

한국산 팽이밥속(*Oxalis*) 식물 ITS DNA 염기서열 분석

구자춘 · 채미숙 · 이종기 · 황성수*

전북대학교 과학교육학부

본 연구는 한국산 팽이밥 4분류군과 도입종 1분류군의 9개체를 대상으로 핵 리보솜 DNA인 5.8S, ITS1 그리고 ITS2 지역 염기서열의 분류학적 특징을 알아보기 위해 수행되었다. 군외군으로 GenBank에 축적되어 있는 16분류군의 동일지역 염기서열도 같이 정렬하여 사용하였다. 정렬된 ITS 구간의 염기서열 길이는 679 bp 이었다. 분류군 별 유사도 및 염기서열 분기와 계통학적 및 통계학적인 분석 등의 결과는 염기서열 특징이 본 속의 분류에 유용한 것으로 나타났다. 유경종간 및 무경종간에 염기서열 유사도는 95%와 89%로 높게 나타나는 반면, 유경종과 무경종 사이는 64~69%로 비교적 낮게 나타난다. 염기서열 분기에서도 유경종과 무경종간에는 0.36~0.42로 높게 나타나며, 유경종과 유경종 또는 무경종과 무경종간에는 0.04~0.06으로 낮게 나타났다. 계통학적으로 유경종과 무경종 집단은 병계원으로 나타났으며, 두 집단은 각각 신빙성이 높은 단일 계통군을 형성한다. 정렬된 염기서열은 통계학적으로 유의성이 있으며, Duncan 사후검정에서 자주팽이밥은 한국산 분류군들에서 분리되었다.

주요어: 팽이밥속, ITS 염기서열, 분산분석, 계통분류

서 론

팽이밥속(*Oxalis*)은 구근성의 일년 또는 다년초로, 남반구와 북반구의 열대 및 온대지역에 널리 분포하고, 남미와 남아프리카에서 종 다양성이 높다. 본 속은 팽이밥과(Oxalidaceae)내 6~7속 중 가장 큰 분류군으로 전 세계적으로 850여 종이 있다(Lourteig, 2000). Linnaeus (1753)가 본 속을 설정하였으며, Knuth(1930)는 몇몇 영양형질에 근거하여 본 속을 38절로 분류하면서 모노그래프를 정립하였으나 다분히 인위적 이었다(Macbride, 1943; Salter, 1944; Br ücher, 1969; Denton, 1973). Knuth의 연구 이후에 여러 연구자들에 의해 일부지역에 분포하는 분류군을 대상으로 혹은 속내 몇몇 절에 속하는 분류군을 대상으로 다수의 연구가 시도

*교신저자: 전화 063-270-4340, 전송 063-270-2781, whang@chonbuk.ac.kr

접수: 2007년 10월 4일/완료2007년 12월 4일

되었다(Lourteig, 1988; Emshwiller and Doyle, 1998; De Azkue, 2000; Emshwiller, 2002). 최근에 Lourteig(2000)가 본 속에 대한 종합적인 연구를 하면서 새로운 학명을 설정하거나 이명을 정리하는 등 그 동안에 있었던 분류학적 혼란을 많이 줄였지만 여전히 종의 한계설정이 모호하고 분류학적 문제가 많이 남아있다(Emshwiller, 2002). 본 속 식물은 생육지가 다양하고 습성도 다양하여 개체 및 집단간 변이가 크게 나타나서 분류학적으로 어려운 분류군이다.

한편, 본 속은 주변에서 흔히 발견되는 친숙한 식물로, 오래 전부터 식용이나 한약 재료로 사용되고 있으며(Emshwiller and Doyle, 1998, 2002), 꽃과 잎이 관상 및 원예용으로 가치가 있어 여러 종류가 상업적으로 이용되고 있다(Berg, 2000; Emshwiller, 2002). 또한 본 속 식물은 진정폐쇄화를 생성하는 식물이다(Berg and Redbo-Torstensson, 1998). 봄에는 타가수정을 통해 유전적 다양성을 유도하는 열개화를 생성하고, 여름과 가을에는 자가수정을 통해 다수의 종자를 효율적으로 생산하는 폐쇄화를 맺는 진화 전략을 갖고 있어 오래전부터 연구자들의 관심의 대상이 되어왔다(e.g. Darwin, 1877; Lord, 1981; Berg, 2000).

본 속 식물에 대한 국내 연구는 주로 식물도감에 기재한 내용이다. Chung(1957)이 *O. acetosella* L.(애기팽이밥), *O. obtriangulata* Maxim.(= *O. japonica* Fr. and Sav. var. *obtriangulata* Makino, 큰팽이밥), *O. corniculata* L.(팽이밥) 그리고 *O. corniculata* f. *erecta* Makino(선팽이밥) 등 4분류군을 기재하였다. Park(1974)은 *O. acetosella* L.(산팽이밥), *O. obtriangulata* Maxim.(큰팽이밥), *O. corniculata* L.(팽이밥) 그리고 *O. fontana* Bunge(왕팽이밥) 등 4분류군을, Lee(1980a, b)는 *O. acetosella* L.(애기팽이밥), *O. obtriangulata* Maxim.(큰팽이밥) 그리고 *O. corniculata* L.(팽이밥) 등 3분류군을 각각 기재하였다. Chung(1957)은 선팽이밥의 줄기가 곧게 서서 자라는 특징을 갖는다고 기록하였으며, Park(1974)은 왕팽이밥의 꽃자루가 곧게 선다고 기재하여 둘은 서로 동일 식물일 가능성이 크다. 한편, Park(1995)은 귀화식물로서 *O. articulata* Sav.(덩이팽이밥)과 *O. corymbosa* DC.(자주팽이밥)을 보고한 바 있다.

본 속 식물처럼 다양한 생태계에서 적응하여 생육하는 분류군은 형태적 변이 폭이 크기 때문에 분류에 어려움이 있다. 그러나 분류군간 핵산의 직접적인 비교는 생태계의 다양성에 따른 영향을 받지 않기 때문에 종의 특징과 계통학적 유연관계를 논의하는데 보다 효율적이고 신빙성도 있다(e.g. Woese, 1987; Jansen and Palmer, 1988; Chase *et al.*, 1993; Liston *et al.*, 1996; Sytsma and Hahn, 1986, 1996). 특히, 식물체의 핵 rDNA ITS 유전자들은 진화 속도가 빠르게 나타나기 때문에 주로 하위 범주 분류군의 계통학적 연구에 유용하고(Apples and Honeycutt, 1986; Kim and Jansen, 1994), 본 속의 분류군에도 사용된 바 있다(Tosto and Hopp, 1996).

이에 본 연구는 봄에 한 차례의 열개화를 생성하여 유전적 다양성을 유도하고 여름과 가을에는 계속해서 폐쇄화를 생성하여 개체군의 확산을 도모하는 한국산 팽이밥속 분류군들을 대상으로 핵 rDNA ITS 염기서열을 비교 분석해서 분류군간 계통학적 위치를 파악하고자 한다.

Table 1. *Oxalis* samples used for determining of ITS sequences

Taxa		Voucher	GenBank acc.
<i>O. corniculata</i> 1	괘이밥1	whang30759 (CNU)	EU274617
<i>O. corniculata</i> 2	괘이밥2	whang30758 (CNU)	EU274618
<i>O. corniculata</i> 3	괘이밥3	whang30690 (CNU)	EU274619
<i>O. fontana</i> 1	선괘이밥1	whang30551 (CNU)	EU274620
<i>O. fontana</i> 2	선괘이밥2	whang30760 (CNU)	EU274621
<i>O. fontana</i> 3	선괘이밥3	whang30761 (CNU)	EU274622
<i>O. acetosella</i>	애기괘이밥	whang30552 (CNU)	DQ151554
<i>O. obtriangulata</i>	큰괘이밥	140(JNU)	DQ151555
<i>O. corymbosa</i>	자주괘이밥	whang30739 (CNU)	EU274616

재 료 및 방 법

재료: 본 연구에 사용된 괘이밥속(*Oxalis*) 식물 재료는 내장산, 적상산, 지리산, 광릉수목원 그리고 제주도 등 국내 자생지에서 채집하여 사용하였다. 채집된 재료의 일부는 증거표본을 만들어 형태적 특징조사에 사용하였고, 일부는 실험실에 이식하여 ITS 염기서열 분석을 위해 사용하였다(Table 1; GenBank accession: EU274616~EU274622, DQ151554~DQ151555).

DNA 추출, PCR, 염기서열 결정: Doyle와 Doyle(1990)의 방법을 따라 전체 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA의 농도는 Biotech Photometer(Biochrom Ltd, WPA UV1101T, Cambridge, UK)를 사용하여 계산하였다. DNA를 5 ng/ μ l의 농도로 희석한 뒤 universal primer(White *et al.*, 1990)를 사용하여 94°C에서 1분, 52°C에서 30초, 72°C에서 1분을 1회전으로 하여 모두 30회전을 돌려 ITS 지역을 PCR(polymerase chain reaction, Applied Biosystems, PCR system 2700, Singapore) 하였다. ITS 증폭여부를 확인하기 위해 1% agarose gel을 사용하여 전기영동한 뒤 ethidium bromide로 염색하고 UV trans-illuminator (Vilber Lourmat, TFX-20M, Cedex, France)를 사용하여 관찰하였다. PCR 산물은 QIA-quick PCR purification kit(Qiagen Inc., Chatsworth, California, USA)를 사용하여 정제하였다. 염기서열은 ABI Prism 377A automated DNA sequencer(Perkin-Elmer Corp., Foster City, California, USA)을 사용하여 결정되었다.

염기서열 정렬, PAUP: 염기서열 정렬은 Clustal X(Gibson *et al.*, 1994)를 인용하여 기계적으로 1차 정렬한 뒤, 최종 심세한 정렬은 MacClade(3.05 version) 프로그램을 이용하여 수작업으로 정렬하였다. 염기서열은 한국산 괘이밥속 4분류군 8개체와 도입종인 1분류군의

ITS1, 5.8S 그리고 ITS2 지역을 정렬하였다. 또한 균외균으로 현재까지 GenBank에 등록된 본 속내 분류군 즉, *O. distincta*(U74266), *O. flagellat*(U74268), *O. herrerae*(U74269), *O. mollissim*(U74272), *O. ortgiesii*(U74273), *O. pachyrrhi*(U74275), *O. peduncula*(U74277), *O. rusbyi*(U74281), *O. spiralis*(U74283), *O. tuberosa*(U74284), *O. unduavens*(U74260), *O. villosula*(Z66547), *O. yungasens*(U74286) 등과 팽이밥과내 다른 속인 *Caldcluvia panic*(DQ499068), *Peripentadenia*(DQ448678), *Peripentadeniam*(DQ448679) 등의 동일지역 염기서열을 정렬하였다. 정렬된 염기서열을 사용하여 계통학적 연구를 수행하기 위해 PAUP (4.02 version; Swofford, 1998) 프로그램을 사용하였다. 전체 개체 간의 염기서열 분기는 Kimura(1980)의 2 parameter 방법으로 조사하였다. 계통학적 분석을 위해서는 최소가정의 분석을 적용하였다. 분석방법으로는 발견적 조사(heuristic search)로 완전일치분계도를 얻었으며, 각 분계조의 지지도는 1000번의 부트스트랩(Felsenstain, 1985)에 의해 측정되었다. PAUP 사용할 때 모든 핵산 형질은 비가중방법을 사용하였고, 비상동에 의한 핵산 침묵으로 생성된 간격은 소실 처리하였다.

분산분석과 Duncan: 정렬된 염기서열은 통계학적으로 분류군 간에 유의성이 있는지를 확인하기 위해 SPSS(12.0 version) 프로그램을 사용하여 분산분석 하였다. 분산분석을 위한 형질 부호화의 방법은 정렬된 염기서열에서 동일 위치의 모든 분류군에 변이가 없을 경우는 모두 0을 부여했고, 변이가 있을 경우에는 아라비아숫자 순으로 동일 위치에 가장 많이 나타나는 염기의 값을 0으로 두 번째로 많이 나타나는 염기의 값을 1로 세 번째로 많이 나타나는 염기의 값을 2 등의 순서로 각각 부여하였다. 분산분석 결과 조사된 분류군 간에 통계학적으로 차이가 있다면 어느 분류군이 차이 있는지 확인하고자 Duncan의 다중 범위검증법(post-hoc comparison)을 수행하였다. 염기서열의 유사도 측정은 VectorNTI (<http://www.invitrogen.com/vectorNTICommunity>) 프로그램을 사용하였다. 통계학적 유의 수준은 확률 0.05를 사용하였다.

결 과 및 고 찰

ITS 염기서열의 특징: 한국산 팽이밥속 4분류군 8개체 및 도입종 1분류군의 핵 rDNA의 비부호화 지역(non-coding region)인 ITS1과 ITS2 그리고 부호화 지역(coding region)인 5.8S의 염기서열을 결정하고 정렬하였다(GenBank : EU274616-EU274622, DQ151554-DQ151555). 또한 균외균으로 GenBank에 등재된 본 속내 13분류군과 속이 다른 3종류의 동일 지역 염기서열도 같이 정렬하였다. 그 결과 상기 지역의 염기서열 길이는 약 679 bp로 현재까지 보고된 본 속을 포함한 현화식물의 ITS 염기서열 길이 범주에 포함되는 것으로 나타났다(Baldwin, 1992; Möller and Cronk, 1997; Emshwiller and Doyle, 1998), ITS1의 길이가 ITS2 보다 작게 나타났다(Downie *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 2003). 상기 지역의 ITS DNA

Table 2. Sequence divergence value among 25 accessions by Kimura's two parameter method using 25 taxa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1 <i>Oxalis corymbosa</i>	-																								
2 <i>Callitavia panic</i>	0.3940	-																							
3 <i>Peripentadenia</i>	0.3686	0.1803	-																						
4 <i>Peripentadenia m</i>	0.3661	0.1697	0.0236	-																					
5 <i>O. fontana3</i>	0.3727	0.2998	0.2883	0.2747	-																				
6 <i>O. fontana1</i>	0.3718	0.2913	0.2784	0.2672	0.0888	-																			
7 <i>O. fontana2</i>	0.3699	0.2917	0.2786	0.2675	0.0416	0.0016	-																		
8 <i>O. corniculata1</i>	0.3687	0.2855	0.2730	0.2619	0.0666	0.0436	0.0467	-																	
9 <i>O. corniculata2</i>	0.3661	0.2855	0.2754	0.2643	0.0667	0.0420	0.0451	0.0030	-																
10 <i>O. corniculata3</i>	0.3661	0.2855	0.2754	0.2643	0.0669	0.0420	0.0451	0.0030	0.0000	-															
11 <i>O. acetosella</i>	0.2221	0.4016	0.3864	0.3683	0.3944	0.3830	0.3791	0.3685	0.3655	0.3655	-														
12 <i>O. obtriangulata</i>	0.2431	0.4169	0.4013	0.4048	0.4067	0.3881	0.3841	0.3815	0.3761	0.3761	0.0802	-													
13 <i>O. distincta</i>	0.1942	0.3361	0.3400	0.3431	0.3680	0.3587	0.3572	0.3436	0.3387	0.3387	0.2122	0.2588	-												
14 <i>O. flagellat</i>	0.2005	0.3440	0.3511	0.3543	0.3506	0.3513	0.3561	0.3365	0.3316	0.3316	0.2193	0.2597	0.0397	-											
15 <i>O. hennae</i>	0.2116	0.3609	0.3853	0.3892	0.4083	0.3976	0.3974	0.3821	0.3762	0.3762	0.2346	0.2918	0.0036	0.0071	-										
16 <i>O. mollissim</i>	0.2091	0.3712	0.3759	0.3796	0.3361	0.3849	0.3910	0.3694	0.3637	0.3637	0.2236	0.2858	0.0018	0.0088	0.0019	-									
17 <i>O. argesii</i>	0.1939	0.3267	0.3357	0.3360	0.3409	0.3387	0.3443	0.3308	0.3260	0.3260	0.2268	0.2599	0.0384	0.0421	0.0384	0.0396	-								
18 <i>O. pachyrrh</i>	0.1856	0.3164	0.3075	0.3077	0.3286	0.3147	0.3150	0.3054	0.3007	0.3007	0.2177	0.2604	0.0568	0.0602	0.0562	0.0588	0.0547	-							
19 <i>O. pedunculata</i>	0.2067	0.3625	0.3670	0.3706	0.3996	0.3887	0.3840	0.3694	0.3637	0.3637	0.2227	0.2768	0.0063	0.0087	0.0018	0.0036	0.0401	0.0594	-						
20 <i>O. rusbyi</i>	0.2221	0.3903	0.3948	0.3988	0.4215	0.4103	0.3942	0.3881	0.3881	0.3881	0.2424	0.3019	0.0145	0.0182	0.0109	0.0127	0.0411	0.0634	0.0130	-					
21 <i>O. spiralis</i>	0.1921	0.3335	0.3373	0.3403	0.3712	0.3614	0.3594	0.3459	0.3408	0.3408	0.2095	0.2567	0.0016	0.0083	0.0019	0.0000	0.0377	0.0562	0.0036	0.0132	-				
22 <i>O. tuberosa</i>	0.1969	0.3398	0.3457	0.3468	0.3716	0.3622	0.3608	0.3470	0.3421	0.3421	0.2149	0.2626	0.0016	0.0114	0.0054	0.0036	0.0403	0.0576	0.0371	0.0163	#	-			
23 <i>O. undulans</i>	0.2187	0.3907	0.3956	0.3995	0.4214	0.4105	0.4107	0.3944	0.3884	0.3884	0.2399	0.2992	0.0017	0.0126	0.0053	0.0087	0.0447	0.0635	0.0073	0.0166	#	#	-		
24 <i>O. villosa</i>	0.1920	0.3358	0.3397	0.3428	0.3700	0.3603	0.3587	0.3448	0.3398	0.3398	0.2119	0.2582	0.0033	0.0067	0.0003	0.0018	0.0359	0.0543	0.0017	0.0112	#	#	#	-	
25 <i>O. yungensis</i>	0.2008	0.3394	0.3421	0.3454	0.3740	0.3644	0.3632	0.3490	0.3441	0.3441	0.2185	0.2670	0.0146	0.0181	0.0124	0.0142	0.0388	0.0562	0.0142	0.0017	#	#	#	#	-

염기서열 정렬에서 군외군과 군내군 모두에서 팽이밥속 개체들간 전체 유사도는 80%로 나타났다. 무경종인 애기팽이밥과 큰팽이밥의 유사도는 89%로 나타났다. 유경종인 팽이밥과 선팽이밥의 유사도는 95%로 나타나서, Chung(1957)과 Park(1974)이 팽이밥과 선팽이밥을 각각 다른 종류로 기재한 것이 타당한 것으로 판단되었다. 또한, 팽이밥내 3개체 사이는 유사도가 100%로 나타나서 개체간 변이가 없는 것으로 확인되었다. 선팽이밥의 경우 3개체 중 두 개체는 유사도가 100%에 가까웠으나, 한 개체는 다른 두 개체와 비교해서 유사도가 70%로 나타나서 해석에 어려움이 있다. 핵 rDNA는 일반적으로 동일 분류군내 계통에도 수천의 다중복사(multicopy) 염기서열이 있고, 이들 다중복사 지역 각각은 돌연변이나 유전자 재조합 같은 현상에 의해 염기서열이 심하게 변화될 수 있다. 이와 같이 변형된 염기서열은 일치된 진화(concerted evolution)에 의해 점차 보정되거나 분류학적으로 의미 있는 염기서열로 고정되어 새로운 분류군으로 진화될 수 있을 것이다. 본 연구는 상기의 가능성을 결론지을 수 없지만 잠정적으로 일단 돌연변이가 발생한 개체 또는 어떤 복사본이 일치된 진화가 일어나기 전에 조사되었을 가능성을 추정하였고, 이를 확정하기 위해서는 추후 이에 대한 상세한 연구와 자료가 필요하다. 한편, 유경종과 무경종간의 유사도는 상대적으로 낮게 나타났는데, 팽이밥과 애기팽이밥이 64%, 팽이밥과 큰팽이밥이 69%, 선팽이밥과 애기팽이밥이 65%이며, 선팽이밥과 큰팽이밥이 65%이다. 전체 염기 길이는 무경종인 애기팽이밥과 큰팽이밥이 605 bp로 작게 나타났으며, 유경종인 팽이밥과 선팽이밥은 664 bp 이었다. 염기서열 분기 값을 Kimura(1980)의 2 parameter 방법으로 계산한 결과는 선팽이밥과 큰팽이밥에서 약 0.40으로 가장 높은 분기를 보였으며, 팽이밥과 선팽이밥이 약 0.042로 가장 낮은 분기를 보여서(Table 2), 이 결과는 상기의 유사도 값의 해석과도 일치하는 경향이다. 염기서열 분기는 한국산 유경종과 무경종 간에는 0.36~0.42로 비교적 높게 나타나지만, 유경종과 유경종 또는 무경종과 무경종은 사이는 0.04~0.06으로 낮은 경향이다(Table 2; Tosto and Hopp, 1996; Emshwiller and Doyle, 1998, 2002).

계통학적 분석: 군내군 및 군외군의 ITS 692 bp를 정렬한 결과 347 bp는 변화가 없었으며 나머지 345 bp는 변이가 나타났다. 변이를 나타내는 핵산 분자 중 정보형질은 278 bp이고 나머지 67 bp는 비정보형질로 나타났다. ITS DNA 염기서열을 이용하여 PAUP 프로그램을 실행한 결과 팽이밥속 분류군의 계통수는 신빙성이 높게 나타났다. 즉 계통수의 길이는 모두 614분지이고, 일치계수는 0.7964, 보유계수는 0.9139, 조정일치계수(rescaled consistency index)는 0.7278 등으로 각각 확인되었으며, 반면에 비상동유사성지수는 0.2036으로 비교적 낮게 나타나서 전체 분지도(cladogram)는 신빙성이 있다(Farris, 1989a, b). 완전일치계통수(Fig. 1)를 구한 결과 군외군으로 설정한 *Caldcluvia*와 *Peripentadenia*가 기저 클레이드를 형성하였으며, 도입종인 자주팽이밥이 중남미 분포 종들에서 분리되어 단일 클레이드를 형성하였다. 한국산 팽이밥속 식물은 병계원(paraphyletic) 이었다. 무경종군인 큰팽이밥과 애기팽이밥이 하나의 클레이드를 이루었고, 유경종군인 팽이밥과 선팽이밥 개체들이 자매 클레이드를 형성하였다. 팽이밥내 3개체들은 하나의 말단 클레이드를 형성하여 계통학적 유연관계가 뚜렷하였다. 반면, 선팽이밥의 3개체들은 하나의 클레이드를 형성하지만 한 개체가 또 다른 말단 클

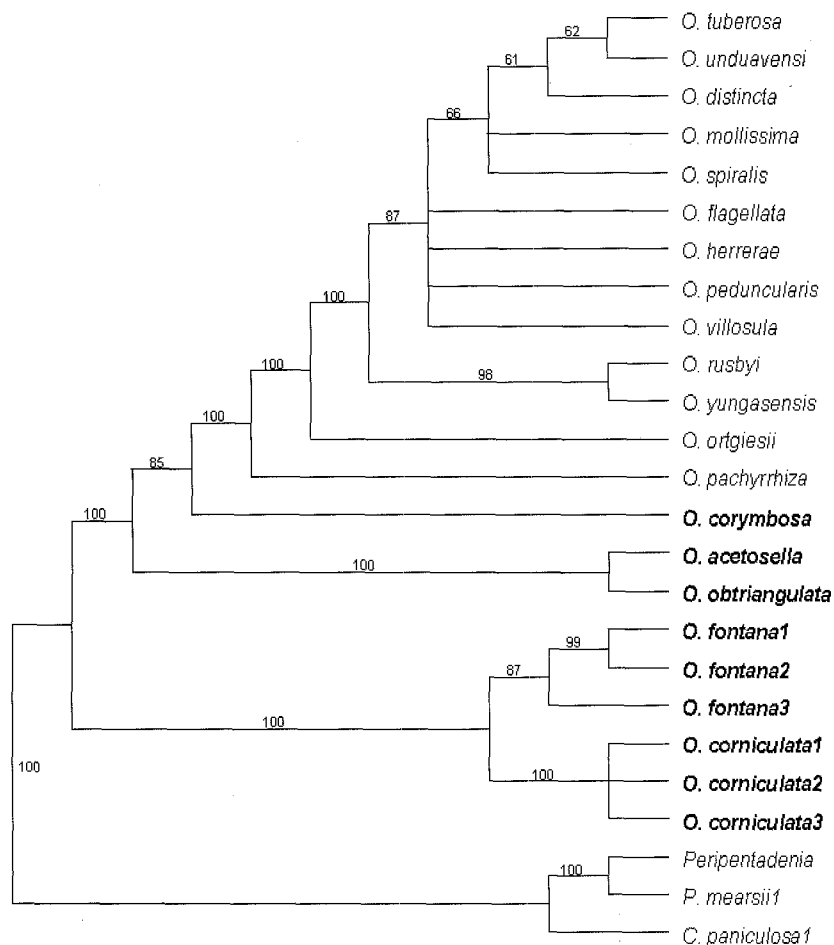


Fig. 1. Strict consensus tree based on 278 informative DNA sequence changes of 22 accessions in *Oxalis* and three outgroups. (Bold characters mean that nuclear rDNA sequences, 5.8S, ITS1 and ITS2, were firstly determined in present study. The numbers on branches are bootstrap values.)

레이드를 형성하기 때문에 다소 의심이 있으며, 추후 선괘이밥내 유전적 다양성과 계통학적 해석을 위한 세밀한 검토가 요구된다. 그 동안 선괘이밥을 Chung(1957)은 *O. corniculata* f. *erecta* Makino(선괘이밥)로, Park(1974)는 *O. fontana* Bunge(왕괘이밥)를 각각 도감과 기재문에서 사용하였으며, 이는 중국의 *O. stricta* L.와 함께 이명일 가능성이 커서, 본 연구에서는 *O. fontana*를 선괘이밥으로 사용하였다. 완전일치계통수를 1000회 반복 부트스트랩하여 얻은

Table 3. The results of the analysis of variance and multiple comparison with ITS sequences of some *Oxalis* species

Genes	Taxa	Average	Standard deviation	F	Sig.	Duncan*
**ITS1 + 5.8S + ITS2	<i>O. corymbosa</i>	.30	.664	26.691	0.0000	c
	<i>O. fontana3?</i>	.36	.544			c d
	<i>O. fontana1</i>	.34	.511			c d
	<i>O. fontana2</i>	.33	.499			c d
	<i>O. corniculata1</i>	.33	.517			c d
	<i>O. corniculata2</i>	.32	.513			c d
	<i>O. corniculata3</i>	.32	.513			c d
	<i>O. acetosella</i>	.33	.652			c d
	<i>O. obtriangulata</i>	.39	.688			d
	<i>O. ortgiesii</i>	.04	.246			a
<i>O. pachyrrhi</i>	.12	.490	b			

* The alphabet characters, a, b, c and d, are used to show the clustered group in order.

** Number of character is 679 bp.

결과는 유경종군과 무경종군 모두 100%로 나타나서 각각의 부분 계통도는 신뢰도가 매우 높게 나타났다 (Fig. 1; Felsenstein, 1985; Tosto and Hopp, 1996).

분산분석 및 다중비교: 한국산 및 도입종인 팽이밥속 5분류군 9개체와 GenBank에 축적된 종 중에서 한국산 종류와 유연관계가 높은 *O. ortgiesii*와 *O. pachyrrhi*의 (Fig. 1) 정렬된 ITS rDNA 염기서열을 부호화하고, 이의 통계학적 유의성을 확인하기 위해 분산분석 하였다 (Table 3). 그 결과 연구된 12개체의 유의수준이 0.0000 이었으며, 이는 조사된 분류군들은 통계학적으로 서로 다른 것을 의미한다. 따라서 어느 분류군이 차이가 있는지를 확인하기 위해 Duncan 방법에 따라 사후검정을 시도하였다. 그 결과 먼저 중남미산인 *O. ortgiesii*와 *O. pachyrrhi*가 각각 분리된 후에, 도입종인 자주팽이밥이 분리되었다. 한국산 종류는 최후에 모두 하나로 유집되었는데 (Table 3), 이는 한국산 종들이 진정폐쇄화 생성을 하는 특징과 어느 정도 관련이 있을 것으로 추정된다 (Berg and Redbo-Torstensson, 1998).

사 사

본 연구의 일부는 2003, 2005년 과학재단 R&E 사업의 지원에 의해 수행되었다.

인 용 문 헌

- Appels, R. and R. L. Honeycutt. 1986. rDNA evolution over a billion years. *In* DNA Systematics. Dutta, S. K. (ed.), CRC Press, Boca Raton. Pp. 81-135.
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: two examples from the Madiinae (Asteraceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 1: 3-6.
- Berg, H. 2000. Differential seed dispersal in *Oxalis acetosella*, a cleistogamous perennial herb. *Acta Oecologica* 21: 109-18.
- _____ and P. Redbo-Torstensson. 1998. Cleistogamy as a bet-hedging strategy in *Oxalis acetosella*, a perennial herb. *J. Ecol.* 86: 491-500.
- Brücher, H. 1969. Poliploidia en especies sudamericanas de *Oxalis*. *Bol. Soc. Venez. Ci. Nat.* 28: 145-178.
- Chase, M. W., D. E. Soltis, R. G. Olmstead and D. Morgan *et al.* 1993. Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcl*. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 80: 528-580.
- Chung, T. H. 1957. Korean Flora. Vol. I. Woody Plants. Sinjisa, Seoul (in Korean).
- Darwin, C. 1877. The Different Forms of Flowers on Plants of the Same Species. John Murray, London. Pp. 173-182.
- De Azkue, D. 2000. Chromosome diversity of South American *Oxalis* (Oxalidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 132: 143-152.
- Denton, M. F. 1973. A monograph of *Oxalis*, section *Ionoxalis* (Oxalidaceae) in North America. *Pub. Michigan State Univ. Mus. Biol. Ser.* 4: 455-615.
- Downie, S. R., D. S. Katz-Downie and K. Spalik. 2000. A phylogeny of Apiaceae tribe Scandiceae: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Amer. J. Bot.* 87: 76-95.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus (Gibco BRL)* 12: 13-15.
- Emshwiller, E. 2002. Biogeography of the "*Oxalis tuberosa* alliance". *Bot. Rev.* 68: 128-152.

- _____ and J. J. Doyle. 1998. Origins of domestication and polyploidy in oca (*Oxalis tuberosa*: Oxalidaceae): nrDNA ITS data. Amer. J. Bot. 85: 975-985.
- _____ and _____. 2002. Origins of domestication and polyploidy in oca (*Oxalis tuberosa*: Oxalidaceae). 2. Chloroplast-expressed glutamine synthetase data. Amer. J. Bot. 89: 1042-1056.
- Farris, J. S. 1989a. The retention index and the rescaled consistency index. Cladistics 5: 147-419.
- _____. 1989b. Hennig86, Version 1.5. Port Jefferson Station. NY.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 789-791.
- Gibson, T., D. Higgins and J. Thompson. 1994. Clustal X program. EMBL, Heidelberg, Germany.
- Jansen, R. K. and J. D. Palmer. 1988. Phylogenetic implications of chloroplast DNA restriction site variation in the Mutisieae (Asteraceae). Amer. J. Bot. 75: 751-764.
- Kim, K. J. and R. K. Jansen. 1994. Comparison of phylogenetic hypotheses among different data sets in darwf dandelion (*Krigia*, Asteraceae): additional information from internal transcribed of nuclear ribosomal DNA. Pl. Syst. Evol. 190: 157-185.
- 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.
- Knuth, R. 1930. Oxalidaceae. In Das Pflanzenreich, Regni vegetabilis conspectus, A. Engler (ed). Vol. 13. W. Engelmann, Leipzig, Germany. Pp. 1-481.
- Lee, T. B. 1980a. Plant Taxonomy. Hyangmunsa, Seoul (in Korean)
- _____. 1980b. Illustration Flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul (in Korean)
- Linnaeus, C. 1753. Species Plantarum. p. 435.
- Liston, A., W. A. Robinson, J. M. Oliphant and E. R. Alvarez-Buylla. 1996. ength variation in the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region of non-flowering seed plants. Syst. Bot. 21: 109-120.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: a tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. Bot. Rev. 47: 421-443.
- Lourteig, A. 1988. Oxalidaceae. Flora Patagonia 8: 1-29.
- _____. 2000. *Oxalis* L. subgenero *Monoxalis* (Small) Lourt., *Oxalis Trifidus* Lourt. Bradea 7: 201-629.
- Macbride, J. F. 1943. Flora of Peru. In Field Museum of Natural History Botanical Series, Vol. XIII, part III. no. 1, Publication 531: 544-608.
- Möller, M. and Q. C. B. Cronk. 1997. Origin and relationships of *Saintpaulia*

- (Gesneriaceae) based on ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. Amer. J. Bot. 84: 956-965.
- Park, M. K. 1974. Keys to the Herbaceous Plants in Korea. Chungumsa, Seoul (in Korean).
- Park, S. H. 1995. Colored Illustrations of Naturalized Plants of Korea. Ilchokak, Seoul (in Korean).
- Salter, T. M. 1944. The genus *Oxalis* in South Africa, a taxonomic revision. J. South African Bot. (suppl.) 1: 1-355.
- Shin, K.-S., Y. K. Shin, J.-W. Kim and K.-H. Tae. 2003. Phylogeny of the Genus *Goodyera* (Orchidaceae: Cranichideae) in Korea Based on Nuclear Ribosomal DNA ITS Region Sequences. J. Plant Biol. 45: 182-187.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods. Version 4.02b. Sinauer Asso. Inc., Massachusetts.
- Sytsma, K. J. and L. D. Gottlieb. 1986. Chloroplast DNA evidence for the origin of the genus *Heterogaura* from a species of *Clarkia* (Onagraceae). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 5554-5557.
- _____ and W. J. Hahn. 1996. Molecular systematics: 1994-1995. Prog. Bot. 58: 470-499.
- Tosto, D. S. and H. E. Hopp. 1996. Sequence analysis of the 5.8S ribosomal DNA and internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) from five species of the *Oxalis tuberosa* alliance. DNA sequence-J. Seq. Map. 6: 361-364.
- White, T. J. ., T. Birn, 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.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51: 221-271.

Analysis of ITS DNA Sequences of Korean *Oxalis* Species (Oxalidaceae)

Jachoon Koo, Mi Suk Chae, Jeoung-Ki Lee and Sung Soo Whang*
Division of Science Education, Chonbuk National University, Chonju 561-756,
Republic of Korea

This study was conducted to know the taxonomic features of nuclear ribosomal ITS DNA sequences, ITS1, ITS3 and 5.8S regions, as to nine individuals belonging to four *Oxalis* species in Korea and an induced species. Sequences of the same regions of sixteen taxa deposited in GenBank were also aligned with those of Korean species as outgroups. The length of ITS sequences aligned in this study is 679 bp in total. Evidences, from not only the sequence similarities and divergences but also the phylogenetic and statistical treatments with ITS sequences aligned, were useful for the taxonomy of the genus. The similarity of sequences, among both cauline and acauline taxa, is high as 89% and 95% respectively, but between cauline and acauline taxa, relatively low in the range of 64~69%. The sequence divergences, among both cauline and acauline taxa, is also high as much as 0.36~0.42, but between both cauline and both acauline taxa, low as 0.04~0.06. Two groups between cauline and acauline taxa are paraphyletic, and each group makes a single clade with a high bootstrap value. The analysis of variance, using ITS sequence aligned, revealed that taxa are significantly different in the level of 0.5%, and *O. corymbosa*, an induced species, is also separated from the Korean taxa in the Duncan analysis.

Key words: ANOVA, ITS sequences, *Oxalis*, phylogeny

*Corresponding author: Phone +82-63-270-4340, Fax +82-63-270-2781, whang@chonbuk.ac.kr
Received: 4 October 2007/Accepted: 4 December 2007