

ITS 염기서열에 의한 한국산 붓꽃속 (*Iris*) 의 계통학적 연구

심정기¹ · 박홍덕² · 박선주*

(목원대 생물학과¹ · 대구가톨릭대 생물학과² · 영남대 생명공학연구소*)

한국산 붓꽃속 (*Iris* L.; Iridaceae) 17종과 비교군인 등심붓꽃속 (*Sisyrinchium angustifolium* Mill.)과 범부채속 [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.]을 포함한 19분류군을 대상으로 핵 rDNA의 ITS 지역 염기서열을 비교하였다. 정렬된 염기서열들은 bootstrap, jackknifing을 포함한 parsimony방법과 neighbour-joining 방법을 통하여 계통수를 평가하였다. 한국산 붓꽃속은 3아속 (*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*) 또는 2속과 1아속으로 분류되어지고, 붓꽃아속 (*Limniris*)은 7개의 분계조를 형성하고 있어 Waddick(1992)이 설정한 2절, 6계열의 분류체계가 더 타당하다고 생각된다. *Pardanthopsis*아속 (대청부채)에서 *Crossiris*아속 (연미붓꽃) 그리고 *Limniris*아속 (붓꽃)으로의 진화경향을 추정할 수 있으며, *Chinensis*계열은 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 구분되어진다. *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열 (시베리아붓꽃, 붓꽃)과 매우 가까운 유연관계를 형성하고 있으며, *Ensatae*계열에 속하는 다래붓꽃은 *Ruthenicae*계열에 속하는 솔붓꽃, 난장이붓꽃과 가까운 유연관계를 나타내고 있다. ITS 염기서열을 기초로 한 한국산 붓꽃속의 계통학적 연구는 형태학적 결과와 비슷한 결과를 제시하였고, 많은 학자들에 의해 논란이 된 분류군들의 문제를 해결하는데 유용한 접근방법이라 생각되며, 전체 붓꽃속 수준에서의 계통분석에 유용한 도구로 이용될 수 있는 것으로 사료된다.

주요어 : *Iris*, rDNA, ITS, 진화경향성

붓꽃속 (*Iris* L.)은 붓꽃과 (Iridaceae)에 속하는 식물로 전세계에 200여종이 주로 북반구 온대에 분포하며 (Goldblatt, 1971), 한반도 특산인 *I. koreana* Nakai (노랑붓꽃), *I. odaesanensis* Y. Lee (노랑무늬붓꽃), *I. rossii* Baker var. *latifolia* J. Sim et Y. Kim (넓은잎각시붓꽃), 및 *I. rossii* for. *alba* Y. Lee (흰각시붓꽃)을 포함하여, 한반도에는 11종, 4변종, 1품종이 자생하고 있다 (Sim, 1988).

*교신저자 : 전화 : (053) 810-2987, 전송 : (053) 816-8498, 전자우편 : sjpark01@yu.ac.kr

붓꽃속은 Linneaus(1753)에 의하여 처음 속이 설정된 이후 Lawrence(1953), Rodionenko(1961), Waddick(1992), Zhao(1992) 등에 의해 분류체계가 연구되었는데, 학자에 따라 상당한 이견을 가지고 있다(Table 1). 상기한 붓꽃속의 분류체계중 가장 널리 인정되고 있는 것은 Rodionenko(1961)의 견해로서 그는 붓꽃속을 다음과 같이 6개의 아속으로 분류하였다. 외화피편에 부속물이 없는 *Limniris*아속, 외화피편에 부속물이 없고, 외화피편이 제금형인 *Xyridion*아속, 외화피편에 부속물인 털이 없고, 돌기가 있는 *Crossiris*아속, 외화피편에 털이나 돌기가 없고, 화경은 규칙적으로 수회 둘로 분지하는 *Pardanthopsis*아속, 외화피편에 단세포성 또는 다세포성 털이 있고, 종자에 가종피가 없는 *Iris*아속, 근경은 작고 육질의 뿌리를 가지는 *Nepalensis*아속 등으로 구분하고 있다. 또한 *Limniris*아속을 *Limniris*절, *Unguicularis*절 및 *Ioniris*절 등 3절로 분류하였는데, *Limniris*절의 화주는 기부에서 분지하고, 꽃이 진후 화피통은 삭과 위에 남아있지 않으며, *Unguicularis*절은 삭과가 삼각상으로 3개의 능선이 있고, 종자에는 부속물이 없으며, 화주는 작은 돌기가 있다. *Ioniris*절은 삭과가 아원형으로 종자에는 배봉선이 있고, 광택이 있으며, 포는 다소 편평하고 화피통이나 삭과를 싸는 특징에 의해 구분하였다. *Limniris*절은 다시 4개 아절(*Apogon*, *Ensatae*, *Tenuifoliae*, 및 *Syriacae*)로 분류되며, *Limniris*절의 *Apogon*아절은 9개의 계열(*Sibiricae*, *Prismaticae*, *Laevigata*, *Chinensis*, *Californicae*, *Hexagonae*, *Longipetalae*, *Tripetalae*, *Vernae*)로 나누어진다. 이상과 같은 Rodionenko(1961)의 분류체계는 표본재료를 대상으로 외부형태학적 분류형질을 재검토하였고, 생체재료를 이용하여 해부학적 방법과 화학적 형질을 이용한 체계이다. 따라서 그 이후의 분류체계와 관한 언급은 Rodionenko(1961)의 견해와 비교한 연구들이 주를 이루었다(Waddick, 1992; Zhao, 1992). 한국산 붓꽃속의 분류체계는 Rodionenko(1961)의 견해를 기준으로 Sim(1988)은 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*)과 가장 많은 분류군이 포함되어 있는 *Limniris*아속내에 2절(*Limniris*, *Ioniris*), 2아절(*Apogon*, *Ensatae*), 그리고 6계열(*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*), *Crossiris*아속에 1절(*Crossiris*)로 세분하였고, Zhao(1992)의 분류체계에 따르면 3아속(*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*), *Limniris*아속에 2절(*Limniris*, *Ioniris*), *Crossiris*아속에 1절(*Crossiris*)로 나누어지고, Waddick(1992)에 따르면 1아속(*Limniris*), *Limniris*아속에 2절(*Limniris*, *Lophiris*)을 두었으며, *Limniris*절에 6계열(*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*)의 분류체계로 분류되어진다(Table 1).

특히 많은 학자들에 의해 문제가 되고 있는 대청부채(*Iris dichotoma*)는 특이한 종집단으로 화서는 규칙적으로 여러차례 둘로 분지하고 씨에는 작은 가종피가 있는 특징으로 붓꽃속의 *Pardanthopsis*아속으로 설정하는 학자(Baker, 1892; Rodionenko, 1961; Zhao, 1992)가 있는 반면에 Lenz(1972), Mathew(1981), Waddick(1992) 등은 화서가 많이

Table 1. Taxonomic dispositions of Korean *Iris* by previous authors.

Rodionenko(1961) and Sim(1988)	Zhao(1992)	Waddick(1992)
Genus <i>Iris</i>	Genus <i>Iris</i>	Genus <i>Iris</i>
Subgenus <i>Limniris</i>	Subgenus <i>Limniris</i>	Subgenus <i>Limniris</i>
Section <i>Limniris</i>	Section <i>Limniris</i>	Section <i>Limniris</i>
Subsection <i>Apogon</i>		
Series <i>Sibircae</i>		Series <i>Sibircae</i>
<i>I. sanguinea</i>	<i>I. sanguinea</i>	<i>I. sanguinea</i>
<i>I. sibirica</i>		<i>I. sibirica</i>
Series <i>Laevigatae</i>		Series <i>Laevigatae</i>
<i>I. ensata</i> var. <i>spontanea</i>		<i>I. ensata</i>
<i>I. pseudacorus</i>	<i>I. pseudacorus</i>	<i>I. pseudacorus</i>
<i>I. laevigata</i>	<i>I. laevigata</i>	<i>I. laevigata</i>
Series <i>Chinensis</i>		Series <i>Chinensis</i>
<i>I. minutoaurea</i>	<i>I. minutoaurea</i>	<i>I. minutoaurea</i>
<i>I. rossii</i> .	<i>I. rossii</i>	<i>I. rossii</i>
<i>I. koreana</i>		
<i>I. odaesanensis</i>		
<i>I. rossii</i> for. <i>alba</i>		
<i>I. rossii</i> Baker var. <i>latifolia</i>		
Series <i>Tripetalae</i>		Series <i>Tripetalae</i>
<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>
Subsection <i>Ensatae</i>		
Series <i>Ensatae</i>		Series <i>Ensatae</i>
<i>I. lactea</i> var. <i>chinensis</i>	<i>I. lactea</i>	<i>I. lactea</i>
Section <i>Ioniris</i>		Section <i>Ioniris</i>
Series <i>Ruthenicae</i>		Series <i>Ruthenicae</i>
<i>I. ruthenica</i> var. <i>nana</i>	<i>I. ruthenica</i>	<i>I. ruthenica</i>
<i>I. uniflora</i> var. <i>caricina</i>	<i>I. uniflora</i>	<i>I. uniflora</i>
Subgenus <i>Crossiris</i>	Subgenus <i>Crossiris</i>	
Section <i>Crossiris</i>	Section <i>Crossiris</i>	
Series <i>Tectoris</i>		Section <i>Lophiris</i>
<i>I. tectorum</i>	<i>I. tectorum</i> Maxim.	<i>I. tectorum</i>
Subgenus <i>Pardanthopsis</i>	Subgenus <i>Pardanthopsis</i>	Genus <i>Pardanthopsis</i>
<i>I. dichotoma</i>	<i>I. dichotoma</i>	<i>P. dichotoma</i>

분지하고 꽃이 많이 달리며 꽃의 수명이 매우 짧고 화피통은 거의 없으며, 꽃이 진 후 비틀어 시드는 특징을 들어 대청부채를 독립된 속인 *Pardanthopsis*속으로 분리하기도 하였다. 또한 외화피에 털이 없고, 닭벼슬모양의 돌기물이 있는 연미붓꽃 (*I. tectorum*)에 대하여 Rodionenko(1961), Sim(1988) 및 Zhao(1992)는 *Crossiris*아속의 *Crossiris*절로 분류계급을 설정하는가 하면, Waddick(1992)은 *Limniris*아속의 *Lophiris*절로 하는 등 분류체계에 혼돈이 있어왔다.

속이하 분류체계의 비교와 일부 종에 있어서 논란이 되고 있는 분류군 즉, 금붓꽃 (*I. minutoaurea*), 노랑붓꽃 (*I. koreana*), 노랑무늬붓꽃 (*I. odaesanensis*), 그리고 각시붓꽃 (*I. rossii*) 계열에 대한 실체에 대하여 한 개의 series(계)로 해야 한다는 견해와 (Rodionenko, 1961) 금붓꽃계와 각시붓꽃계로 나누어야 한다는 견해가 있다 (Sim 1988).

이상과 같이 형태학적인 연구결과 학자들간에 속이하의 분류계급에 견해 차이가 있는바 우선 국내에 분포하는 붓꽃속을 대상으로 학자에 따라 문제시 되고 있는 대청부채와 연미붓꽃의 계급과, *Chinensis*계의 분류체계에 대하여 명확히 하고 이에 대한 한국산 붓꽃속의 유연관계 및 진화경향성을 파악하고자 한다. 이를 위하여, 핵 rDNA의 internal transcribed spacer (ITS) 지역의 염기서열을 비교하였다. Nuclear ribosomal DNA는 고등식물의 계통에 널리 이용되고 있으며, 특히, 본 연구에 사용된 ITS지역은 종간 또는 속간의 연관관계를 파악하는데 중요한 자료로 이용되고 있다 (Baldwin, 1992, Kim and Jansen, 1994). 따라서 ITS의 염기서열 비교는 본 연구의 목적인 한국산 붓꽃속 및 속내 분류군의 계통학적 위치와 유연관계 및 진화경향성을 파악하는데 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 재료의 total genomic DNA는 총 19종이다 (Table 2). 한국산 붓꽃속을 대상으로 한 형태학, 해부학, 화분학적 특징들은 연구하여, 3아속 (*Limniris*, *Crossiris*, *Padanthopsis*)으로 구분한 Sim(1988)의 견해에 따라 *Limniris*아속에 15분류군, *Crossiris*아속에 1분류군, *Padanthopsis*아속에 1분류군 그리고 비교군으로는 계통학적으로 가까운 등심붓꽃속 (*Sisyrinchium*)의 등심붓꽃 (*S. angustifolium*)과 벚부채속 (*Belamcanda*)의 벚부채 (*B. chinensis*)를 선정하였다 (Rodionenko, 1961, Waddick, 1992; Zhao, 1992.).

DNA추출, PCR 및 염기서열 : DNA추출은 생체 혹은 건조표본을 이용하였으며, 생체는 목원대학교와 대구가톨릭대학교에서 이식, 재배한 것을 사용하였다. 이러한 DNA 추출은 액체질소를 이용하여 잎을 파쇄한 후, 2X CTAB 방법으로 60°C에서 small scale DNA 추출방법을 이용하여 추출하였다 (Doyle and Doyle, 1987; Lookermam and

Jansen, 1996). ITS의 증폭은 Primer 1과 4 (Baldwin, 1992)을, 이용하여 Kim and Jansen (1994)의 방법으로 실행하였다. PCR의 반응조건은 94°C에서 3분동안 denaturation, 50°C에서 1분동안 annealing, 72°C에서 1분 동안 extension, 그리고 매 사이클마다 1초씩 증가되는 extension step을 수행하였다. PCR의 결과 산물의 정제는 QIA-quick PCR purification kit (Qiagen Inc., Chatsworth, California, USA)를 사용하였다. 염기서열 분석은 ABI Prism 377 sequencer (Perkin-Elmer Corp., Foster City, California, USA)를 이용하여 cycling sequencing 방법으로 실행하였다.

염기서열의 정렬 및 계통수 분석 : 염기서열은 Sequencher (Gene codes Corporation, Ann Arbor, Michigan), Clustal X (Gibson *et al*, 1994)를 이용하여 정렬하였으며, 최종 세부 정렬은 수작업을 통해 수정하였다. 정렬된 염기서열은 PAUP 4.02b (Swofford, 1998)을 사용하여 parsimony analysis를 하였으며, 분석방법으로는 Heuristic search를 이용하고, 그에 따른 option으로는 ACCTRAN, MULPARS, 그리고 TBR을 이용하였다. 또한 각 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 Bootstrap (Felsenstein, 1985)과 Jackknifing (Farris *et al*, 1996)을 이용하였다. 이러한 분석방법은 1000회를 반복하였으며 이를 통한 계통수를 찾아내었다. 또한 two-parameter method (Kimura, 1980)로 계산된 염기변이 값을 기초로 한 neighbor-joining tree (NJ)를 산출하였다 (Saitou and Nei, 1987; Farris *et al*, 1996).

염기서열의 변이 : 본 19종의 sequence 결과 ITS1의 길이는 219-258bp, ITS2는 235-286bp로 나타났으며, 5.8S는 156-158bp로 거의 차이가 없었다 (Table 3). 대부분이 ITS1보다 ITS2가 길었으며, ITS1에서 가장 긴 분류군은 *Ruthenicace*계열 (솔붓꽃, 난장이붓꽃)이였으며, ITS2에서는 *Laevigatae*계열 (꽃창포, 노랑꽃창포, 제비붓꽃)이다 (Table 3). 또한 정렬된 732 site중 344개가 염기서열이 변화가 없고, 나머지 388개가 염기서열의 변화를 가졌으며, 그 중 informative character는 165개이다. 가장 긴 염기 서열을 가지고 있는 종은 붓꽃으로 712개의 염기를 가지고 있으며, 가장 짧은 염기서열을 가지고 있는 분류군은 솔붓꽃으로 697개의 염기를 가지고 있다. 염기조성은 전체분류군이 평균 A가 18.7%, G가 31.8%, C가 34.1%, T가 15.2%로 차이를 보였다. G+C의 염기조성은 약 66%를 보였다. 본 분류군에서 조사된 outgroup의 염기변이는 평균 0-22%이고, ingroup은 0.01-30.39%로 큰 폭의 변이 양상을 나타내었다. Outgroup인 범부채는 13.47-28.56%를 나타내었고, 연미붓꽃은 11.45-24.59%, *Limniris*아속의 *Sibiricae*계열 (붓꽃, 시베리아붓꽃) 사이의 염기변이는 0.03-24.04%이며, *Laevigatae*계열 (꽃창포, 노랑꽃창포, 제비붓꽃)의 염기변이는 0.01-24.56%, *Chinesis*계열중 금붓꽃, 노랑무늬붓꽃, 노랑붓꽃의 염기변이는 0.07-31.07%, 각시붓꽃, 흰각시붓꽃, 넓은잎각시붓꽃의 염기변이는 0.08-30.39%, *Ioniris*계열 (솔붓꽃, 난장이붓꽃)의 염기변이는 0.02-31.23%를 나타내었다. *Tripetale*계열 (부채붓꽃)은 0.06-23.18%, *Ensatae*계열 (타래붓꽃)은 0.07-26.68%를 나타내었다. 염기의

Table 2. Plant materials used for this study. Vouchers are deposited at MWU (Mokwon University), or DCU (Catholic University of Daegu). The taxonomic treatment followed the system by Sim (1988).

Taxon	Source	Locality
Genus <i>Iris</i>		
Subgenus <i>Limniris</i>		
Section <i>Limniris</i>		
Subsection <i>Apogon</i>		
Series <i>Sibiricae</i>		
<i>I. sanguinea</i>	J. Sim 967(MWU)	Jeollabuk-do, Jeonju
<i>I. sibirica</i>	J. Sim 876(MWU)	Daejon, Doan-dong
Series <i>Laevigatae</i>		
<i>I. ensata</i> var. <i>spontanea</i>	J. Sim 854(MWU)	Gyeonggi-do, Mt. Chungnyeongsan
<i>I. pseudacorus</i>	J. Sim 850(MWU)	Daejon, Doan-dong
<i>I. laevigata</i>	H. Park 379(DCU)	Gyeongsangbuk-do, Hayang
Series <i>Chinensis</i>		
<i>I. minutoaurea</i>	J. Sim 840(MWU)	Chungcheogbuk-do, Boeun
<i>I. rossii</i>	J. Sim 887(MWU)	Daejon, Okyeobong
<i>I. koreana</i>	J. Sim 842(MWU)	Jeollabuk-do, Byeonsanbando
<i>I. odaesanensis</i>		
<i>I. rossii</i> for. <i>alba</i>	J. Sim 870(MWU)	Jeollanam-do, Mt. Jogyesan
<i>I. rossii</i> Baker var. <i>latifolia</i>	J. Sim 889(MWU)	Daejon, Anyeong-ri
Series <i>Tripetalae</i>		
<i>I. setosa</i>	J. Sim 873(MWU)	Gangwon-do, Samcheok
Subsection <i>Ensatae</i>		
Series <i>Ensatae</i>		
<i>I. lactea</i> var. <i>chinensis</i>	J. Sim 902(MWU)	Jeollanam-do, Mt. Jogyesan
Section <i>Ioniris</i>		
Series <i>Ruthenicae</i>		
<i>I. ruthenica</i> var. <i>nana</i>	J. Sim 896(MWU)	Daejon, Doan-dong
<i>I. uniflora</i> var. <i>caricina</i>	J. Sim 891(MWU)	Gangwon-do, Mt. Seoraksan
Subgenus <i>Crossiris</i>		
Section <i>Crossiris</i>		
Series <i>Tectores</i>		
<i>I. tectorum</i>	J. Sim 940(MWU)	Gyeongsangnam-do, Hadong

Table 2. Continued.

Taxon	Source	Locality
Subgenus <i>Pardanthopsis</i>		
<i>I.dichotoma</i>	J. Sim 900(MWU)	Incheon, Is. Daecheongdo
outgroup		
<i>Sisyrinchium</i>		
<i>S.anguistifolium</i>	J. Sim 051(MWU)	Jeju-do Is. Ara-dong
Belamcanda		
<i>B. chinensis</i>	J. Sim 808(MWU)	Gangwon-do, Samcheok

Table 3. Comparison of ITS lengths in this study.

Taxa\Region	ITS1(bp)	5.8S(bp)	ITS2(bp)
Genus <i>Sysinchium</i>	230	157	235
Genus <i>Belamcanda</i>	220	157	275
<i>Pardanthopsis</i>	232	156	275
Series <i>Sibiricae</i>	245	157	274
Series <i>Laevigatae</i>	244	157	286
Series <i>Chinensis</i>	219-242	156-157	248-256
Series <i>Tripetalae</i>	232-245	157	265
Series <i>Ensatae</i>	239	157	267
Series <i>Ruthenicae</i>	256-258	157-158	257-283

삽입 또는 결실 (indel)의 크기는 1-26개 염기의 범위로 나타났으며, 그중 가장 큰 indel을 가지고 있는 분류군은 꽃창포이고 솔붓꽃에서 가장 적은 것으로 나타났다.

계통학적인 분석: 전체 분류군을 PAUP 프로그램을 이용하여 분석한 결과, 전체 544단계의 길이를 갖는 전체 57개의 가장 짧은 계통수를 얻었으며, Consistency index (autapomorphy 제외)는 0.804, Retention index(RI)는 0.670, Homoplasy index(HI)는 0.251, Rescaled consistency index(RC)는 0.543을 나타내었다. 또한 tree length는 693이며, g1 value는 -0.896이다. 조사된 붓꽃속의 ITS의 tree는 7개의 분계조를 형성하고 하고 있다. 첫번째 분계조는 대청부채로 가장 기부에 위치하고 있고, 62개의 autapomorphic change를 가지고 있으며, outgroup인 범부채아속과 같이 붕괴조를 이루고 있다. 두번째 분계조는 연미붓꽃으로 35개의 synapomorphic change와, 85% bootstrap, 100% jackknife의 지지도를 가지고 나머지 붓꽃아속과 묶여있으며, 세번째 분계조는 각시붓꽃계열로 10개의 synapomorphic change와, 96% bootstrap, 99% jackknife의 지지도를 나타내며, 각시붓꽃은 흰각시붓꽃과 8개의 synapomorphic change와, 98%

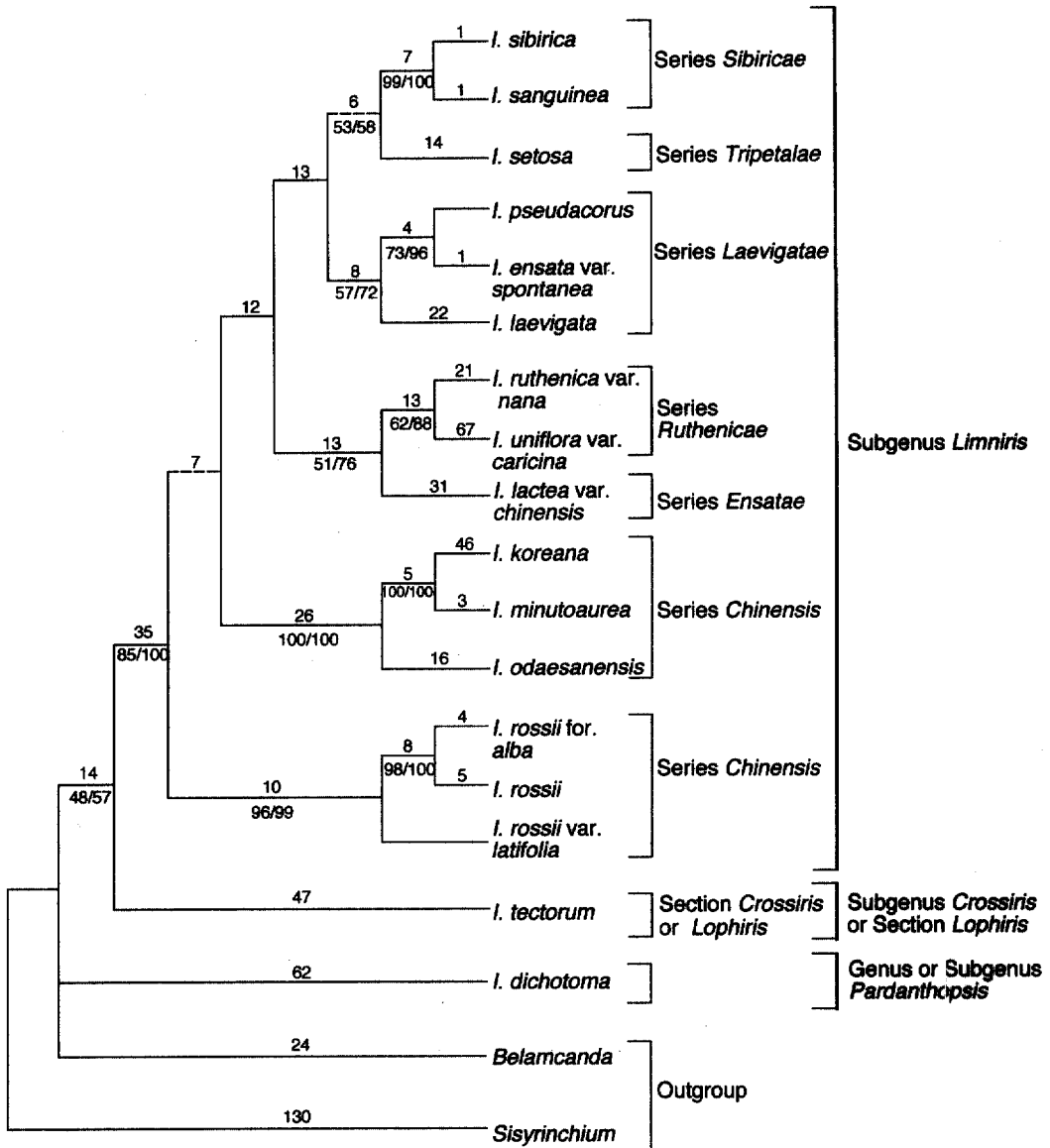


Fig. 1. Strict consensus tree of the 57 most parsimony trees (544 steps, CI=0.804, RI=0.670) based on 165 phylogenetically informative changes in ITS sequences of 19 taxa. The number of changes is indicated above branches and bootstrap/jackknife values are found below branches. Dashed lines indicate the node that collaps in the strict consensus tree. Vertical bars indicate the taxonomic treatment of *Iris* by Widdick(1992).

bootstrap, 100% jackknife 지지도로 넓은잎각시붓꽃과의 자매군을 형성하고 있다. 네 번째 분계조는 금붓꽃계열로 26개의 synapomorphic change와, 100% bootstrap, 100% jackknife의 지지도를 나타내며, 노랑붓꽃과 금붓꽃이 5개의 synapomorphic change와, 100% bootstrap, 100% jackknife 지지도를 가지고 노랑무늬붓꽃과 자매군을 형성하고 있다. 다섯번째 분계조는 *Ruthenicae*계열로 솔붓꽃과 난장이붓꽃(13개의 synapomorphic change와, 62% bootstrap, 88% jackknife 지지도)이 *Ensatae*계열인 타래붓꽃과 자매군을 형성하고 있다(13개의 synapomorphic change와, 51% bootstrap, 76% jackknife 지지도). 여섯번째 분계조는 *Laevigatae*계열로 노랑꽃창포와 꽃창포가 4개의 synapomorphic change와, 73% bootstrap, 96% jackknife의 지지도를 나타내며, 제비붓꽃과(8개의 synapomorphic change와, 57% bootstrap, 72% jackknife 지지도) 자매군을 형성하고 있다. 마지막 분계조인 *Sibiricae*계열인 시베리아붓꽃은 7개의 synapomorphic change와, 99% bootstrap, 100% jackknife의 지지도를 가지고 붓꽃과 연결되어 있으며, *Tripetalae*계열인 부채붓꽃과 자매군을 형성하고 있다(6개의 synapomorphic change와, 53% bootstrap, 58% jackknife 지지도). 염기변이에 기초하여 얻어진 neighbor-joining tree(NJ) 분석(Saitou and Nei, 1987; Farris *et al.*, 1996) 결과에 있어서도 최대절약계통수 분석과 같은 분계조를 형성하였다(Fig. 2).

고 찰

붓꽃속의 계통학적 위치: ITS 계통수는 한국산의 붓꽃속의 분류체계, 유연관계 및 진화경향을 파악하는데 도움이 되었다. 한국산 붓꽃속은 외부형태학적으로 Rodionenko (1961), Sim(1988), 및 Zhao(1992)의 견해에 따르면, 외화피편에 부속물이 없고, 화경은 수회 둘로 분지하며, 종자에 가종피가 있는 *Pardanthopsis*아속, 외화피편에 부속물이 있는 *Crossiris*아속, 외화피편에 부속물이 없고 종자에 가종피가 없는 *Limniris*아속 등의 3아속으로 나누어진다고 하였으며, Waddick(1992)의 견해에 따르면 *Limniris*아속으로 세분되어 진다. 한국의 대청도 및 백령도에 분포하고, 화서가 산형상취산화서이며, 화경은 2-3회 분지하고, 꽃이 진 후, 화피편은 나선으로 비틀어지며, 종자는 장타원형으로 가운데가 오목하며, 양 끝에 날개모양의 가종피를 갖는 대청부채는 학자에 따라 독립된 속(*Pardanthopsis*)으로(Lenz, 1972, Mathew, 1981) 또는 붓꽃속의 아속(*Padanthosopsis*)으로 해야 한다고 주장(Rodionenko, 1961; Sim, 1988; Zhao, 1992; Waddick, 1992)하는 등 의견이 분분한데, 본 ITS의 연구결과, 대청부채는 외화피편과 내화피편의 형태의 차이와 화주 분지는 편평한 화판상이며, 수술은 덮는 특징을 가지고 있는 붓꽃속의 분계조와 같이 묶이지 않고 기부쪽에 위치하고 있는 범부채속과 같이 분계조를 형성하므로 기존의 학자들이 제시한 붓꽃속의 아속과, 새로운 속으로의 분류체계중 어느것도 강하게 지지 될

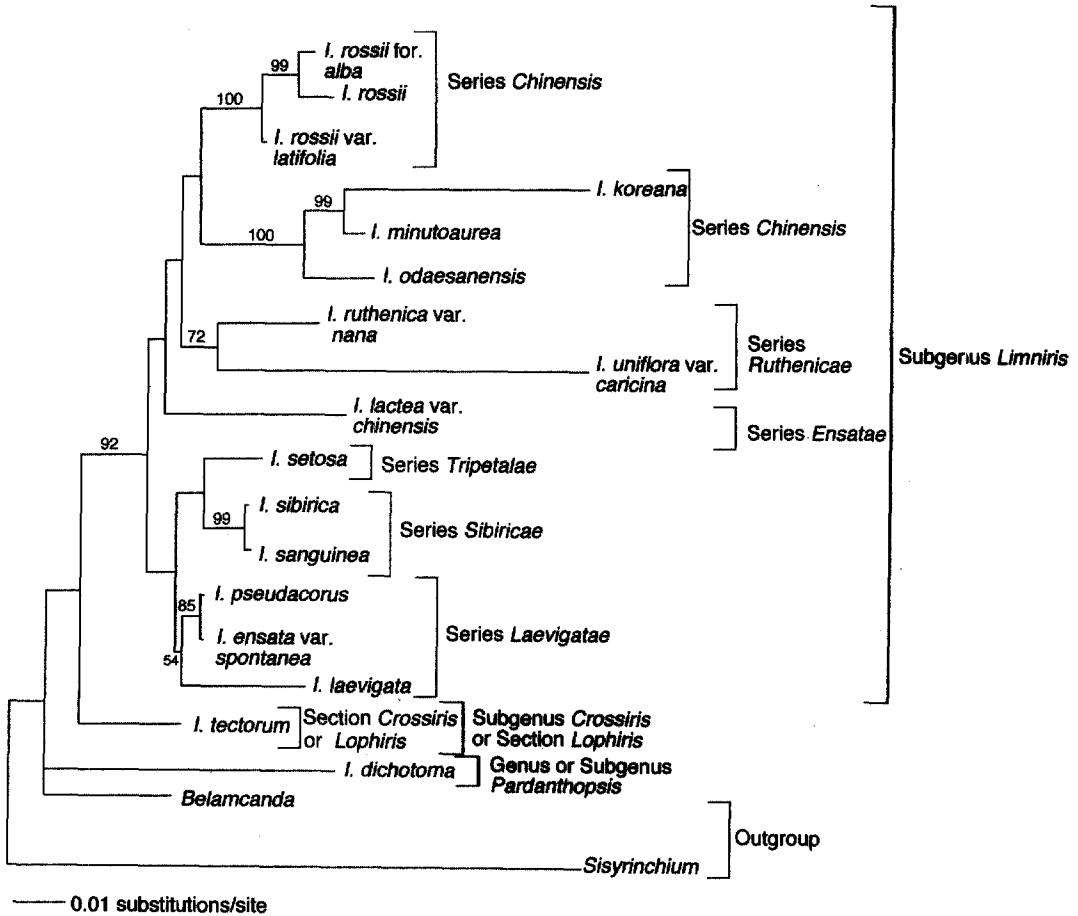


Fig. 2. Neighbour-Joining(NJ) tree. The bootstrap values are found above branches.

수 없는 자료를 나타낸다. 또한 외화피에 털이 없고, 닭벼슬모양의 돌기물이 있는 연미붓꽃 (*I. tectorum*)에 대하여 Rodionenko(1961), Sim(1988) 및 Zhao(1992)는 *Crossiris*아속의 *Crossiris*절로 분류계급을 설정하는가 하면, Waddick(1992)은 *Limniris*아속의 *Lophiris*절로 하는 등 분류체계에 혼돈이 있어왔는데, 본 연구의 결과 아속이나 또는 절의 한계성의 불명확성으로 인하여 ITS의 자료에서는 대청부채와 연미붓꽃에 대한 분류계급의 설정은 차후로 하고, 이를 해결하기 위해서는 부가적인 분류군과 더불어 또 다른 유용한 표식인자를 이용하는게 타당하다고 사료된다.

*Limniris*아속은 절, 아절, 그리고 계열로 구분되거나(Rodionenko, 1961; Sim, 1988; Waddick, 1992) 절로 나누어지기도 한다(Zhao, 1992) (Table. 1). 즉, Rodionenko(1961)와 Sim(1988)은 붓꽃아속을 2절 (*Limniris*, *Ioniris*), 2아절 (*Apogon*, *Ensatae*),

6계열 (*Sibiricae*, *Laevigatae*, *Chinensis*, *Tripetalae*, *Ensatae*, *Ruthenicae*)로 세분하였으며, Zhao(1992)는 2절 (*Limniris*, *Ioniris*), Waddick(1992)은 1절 (*Limniris*)로 구분하였는데, 본 *Limniris*아속의 ITS의 염기서열에 근거한 계통수는 크게 7개의 분계조(Fig. 1)를 형성하여, Waddick(1992)의 견해에 더 가까운 것으로 나타났다. 즉, *Sibiricae*계열에 속하는 시베리아붓꽃과 붓꽃이 하나의 분계조를 형성하고 있으며, *Laevigatae*계열에 속하는 노랑꽃창포, 꽃창포, 제비붓꽃이 분계조를 이루고 있다. *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열과 자매군을 형성하고 있으며, *Ruthenicae*계열에 속하는 솔붓꽃과 난쟁이붓꽃이 분계조를 이루면서 *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃과 자매군을 이루고 있다. *Limniris*아절의 기저부에는 *Chinensis*계열에 속하는 각시붓꽃, 흰각시붓꽃, 넓은잎각시붓꽃은 하나의 분계조를, 금붓꽃, 노랑붓꽃, 노랑무늬붓꽃은 별개의 분계조를 형성하고 있어, *Chinensis*계열은 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 양분되어야 한다고 주장한 Sim(1988)의 견해가 타당함을 보여주었다. 따라서 *Limniris*아속에서 ITS의 계통도는 절과 절이하의 분류체계를 언급한 Rodionenko(1961)와 Sim(1988)의 견해와 어느 정도 일치함을 보여주고 있으나, 전체적으로 보아서는 2절과 6계열로 구분한 Waddick(1992)의 견해가 더 타당한 것으로 보여진다.

유연관계 및 진화경향성 : Hutchinson(1959)과 Goldblatt(1971)는 붓꽃과의 진화경향성에 대하여 화피편이 떨어져 있어 화피통을 형성하지 않은 등심붓꽃속에서 화피통이 극히 짧은 범부채속을 거쳐 화피통이 비교적 긴 붓꽃속으로 분화해 간다고 하였으며, 내화피편은 거의 동형인 등심붓꽃속과 범부채속에서 이형인 붓꽃속으로, 또한 화사가 부분적으로 이생하고 있는 등심붓꽃속과 범부채속에서 완전히 이생하고 있는 붓꽃속으로의 분화경향성을 추정할 수가 있는데, 본 연구의 분자계통학적 자료도 이를 강하게 뒷받침해 주고 있다. 또한 붓꽃속의 외부형태는 외화피편과 내화피편의 형태의 차이는 다양하고 특히, 외화피편의 중앙에서 하부로 부속물 돌기가 없고, 화경은 규칙적으로 수회 돌로 분지하는 대청부채아속에서 외화피편의 중앙부에 부속물인 계관상 돌기가 있는 연미붓꽃으로 분화한 다음, 다시 외화피편의 중앙부에 부속물이 없고 화경은 분지하지 않거나 분지할 경우 짧은 분지를 내거나 2-3개의 가지를 내는 붓꽃아속으로 진화한다고 추정되는데 (Rodionenko, 1962), 이러한 외부 형태의 결과와 본 ITS 분석 결과와도 일치된다.

일부 분류학적으로 문제가 되고 있는 금붓꽃, 노랑무늬붓꽃, 노랑붓꽃에 계열에 대해서, 노랑무늬붓꽃이 노랑붓꽃의 변종(Lee, 1984) 또는 품종(Lee and Lee, 1964)으로 계급설정을 하였는데, 본 연구결과 노랑무늬붓꽃은 금붓꽃-노랑붓꽃자매군을 형성하고 있고, 독립파생형질 16개를 가지고 있어 독립된 종으로의 분류체계를 지지하는 것으로 나타나 Lee(1996)와 Sim(1988)의 견해가 타당하다고 사료된다. *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열(시베리아붓꽃, 붓꽃)과 매우 가까운 유연관계를 형성하고 있으며, *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃은 *Ruthenicae*계열에 속하는 솔붓꽃, 난쟁이붓꽃과 가까운

유연관계를 나타내고 있다.

이상의 ITS의 결과로서 한국산 붓꽃속의 분류체계는 Rodionenko(1961), Sim(1988), 및 Zhao(1992)가 주장하고 있는 3아속, Waddick(1992)의 2속, 1아속의 분류체계중 어느 것도 지지하지 않는 결과를 나타내어 분류체계의 설정문제는 앞으로의 과제로 남겨두고자 한다. 한편, 붓꽃아속의 *Limniris*절은 2개의 분계조로 세분되는 계열을 포함하여, 7개의 분계조를 형성하고 있어 Waddick(1992)이 설정한 6계열로 구분하는게 타당하다고 사료된다. 대청부채에서 연미붓꽃 그리고 붓꽃아속으로의 진화경향성을 추정할 수 있으며, *Chinensis*계열은 금붓꽃계열과 각시붓꽃계열로 분리되어야 한다고 사료된다. 또한 *Tripetalae*계열에 속하는 부채붓꽃은 *Sibiricae*계열과 매우 가까운 유연관계를 형성하고 있으며, *Ensatae*계열에 속하는 타래붓꽃은 *Ruthenicae*계열과 가까운 유연관계를 나타내고 있다. 그러나 붓꽃속은 약 200여종이나 되는 큰 분류군으로 전체적인 분류체계를 수립하지 못한 점은 향후 과제로 남겨 두고자 한다. ITS 염기서열을 기초로 한 한국산 붓꽃속의 계통학적 연구는 형태학적 결과와 비슷한 결과를 제시하였고, 많은 학자들에 의해 논란이 된 분류군들의 문제를 해결하는데 유용한 접근방법이라 생각되나, 대청부채와 연미붓꽃의 분류체계를 확립하기 위한 자료로는 불충분하며, 이 문제를 해결하기 위해서는 부가적인 분류군 및 ITS와 같은 다른 유용한 maker를 이용하여 전체 붓꽃속 수준에서의 계통을 논한다면 분류체계, 유연관계 및 진화경향성을 규명하는데 유용할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구의 실험에 도움을 주신 영남대학교 김기중 교수님과 본 원고에 좋은 지적을 해주신 익명의 두분 심사위원님께 감사를 드립니다. 본 논문은 과기부 21세기 프론티어연구 개발사업/자생식물이용기술사업의 한반도 종합식물지 발간사업(과제번호 PF001302-00)에 의해 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- Baker, J. G. 1892. Handbook of the Iridaceae. George Bell and Sons. London. 1-47
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the compositae. *Mol. Phyl. Evol.* 1:3-16.
- Doyle, J. J. and J. A. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19:11-15.

- Farris, J. S. Albert, V. A., Kallersjo, M. Lipscomb, D. and A. G. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* 12:99-124.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Gibson, T. D. Higgins and J. Thompson. 1994. Clustal X program. EMBL, Heidelberg, Germany.
- Goldblatt, P. 1971. Cytological and morphological studies in Southern African Iridaceae. *Jour. South Africa Bot.* 37:317-460.
- Hutchinson, J. 1959. The Families of Flowering Plants. vol. II. Monocotyledones. Clarendon Press, Oxford.
- Kim, K. J. and R. K. Jansen. 1994. Comparison of phylogenetic hypotheses among different data sets in dwarf dandelion (*Krigia*, Asteraceae): additional information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 190:157-185.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparable studies of nucleotide sequences. *J. Molec. Evol.* 16:111-120.
- Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of vascular plants. Macmillan Publishing Co., New York
- Lee, T. B. 1984. Outline of Korean endemic plants and their distribution. *Kor. Univ. Jour. Pl. Tax.* 14:21-32.
- Lee, W. T. and W. H. Lee. 1964. Report on study of a new forma of Iridaceae plants. *Seoul Agricultural College*:1-4.
- Lee, Y. N. 1996. Flora of Korea. Kyohak Pub. Co. Seoul. Pp. 951-956.
- Lenz, L. W. 1972. The status of *Pardanthopsis* (Iridaceae). *Aliso* 7:401-403.
- Linnaeus, C. 1753. *Species Plantarum*. Vol. 1. Ed. 1. Holmiae (Stockholm).
- Lookermam D. J. and R. K. Jansen. 1996. The use of herbarium material for DNA studies. Columbia University Press, New York, NY, Pp. 205-220.
- Mathew, B. 1981. *The Iris*. B T Batsford LTD, London.
- Rodionenko, G. I. 1961. The genus *Iris*. Academy of Science USSR, Moscow.
- Rodionenko, G. I. 1962. An outline of a new and evolutionary botanical classification of *Iris*. *The Iris year book*.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Sim, J. K. 1988. A taxonomic study on Iridaceae in Korea. Ph. D. dissertation, Korea Univ. Seoul.

- Swofford, D. L. 1998. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) ver. 4.0b2. Academic Press, Sunderland, MA.
- Waddick, J. W. 1992. Chinese *Iris* in the Wild and in the Garden. Timber Press, Portland Oregon.
- Zhao, Y. T. 1992. The *Iris* of China. Timber Press, Portland, Oregon.

Appendix. Aligned ITS sequences from 17 taxa of genus *Iris* and outgroup. The bar (-) indicated gaps. The ITS start from thr character of 1 and end at the position 732. Abbreviation of the taxon names are given on table 1.

```

1111111111222222222333333333344444444455555555566666666677777777
Taxon/Char 123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
-----
Sysyrinc TCGAACACCGAAAAATCGGACCAACGCGAACCTGT-AACC---CT-AACGCCCGCTCTCGGGCGGGGCAACCCCCC
Belmcand TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA---CTCGTGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.pardan TCGATAACCGAACCATAGGACG-ACCGAGAACGTGTATCA---CT--ATGCCCGCCTCGCACGGTGCACCTCC--
I.tector TCGATAACCGAACGATCGGACG-ACCGAGAACGTGTCAACAGAATCTGAAGCCCCGCCCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.ro.for TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ACCGCTAACTTGTAACA----CGCCGTCCCGCCTTGGGCGGGGCAACCCCC--
I.rossii TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ACCGCTAACTTGTAACA----CGCCGTCCCGCCTTGGGCGGGGCAACCCCC--
I.ro.var TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ACCGCGAACCTTGTAACA----CGCCGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.setosa TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA----CTCTGCACCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.ru.var TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA----CGACGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCC-TA
I.un.var TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA----CGACGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCATA
I.sibiri TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA---CTCTCCGTCCCGCCTCGGGCGGGGCGCCCCC--
I.sangui TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA---CTCTCCGTCCCGCCTCGGGCGGGGCGCCCCC--
I.pseudo TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA---CTCCGTGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.laevig TCGAGAACCGAACCAACCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACACTTCT-CGTGTCCCGCCCCCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.en.var TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ATCGCGAACGTGTCAACA---CTCCGTGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.la.var TCGAGAACCGAACCAACCGGACG-ACCGCGAACGTGTCAACA----CGCAGTCCCGCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--
I.korean TCGAGAACCGAAC-ACCGGACG-ACCGCGAACCTGTCAACA----CGCCGCCCGCCCTCGGGCGGGGCAACCCC--
I.minuto TCGAGAACCGAAC-ACCGGACG-ACCGCGAACCTGTCAACA----CGCCGCCCGCCCTCGGGCGGGGCAACCCC--
I.odaesa TCGAGAACCGAACCATCGGACG-ACCGCGAACTTGTAACA----CGCCGCCCGCCCTCGGGCGGGGCAACCCCC--

```

Input data matrix (continued):

```

11111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111
78888888889999999990000000001111111112222222223333333344444444455555555
Taxon/char 90123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
-----
Sysyrinc --TGCGGAA-GGACGGCCCTCGGTCGGTC---TCCC--GCAGG-----AACAAAACCCCGCGGGTGGGCGC
Belmcand -GTGCGGCC-CGCCGGCCCC-GGAC-ATGTAC-----GGTG-----CCGGCGGGGGG-CAT
I.pardan -GTGAGGCC-CGCCGGCCCC-GGACACTGCACCGTCCC--TGCAGCGGAC-GTGCCAGG-CCGACACGGCAG-CAT
I.tector -ATGCGGCT-CGACGGCCTC-GGACACGCACCGCCCC--GGCGGTGTGC-GTGCCCGGG-CCGCGCGGCGG-CAT
I.ro.for -GTGCGGCC-CGTGGCCCC-GGACGT---CGCACC---GGTGCGCC-----CGGG-CCGAGGGCGGAGGCAT
I.rossii -GTGCGGCC-CGTGGCCCC-GGACGT---CGCACC---GGTGCGCC-----CGGG-CCGAGGGCGGAGGCAT
I.ro.var -GTGCGGCC-CGTGGCCCC-GGACGT---CGCACC---GGTGCGCC-----CGGG-CCGCGCGGCGGGGAT
I.setosa -GTGCGGGCCGCCGGCCCC-GGACGG---CGCACC---GGTGCCTCG-ATATCCGCGCGCGGCGGCGG-CAC
I.ru.var AATGCGGCC-CGCGGCAAC-GGACGT---CGCACCTC--GGTGCGCC-----TCCGCGTGGGCGGGGCGG-CAT
I.un.var AATGCGGCC-CCGCGGCAAC-GGACGT---AGCACCTT--GGTGCGCC-----TCCGCGTGGGCGGGGCGG-CAT
I.sibiri -GTGCGGCC-CGTGGCCCC-GGACGACGGCGCACCCC--GGTGCCTCG-ATATCCGTTGCCGCGGGCGG-CAC
I.sangui -GTGCGGCC-CGTGGCCCC-GGACGACGGCGCACCCC--GGTGCCTCG-ATATCCGTTGCCGCGGGCGG-CAC
I.pseudo -GTGCGGCC-CGCCGGCCCC-GGAC-ATGT-----CCGGTGCGCCCGGCGGGGCGG-CAT

```



```

l.la.var    C--GAAC--GCGACGCAACAT-----GGCCCCGAGCTAGGGACCCCC--TACCGGAAGGG-AGGG--AGCGC-----
l.korean   C--GGAC--CCGACAAACAAAAA--GGGCCCGACCCAGGAACCTCG--ACCCGGAAGGG-GGGC-ACGC-----
l.minuto    C--GAAC--GCGACAAACAGAA--GGGCCCGAGCCAGGAACCTCG--TACCGGAAGGG-GGCGC-ACGC-----
l.odaesa    C--GAAC--GCGACAAACAACA-----GGCCCCGGGACAGGAACCCAC--TACCGGAAGGG-GGCGC-AC-----

```

Input data matrix (continued):

```

              /oooooooooooooooooooooooooooo
              00000001111111112222222222333
Taxon/Node   345678901234567890123456789012
-----
Sysyrin      -----TGCCTC---TC---TATCGGAAC
Belmcand     -CGGGAGTGCCTC-----CCCGATCGGAAC
l.pardan     GTGGGGATGCCTC-----TCCGATCGGAAC
l.tector     -----TGCCTGCTTCCTCCTATCGGAAC
l.ro.for     ACACG-TGCCTC---T---CCTATCGGAAC
l.rossi      ACACG-TGCCTC---T---CCTATCGGAAC
l.ro.var     ACACG-TGCCTC---T---CCTATCGGAAC
l.setosa     -----TGCCTC-GCCTC-CCTATCGGAAC
l.ru.var     -----TGCCTGCTTCCTC-CCTATCGGAAC
l.un.var     ACGGGTGCCTC-TCCCT-TCTATCGGAAC
l.sibiri     ACACG-TGCCTC-GCCTC-CCTATCGGAAC
l.sangui     ACACG-TGCCTC-GCCTC-CCTATCGGAAC
l.pseudo     ACACG-TGCCTC-GCCTC-CCCATCGGAAC
l.laevig     ACGGG-TGCCTC-GCCTC-CCCATCGGAAC
l.en.var     ACACG-TGCCTC-GCCTC-CCCATCGGAAC
l.la.var     ACACG-TGCCTC-GCCTC-CCGTTTCGGAAC
l.korean     --AAG-CGCTC-TCCG-TCCATCGGAAC
l.minuto     --AAG-CGCTC-TCCG-TCCATCGGAAC
l.odaesa     -----GCGC-TCCCT-TCCATCGGAAC

```

Phylogenetic study of Korean *Iris* (Iridaceae) based on nrDNA ITS sequences

Sim, Jeong-Ki¹ · Hong-Duok Park² and Seon-Joo Park*

(¹Dept. Biology, Mokwoon Univ., ²Dept. Biology, Catholic Univ. of Daegu.

*Institute of Biotechnology, Yeoungnam Univ.)

Sequences of ITS of nuclear ribosomal DNA were compared for 19 taxa of Korean *Iris* including subgenera *Sisyrinchium* and *Belamcanda* were compared. In the phylogenetic analyses using parsimony and neighbour-joining methods including bootstrapping and jackknifing analyses, Korean *Iris* was divided into three subgenera (*Limniris*, *Crossiris*, *Pardanthopsis*), or two genera (*Limniris*, *Pardanthopsis*) and one subgenus (*Limniris*). The molecular data agree with the previous classification system that recognized two sections and six series for the subgenus *Limniris* because the subgenus comprised seven clade in the ITS trees. According to molecular data, series *Chinense* should be divided into two groups, and the *minutoaurea* group composed of *I. koreana*, *I. odaesanensis*, and *I. minutoaurea*, and the *rossii* group comprising appears *I. rossii*, *I. rossii* var. *alba*, and *I. rossii* var. *latifolia*. Series *Tripetalae* to be closely allied with series *Sibiricae*, and series *Ensatae* is placed as a sister group to series *Ruthenicae*. The molecular phylogeny based on ITS sequences mostly agreed with ones proposed by previous authors on the basis of morphological data, suggesting the phylogenetic analysis of ITS sequences should be very useful to address phylogenetic questions on the genus *Iris*.

Key words: *Iris*, rNDA, ITS, Phylogeny

*Corresponding author : Phone : +82-53-810-2987, Fax : 82-53-816-0126,
e-mail : sjpark01@yu.ac.kr