼저 도라지속과 더덕속이 가장 기부에 단계통을 형성하였고(BS = 100%), 애기도라지속과 초롱꽃속도 100%의 높은 지지도를 가지고 각각 독립적인 분계조를 형성하였다. 홍노도라지속과 영아자속은 단계통을 형성하며 초롱꽃속과 잔대속-금강초롱꽃속이 포함된 분계조 사이에 위치하였고(BS = 100%), 금강초롱꽃속은 잔대속과 크게 하나의 군을 형성하였다(BS = 100%).

더덕속 내에서는 만삼(*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.)이 더덕(*C. lanceolata* (S. et Z.) Trautv.)과 소경불알(*C. ussuriensis* (Rupr. & Maxim.) Hemsl.)이 포함된 분계조를 위한 자매군을 형성하였으며(BS=100%), 초롱꽃속 내에서는 초롱꽃과 섬초롱꽃(*C. takesimana* Nakai)이 100%의 지지도를 가지고 함께 유집되었다. 잔대속과 금강초롱꽃속이 포함된 분계조 내에서는 모시대절(*Remotiflorae* (Baranov) Ponomarchuk)과 금강초롱꽃이 가까운 유연관계를 형성하며 가장 먼저 분지되었으나(BS = 100%), 병계원적인 유집 양상을 보여 뚜렷한 유연관계를 확인할 수 없었다. 다음으로는 층층잔대절(*Platyphyllae* (Borbis) Fed.)의 잔대(*Adenophora triphylla* var. *japonica* (Regel) H.Hara), 층층잔대, 털잔대(*A. verticillata* var. *hirsuta* F. Schmidt)가 87%의 bootstrap값을 보이며 하나의 분계조를 형성하였고, 진퍼리잔대절(*Microdiscus* Fed.)의 나리잔대(*A. liliifolia* (L.) Besser)와 두메잔대(*A. lamarekii* Fisch.)가 함께 유집되었으며, 당잔대절(*Thyrsanthae* (Fed.) Baranov)에 속하는 둥근잔대(*A. coronopifolia* Fisch.), 섬잔대(*A. taquetii* H. Lév.), 수원잔대(*A. polyantha* Nakai), 당잔대(*A. stricta* Miq.)가 100%의 지지도를 가지고 독립적인 분계조를 형성하였다(Fig. 2).

고 찰

화분의 특징 중 공형 발아구를 갖는 대부분의 초롱꽃과 식물과는 달리 구형 또는 공구형의 발아구를 갖는 더덕속과 도라지속(Yoo, 1995)은 최근에 수행된 분자계통학적

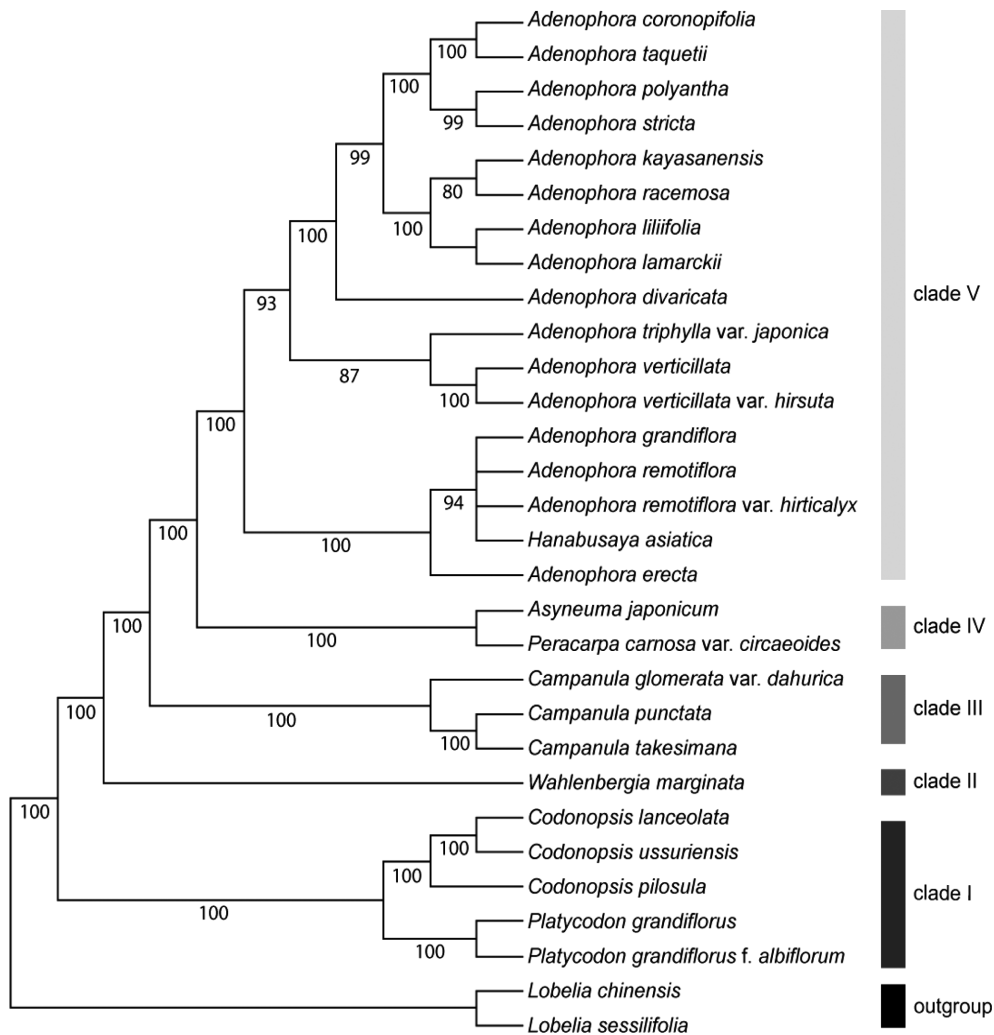


Fig. 2. Strict consensus tree of two equally parsimonious tree (2,970 steps, CI = 0.849, RI = 0.919, RC = 0.781) based on 1,412 phylogenetically informative changes in 8 regions sequences in cpDNA of Korean Campanulaceae. The bootstrap values greater than 50% are below the clades.

연구(Eddie et al., 2003; Harberle et al., 2009, Kim and Yoo, 2011)에서 외군으로 부터 가장 먼저 분지되었는데, 본 연구에서 다른 엽록체 DNA 8개 지역의 염기서열을 합한 계통수에서도 도라지속과 더덕속은 단계통을 형성하며 내군의 가장 기부에 위치하였다. 주로 아시아에 분포하는 더덕속과 도라지속은 초롱꽃과 식물 중 비교적 원시적인 종류로서 현재 분포하는 초롱꽃과의 지리적 분포에 많은 영향을 미친 분류군으로 알려져 있다(Hong, 1995). 그러나 일부 구형 또는 공구형 화분을 갖는 분류군들이 격리 분포를 보이고 있으므로 초롱꽃과 내에서의 정확한 조상종을 밝히기 위해서는 진화 초기 단계의 종류로 추측되는 더덕속, 도라지속, *Cyananthus*속, *Campanumoea*속, *Leptocodon*속, *Microcodon*속 그리고 *Canarina canariensis* 등(Hong, 1995)을 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

더덕속의 만삼은 더덕과 소경불알을 위한 자매군을 형

성하여 한국산 초롱꽃과 식물을 대상으로 RFLP와 ITS 분석을 실시한 선행 연구 결과(Kim and Yoo, 2011) 및 외부형태형질(Yoo, 1995)에 의한 분계도와 일치하는 것으로 확인되었다. 한편 한라산 근처의 1,100 m 이상에만 생육지가 한정되어 있는 애기더덕(*Codonopsis minima* Nakai)은 소경불알에 비해 전체가 왜소한 특징으로 Nakai(1914)에 의해 신종으로 발표된 후 학자에 따라 소경불알의 변종으로 취급하기도 하는 등 혼란이 있어왔다. 이에 외부형태 및 RAPD 분석(Yoo, 1995)을 실시한 결과 애기더덕은 각각 더덕 그리고 소경불알과 하나의 분계조를 형성하였는데, 대부분의 초롱꽃과 연구에서는 이들의 중간 유연관계를 확인하지 못하였으므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

애기도라지속은 외부형태 및 RAPD 분석에 의한 연구 결과(Yoo, 1995)에서 홍노도라지속과 분계조를 형성한 반

면 본 연구에서는 독립적인 분계조를 형성하여 최근에 수행된 RFLP와 ITS분석 결과(Kim and Yoo, 2011)와 유사하였다. 그러나 남반구에 분포하는 애기도라지속 58분류군을 대상으로 ITS와 *trnL-F* 분석을 실시한 결과, 애기도라지는 *Jasione*속과 함께 유집되었고 나머지 분류군들은 크게 하나의 분계조를 형성하여 애기도라지속이 단계통을 형성하지 않는 것으로 보고된 바 있어(Prebble et al., 2011), 본 연구에서 사용된 애기도라지 1분류군만으로 애기도라지속의 계통을 논하기에는 무리가 있을 것으로 생각된다.

초롱꽃속은 화관 안쪽에 반점이 없고 꽃이 위를 향해 피는 특징을 가지는 자주꽃방망이(*C. glomerata* var. *dahurica* Fisch. ex Ker Gawl.)가 초롱꽃과 섬초롱꽃을 위한 자매군을 형성하여 기존의 RAPD (Yoo, 1995) 및 ITS분석(Kim and Yoo, 2011) 결과와 일치하였으나, 초롱꽃속이 단계통을 형성하지 않고 자주꽃방망이가 영아자속과 도라지속 사이에 위치한 외부형태질분석에 의한 분계도(Yoo, 1995)와는 차이를 보였다.

영아자속은 학자에 따라 주로 유럽에 분포하는 *Phyteuma*속과 혼동되어 사용하기도 하는데(Yoo, 1995) *Phyteuma*속이 포함되지 않은 본 연구와 RFLP 및 ITS분석(Kim and Yoo, 2011) 결과에서는 흉노도라지와 분계조를 형성하였고, 흉노도라지속이 포함되지 않은 분자계통학적인 연구(Eddie et al., 2003; Haberle et al., 2009)에서는 *Phyteuma*속과 가까운 유연관계를 형성하여 이들의 뚜렷한 계통을 파악하기에는 무리가 있을 것으로 판단되었다. 그러나 최근 흉노도라지속(*Peracarpeae* Fed.)의 계통유연관계를 확인하기 위하여 *matK*, *atpB* 그리고 *trnL-F* 지역의 염기서열을 분석한 결과(Zhou et al., 2012), 흉노도라지속이 유집된 영아자속-*Phyteuma*속과 서로 다른 분계조에 위치하여 영아자속이 흉노도라지속보다는 *Phyteuma*속과 근연이라는 기존의 결과를 지지하였다.

국내에 분포하는 초롱꽃과 중 가장 많은 분류군이 포함되어 있는 잔대속은 엽서와 화반의 형태에 따라 경엽이 호생하고 화반이 배상인 진퍼리잔대절, 경엽이 윤생하며 화반이 원통상인 층층잔대절, 경엽이 호생하고 화반이 원통상인 당잔대절 그리고 잔대속 중 유일하게 뚜렷한 엽병이 있으며 영성한 원추화서를 가지는 모시대절로 구분되어지나(Baranov, 1963), 연속적인 개체 변이가 심함에도 불구하고 생태형들이 분류의 기준으로 채택되어 형태학적 측면에서 이들의 유집이나 종동정의 애매함이 지적된 바 있다(Lee et al., 1988). 하지만 초롱꽃과에 관한 연구 중 가장 많은 잔대속이 포함되어 있는 Kim and Yoo (2011)의 연구 결과에서도 대부분의 잔대속 분류군들이 병계원적인 유집양상을 보여 이들의 뚜렷한 유연관계를 파악하기에는 무리가 있었는데, 본 연구 결과 층층잔대절을 제외한 당잔대절과 모시대절의 경우 외부형태에 의한 절 수준에서의 구분이 가능하였으며 모시대절은 하나의 분계조를 형성하며 잔대속 내에서 가장 먼저 분지되었다. 그 중 모

시대(*Adenophora remotiflora* (S. et Z.) Miq.)와 비슷하지만 잎이 줄기 상부에 모여 나며, 짧고 뾰족한 총상화서와 반구형으로 된 매우 짧은 화반을 갖는 특징에 의해 신종으로 발표된 울릉도 특산인 선모시대(*A. erecta* S. Lee, J. Lee et S. Kim)(Lee et al., 1997) 내륙에 분포하는 모시대절 분류군들을 위한 자매군을 형성하였다. 또한 형질의 변이 정도에 따라 종 또는 변종으로 구분된 모시대, 도라지모시대(*A. grandiflora* Nakai) 그리고 그늘모시대(*A. remotiflora* var. *hirticalyx* S. Lee, Y. Chung & J. Lee)는 병계원적인 분계조를 형성하여, 연속적인 변이를 보이는 이와 같은 분류군들을 모종인 모시대에 통합시키는 것이 타당하다는 Lee (1997)에 의한 결과를 지지하였다. 당잔대절은 잔대속 내에서 가장 나중에 분지되었으며 외부형태에 의한 섬잔대절(*Gmeliniana* (Fed.) Baranov)과 수원잔대절(*Polyanthae* Baranov)이 뚜렷하게 구분되었다. 하지만 우리나라에서는 한라산 근처에만 제한적으로 분포하는 등근잔대와 섬잔대는 종의 구분이 명확하지 않을 뿐 만 아니라(Lee, 1997), 학자에 따라 *A. gmelinii* (Biehler) Fisch. 및 *A. tashiroi* Makino et Nakai 와 통합하기도 하는 등 분류학적 실체에 대한 논란이 있어 왔으므로(Hong, 1983; Yoo, 1995; Lee, 1997) 이러한 분류군들을 대상으로 한 종합적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 진퍼리잔대절은 층층잔대절의 가야산잔대(*A. kayasanensis* Kitam.)-외 잔대절 분계조와 유집되었고, 층층잔대절은 모시대절과 당잔대절 사이에 위치하였으나 기존의 외부형태에 의한 계열 수준에서의 구분은 불가능하였다. 이러한 잔대속내에서의 종의 한계에 대한 문제점은 기존의 선행 연구(Lee, 1989; Yoo, 1995; Lee, 1997)에서도 지적된 바 있는데, 잔대속을 구분하는데 유용하게 사용되는 형태 형질인 화주와 화관의 길이는 개체에 따라 연속적인 변이를 보일 뿐 아니라 화기 내에서 변화한다는 사실(Kanai, 1978)에 비추어 볼 때, 이러한 변이에 따라 종을 세분하는 것은 무리가 있을 것으로 생각된다. 또한 잔대속은 조상형에서 점진적인 분화과정을 통해 초롱꽃과 내에서 가장 최근에 분화하여(Arano and Saito, 1975) 활발한 종 내 분화의 진행으로 인해 외부형태 형질의 변이 정도가 다양한 것으로 생각되므로 뚜렷한 중간 유연관계 파악을 위해서는 변이 정도에 따른 분류군과 개체수준에서의 다양한 분석이 필요할 것으로 판단된다.

금강초롱꽃속은 취약응예를 가지는 특징으로 *Symphycandra asiatica* Nakai로 발표된 후(Nakai, 1909), *Symphycandra* A. DC속과는 달리 근출엽이 없고, 잎이 줄기 상부에 모여 나는 특징 등에 의해 한국 특산속으로 승격되었다(Nakai, 1911). 하지만 Fedorov (1957)는 금강초롱꽃속이 초롱꽃과 내에서 취약응예를 가지는 종류인 *Symphycandra* 및 *Zeugandra* P. H. Davis속과 매우 유사하고, 초롱꽃과도 형태적 유연관계가 매우 높다고 언급하여 금강초롱꽃속에 대한 연구의 필요성을 제기하였으며, 그 후 주로 국내 학

자들에 의해 금강초롱꽃속의 정확한 분류학적 위치를 규명하기 위한 많은 연구가 수행되었다. 그 중 Lee et al. (1986)은 화분 표면에 난선돌기가 융합하고 틈이 발생하는 등 초롱꽃과 매우 유사하여 독립된 속으로 처리하지 않는 것이 타당하다고 하였으나, 보다 다양한 지역의 화분을 관찰한 결과 종내 변이 폭이 심해 화분의 특징만으로 속을 구별하는 데는 무리가 있다고 언급하여 특산속으로서의 가능성을 인정하였으며(Lee et al., 1988), 외부형태형질(Park and Ko, 2000) 및 RAPD (Yoo et al., 1996) 분석을 이용한 연구결과도 이와 유사하였다. 하지만 최근에 수행된 RFLP분석 결과(Kim and Yoo, 2011)에서는 금강초롱꽃이 잔대속 분계조 내에 위치하여 기존의 화분 및 형태학적 연구와 차이를 보였으며, 핵 DNA의 ITS 염기서열 분석 결과(Kim et al., 1999; Kim and Yoo, 2011)에서는 잔대속의 모시대절과 가깝게 유집되어 본 연구에 의한 계통수와 일치하였는데, Kimura's two parameter distance를 이용해 염기변이를 산출한 결과에서도 초롱꽃(4.48%)보다는 모시대(0.20%)와 더 적은 염기변이를 보여 금강초롱꽃이 초롱꽃보다는 모시대와 더 근연이라는 기존의 연구 결과를 지지하였다. 그러나 선모시대를 제외한 모시대절 분류군과는 병계원적인 유집양상을 보여 독립적인 속으로써의 계통학적 위치는 확인할 수 없었다. 한편 *Symphyandra*속 3종류와 금강초롱꽃속이 포함된 Eddie et al. (2003)과 Haberle et al. (2009)의 계통분석 결과에서는 금강초롱꽃속이 층층잔대절과 가까운 유연관계를 형성하였는데, 이러한 선행 연구 또한 근연 분류군인 잔대속, *Symphyandra*속 그리고 *Zeugandra*속 분류군들이 많이 포함되어 있지 않았으므로 금강초롱꽃속의 정확한 계통학적 유연관계를 파악하기 위해서는 이러한 분류군들을 포함한 폭 넓은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 분자계통학적인 연구 결과 한국산 초롱꽃과 분류군들은 속 수준에서의 구분이 가능하였으며 각 속이 유집되는 위치에 있어서 기존의 ITS분석에 의한 계통수(Kim and Yoo, 2011)와는 유사한 반면, 외부형태와 RAPD (Yoo, 1995) 및 RFLP분석에 의한 계통수(Kim and Yoo, 2011)와는 차이를 보였다. 또한 형태적으로 변이가 심하게 나타나는 잔대속의 경우 중간 염기 변이가 매우 적었으며, 특히 우리나라에 분포하는 잔대속 중 가장 많은 분류군이 포함되어 있는 층층잔대절의 경우 병계원적으로 유집되어 구분이 불가능하였다. 따라서 초롱꽃과의 절 또는 계열 등 속내 하위 분류군에 대한 계통유연관계를 명확히 파악하기 위해서는 전 세계에 분포하는 많은 집단을 대상으로 한 종합적인 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로

한국 연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No. 2011-0012310).

인용문헌

- Arano, H. and H. Saito. 1975. Cytological studies in family Campanulaceae . Karyotypes in *Adenophora* (I). La Kromosomo 99: 3072-3081.
- Baranov, A. I. 1963. Materials to the monograph of the species of *Adenophora* of N.E. China. Quarterly Journal of the Taiwan Museum 16: 143-179.
- Chang, N. K. 1979. Pollen of Korean plant. Seoul National University Press, Seoul, Korea. (in Korean)
- De Candolle, A. P. 1830. Monographie des Campanulees. V. Desray Press, Paris, French. (in French)
- De Jussieu, A. L. 1789. Genera plantarum secundum ordines naturales disposita. Herissant and Barrois Press, Paris, French. (in French)
- Downie, S. R., E. Lianas and D. S. Katz-Downie. 1996. Multiple independent losses of the *rpoC1* intron in angiosperm chloroplast DNA's. Systematic Botany 21: 135-151.
- Doyle, J. J. and J. S. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11-15.
- Eddie, W. M. M., T. Shulkina, J. Gaskin, R. C. Harberle and R. K. Jansen. 2003. Phylogeny of Campanulaceae s. str. inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. Annals of the Missouri Botanical Garden 90: 554-575.
- Farris, J. S. 1989. The retention index and homoplasy excess. Systematic Zoology 38(4): 406-407.
- Farris, J. S., V. A. Albert, M. Källersjö, D. Lipscomb and A. G. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. Cladistics 12(2): 99-124.
- Fedorov, A. A. 1957. Campanulaceae. In Flora of the U.S.S.R., vol 24. Shishkin, B. K. (eds.), Akademia Nauk, Moskva, Russia. Pp. 459-475.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39(4): 789-791.
- Haberle, R. C., A. Dnag, T. Lee, C. Penafior, H. Cotes-Burns, A. Oestreich, L. Raubeson, N. Cellinese, E. J. Edwards, S. T. Kim, W. M. M. Eddie and R. K. Jansen. 2009. Taxonomic and biogeographic implications of a phylogenetic analysis of the Campanulaceae based on three chloroplast genes. Taxon 58(3): 715-734.
- Hemsley, W. B. 1889. Campanulaceae. In The Journal of the Linnean Society, vol. 26. William Carruthers, F. R. S. (eds.), Longmans, Green, and Co., London, UK. Pp. 2-14.
- Hong, D. Y. 1983. Flora reipublicae popularis sinicae. Science

- Press, Beijing, China. 73(2): 1-144. (in Chinese)
- Hong, D. Y. 1995. The geography of the Campanulaceae: On the distribution centres. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 33(6): 521-536. (in Chinese)
- Hoot, S. B., A. Culham and P. R. Crane. 1995. The utility of *atpB* gene sequences in resolving phylogenetic relationships: Comparison with *rbcL* and 18S ribosomal DNA sequences in the Lardizabalaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 194-207.
- Ji, Y. U., B. C. Moon, A. Y. Lee, J. M. Chun, B. K. Choo and H. K. Kim. 2010. Molecular phylogenetic position of *Adenophora racemosa*, and endemic species in Korea. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 18(6): 379-388. (in Korean)
- Johnson, L. A. and D. E. Soltis. 1994. *MatK* DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s.str. *Systematic Botany* 19: 143-156.
- Jordan, W. C., M. W. Courtney and J. E. Neigel. 1996. Low levels of intraspecific genetic variation at a rapidly evolving chloroplast DNA locus in North American duckweeds (Lemnaceae). *American Journal of Botany* 83(4): 430-439.
- Kanai, H. 1978. An approach to a logical identification of Japanese plants: Identification chart of Japanese species of the genus *Adenophora* (Campanulaceae). *Bulletin of the National Science Museum. Series B, Botany* 4(4): 155-159.
- Kim, K. A. and K. O. Yoo. 2011. Phylogenetic relationships of Korean Campanulaceae based on PCR-RFLP and ITS sequences. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 41(2): 119-129. (in Korean)
- Kim, Y. D., J. K. Lee, Y. B. Suh, S. T. Lee, S. H. Kim and R. K. Jansen. 1999. Molecular evidence for the phylogenetic position of *Hanabusaya asiatica* Nakai (Campanulaceae), and endemic species in Korea. *Journal of Plant Biology* 42(2): 168-173.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Kitamura, S. 1941. On *Adenophora triphylla* DC. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 10: 305-311. (in Japanese)
- Kolakovsky, A. A. 1987. System of the Campanulaceae family from the old world. *Botanicheskii Zhurnal. Moscow & Leningrad* 72(12): 1572-1579.
- Kress, W. J., K. J. Wurdack, E. A. Zimmer, L. A. Weigt and D. H. Janzen. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 8369-8374.
- Lammers, T. G. 2007. World checklist and bibliography of Campanulaceae. Royal Botanic Gardens, Kew Press, Richmond, UK.
- Lee, J. K. 1989. A taxonomic study of the genus *Adenophora* in Korea. Master Dissertation, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea. (in Korean)
- Lee, J. K. 1997. Taxonomy of *Adenophora* sect. *Remotiflorae* (Campanulaceae). Ph. D. Dissertation, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea. (in Korean)
- Lee, J. K. and S. T. Lee. 1990. *Adenophora racemosa* (Campanulaceae), a new species from Korea. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 20(2): 121-126.
- Lee, S. T., J. K. Lee and S. T. Kim. 1997. A new species of *Adenophora* (Campanulaceae) from Korea. *Journal of Plant Research* 110: 77-80.
- Lee, S. T., Y. J. Chung and J. K. Lee. 1990. A new variety of *Adenophora*, *A. remotiflora* var. *hirticalyx*. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 20(3): 191-194. (in Korean)
- Lee, S. T., Y. J. Chung and J. K. Lee. 1988. A palynotaxonomic study of the Korean Campanulaceae. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 18(2): 115-131. (in Korean)
- Lee, S. T., Y. M. An and K. R. Park. 1986. Palynological relationship of *Hanabusaya asiatica* Nakai within the Campanulaceae. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 16(1): 25-37. (in Korean)
- Lee, Y. N. 1967. Chromosome numbers of flowering plants in Korea. *Journal of Korean Research Institute, Ewha Women's University* 11: 455-478.
- Nakai, T. 1909. *Plantae novae Asiaticae*. *Botanical Magazine (Tokyo)* 23: 185-192.
- Nakai, T. 1911. *Flora Koreana*. *Journal of the College of Science, Imperial University of Tokyo* 31: 64-68.
- Oh, S. Y. 1981. A review of the family Campanulaceae of Korea. *Research Review of Kyungpook National University* 31: 311-386. (in Korean)
- Olmstead, R., H. J. Michaels, K. Scott and J. D. Palmer. 1992. Monophyly of the *Asteridae* and identification of their major lineages inferred from DNA sequences of *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79: 249-265.
- Park, K. R. and H. J. Jung. 2000. Isozyme and morphological variation in *Campanula punctata* and *C. takesimana* (Campanulaceae). *Korean Journal of Plant Taxonomy* 30(1): 1-16. (in Korean)
- Park, K. R. and M. S. Ko. 2000. Taxonomic position of *Hanabusaya asiatica* Nakai within Korean Campanulaceae: Phylogenetic analysis using morphological data. *Journal of Basic Sciences Research Institute, Kyungnam University* 14: 171-181. (in Korean)
- Prebble, J. M., C. N. Cupido, H. M. Meudt and P. J. Garnock-Jones. 2011. First phylogenetic and biogeographical study of

- the southern bluebells (*Wahlbergia*, Campanulaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 636-648.
- Savolainen, V., J. F. Manen, E. Douzery and R. Spichiger. 1994. Molecular phylogeny of families related to Celastrales based on *rbcL* 5' flanking sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3: 27-37.
- Swofford, D. I. 2003. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. ver. 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, USA.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG . *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-201.
- Yoo, K. O. 1995. Taxonomic studies on the Korean Campanulaceae. Ph. D. Dissertation, Kangwon National University, Chuncheon, Korea. (in Korean)
- Yoo, K. O. and W. T. Lee. 1989. A taxonomic study of the genus *Codonopsis* in Korea. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 19(2): 81-102. (in Korean)
- Yoo, K. O., W. T. Lee, N. S. Kim, J. H. Kim and H. T. Lim. 1996. Comparative studies on the *Hanabusaya asiatica* and its allied groups based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science* 37(2): 324-328. (in Korean)
- Zhou, Z., J. Wen, G. Li and H. Sun. 2012. Phylogenetic assessment and biogeographic analyses of tribe *Peracarpeae* (Campanulaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298: 323-336.

Appendix 1. Taxa and GenBank accession numbers for sequences used in this study. Accession numbers are given in the following order: *atpB*, *atpB-rbcL*, *atpF-H*, *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *rpoC1* and *trnL-F*.

Adenophora lamarckii Fisch. 두메잔대 KC146462, HQ704475, HQ704515, KC146502, KC146542, HQ704592, HQ704632, HQ704672; *A. liliifolia* (L.) Besser 나리잔대 KC146460, HQ704473, HQ704513, KC146500, KC146540, HQ704590, HQ704630, HQ704670; *A. verticillata* (Pall.) Fisch. 층층잔대 KC146438, HQ704451, HQ704491, KC146478, KC146518, HQ704568, HQ704608, HQ704648; *A. verticillata* var. *hirsuta* F. Schmidt. 털잔대 KC146439, HQ704452, HQ704492, KC146479, KC146519, HQ704569, HQ704609, HQ704649; *A. divaricata* Franch. & Sav. 넓은잔대 KC146427, HQ704440, HQ704480, KC146467, KC146507, HQ704557, HQ704597, HQ704637; *A. kayasanensis* Kitam. 가야산잔대 KC146430, HQ704443, HQ704483, KC146470, KC146510, HQ704560, HQ704600, HQ704640; *A. racemosa* J. Lee et S. Lee 외대잔대 KC146432, HQ704467, HQ704507, KC146472, KC146512, HQ704584, HQ704624, HQ704664; *A. triphylla* var. *japonica* (Regel) H. Hara 잔대 KC146437, HQ704450, HQ704490, KC146477, KC146517, HQ704567, HQ704607, HQ704647; *A. erecta* S. Lee, J. Lee et S. Kim 선모시대 KC146465, HQ704476, HQ704516, KC146505, KC146545, HQ704593, HQ704633, HQ704673; *A. grandiflora* Nakai 도라지모시대 KC146429, HQ704442, HQ704482, KC146469, KC146509, HQ704559, HQ704599, HQ704639; *A. remotiflora* (S. et Z.) Miq. 모시대 KC146433, HQ704447, HQ704487, KC146473, KC146513, HQ704564, HQ704604, HQ704644; *A. remotiflora* var. *hirticalyx* S. Lee, Y. Chung & J. Lee 그늘모시대 KC146435, HQ704448, HQ704488, KC146475, KC146514, HQ704565, HQ704605, HQ704645; *A. coronopifolia* Fisch. 둥근잔대 KC146426, HQ704439, HQ704479, KC146466, KC146506, HQ704556, HQ704596, HQ704636; *A. polyantha* Nakai 수월잔대 KC146431, HQ704444, HQ704484, KC146471, KC146511, HQ704561, HQ704601, HQ704641; *A. stricta* Miq. 당잔대 KC146436, HQ704449, HQ704489, KC146476, KC146516, HQ704566, HQ704606, HQ704646; *A. taquetii* H. Lév. 섬잔대 KC146464, HQ704478, HQ704518, KC146504, KC146544, HQ704595, HQ704635, HQ704675; *Campanula punctata* Lam. 초롱꽃 KC146442, HQ704455, HQ704495, KC146482, KC146522, HQ704572, HQ704612, HQ704652; *C. takesimana* Nakai 섬초롱꽃 KC146443, HQ704456, HQ704496, KC146483, KC146523, HQ704573, HQ704613, HQ704653; *C. glomerata* var. *dahurica* Fisch. ex Ker Gawl. 자주꽃방망이 KC146441, HQ704454, HQ704494, KC146481, KC146521, HQ704571, HQ704611, HQ704651; *Codonopsis lanceolata* (S. et Z.) Trautv. 더덕 KC146444, HQ704457, HQ704497, KC146484, KC146524, HQ704574, HQ704614, HQ704654; *C. pilosula* (Franch.) Nannf. 만삼 KC146445, HQ704458, HQ704498, KC146485, KC146525, HQ704575, HQ704615, HQ704655; *C. ussuriensis* (Rupr. & Maxim) Hemsl. 소경불알 KC146446, HQ704459, HQ704499, KC146486, KC146526, HQ704576, HQ704616, HQ704656; *Hanabusaya asiatica* (Nakai) Nakai 금강초롱꽃 KC146447, HQ704460, HQ704500, KC146487, KC146527, HQ704577, HQ707617, HQ704657; *Asyneuma japonicum* (Miq.) Briq. 영아자 KC146440, HQ704453, HQ704493, KC146480, KC146520, HQ704570, HQ704610, HQ704650; *Peracarpa carnosia* var. *circaeoides* (F.Schmidt ex Miq.) Makino 홍노도라지 KC146448, HQ704461, HQ704501, KC146488, KC146528, HQ704578, HQ704618, HQ704658; *Platyodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. 도라지 KC146449, HQ704462, HQ704502, KC146489, KC146529, HQ704579, HQ704619, HQ704659; *P. grandiflorus* f. *albiflorum* Hara 백도라지 KC146450, HQ704463, HQ704503, KC146490, KC146530, HQ704580, HQ704620, HQ704660; *Wahlenbergia marginata* (Thunb.) A. DC. 애기도라지 KC146451, HQ704464, HQ704504, KC146491, KC146531, HQ704581, HQ704621, HQ704661; *Lobelia chinensis* Lour. 수염가래꽃 KC146452, HQ704465, HQ704505, KC146492, KC146532, HQ704582, HQ704622, HQ704662; *L. sessilifolia* Lamb. 숫잔대 KC146453, HQ704466, HQ704506, KC146493, KC146533, HQ704583, HQ704623, HQ704663