

ITS 염기서열 자료에 기초한 한국특산 미선나무속(올리브과)의 계통학적 위치

김기중* · 이해림 · 김영동¹

(영남대학교 생물학과 · ¹한림대학교 생물학과)

한국특산인 미선나무속(*Abeliophyllum* Nakai, Oleaceae)의 계통학적 위치는 1919년 본 속이 기재된 이후 최근까지 논란의 대상이 되어왔다. 잘 발달된 화통을 갖는 꽃의 형태, X=14의 기본 염색체 수, 계단상으로 단절된 수 조직의 모양과 같은 형질들은 미선나무속이 개나리속(*Forsythia*)과 근연임을 지지하지만, 날개를 갖는 납작한 건괘과의 열매, 각 실당 1개의 종자, 공구형의 발아구를 갖는 화분립등의 특징들은 미선나무속이 향선나무속(*Fontanesia*)과 연관이 깊음을 의미한다. 본 연구에서는 미선나무의 계통학적 위치를 명확하게 밝히기 위하여 핵 rDNA의 ITS(internal transcribed spacer)지역 염기서열을 이들 3속과 근연의 외군속들을 대상으로 비교 결정하였다. 정렬된 염기서열들은 부츄스트랩분석, 붕괴분석등을 포함한 절약분석 및 거리분석 방법등을 동원하여 계통수를 제작·평가하였다. 결과, 염기서열의 삽입/결실 변이 자료와 치환자료 모두 미선나무속과 개나리속의 자매군 관계가 강하게 지지 되었으며, 반면, 미선나무속과 향선나무속의 직접적인 자매군 관계는 지지되지 않았다. 따라서 미선나무속과 향선나무속이 공유하는 열매와 화분립의 특징들은 원시공유형질 또는 평행진화의 결과로 해석함이 타당하다고 판단된다.

주요어 : 미선나무속, 개나리속, 향선나무속, internal transcribed spacer region, 최대절약분석

미선나무속(*Abeliophyllum* Nakai)은 단일종으로 구성된 한국특산속으로 Nakai(1919)에 의하여 충청북도 진천군의 표본을 기준으로 하여(Nakai Collection Numbers 8147~8150) 기재되었다. 미선나무(*Abeliophyllum distichum* Nakai)를 신속·신종으로 기재할 당시 Nakai는 열매의 특징을 들어 향선나무속(*Fontanesia* Labill.)에 가깝다고 기록하였다. 특히 열매가 납작한 부채모양이며 자방은 2실이고, 각실마다 하나의 씨가 위로부터 달려 있는 모양이 *Fontanesia*에 유사하나, 꽃은 액상총상화서이며, 화관이 잘 발달된 통꽃 교신전자 : 전화 : 053-810-2377, 전송 : 053-816-0126, 전자우편 : kjkim@yucc.yeungnam.ac.kr

으로 복외상이고, 줄기의 수조직이 계단상으로 되어 있는 점이 *Fontanesia*와는 구별되며, 이의 특징들로 보아 개나리속(*Forsythia* Vahl.)과도 유사성이 깊음을 갖음을 기록하였다(Nakai, 1920). 그러나, 그는 열매의 특징을 강조하여 *Forsythia* 보다는 *Fontanesia*와의 관계를 더 강조하였다.

우리나라의 미선나무 자생지는 현재까지 모두 다섯 군데가 천연기념물로 지정되었다. 그러나 본 속의 기준표본 채집지인 충청북도 진천군의 자생지(천연기념물 14호)는 완전히 파괴되어, 1969년 천연기념물에서 해제되었다. 따라서 충청북도 괴산군 장연면 송덕리(천연기념물 147호), 충청북도 괴산군 장연면 추점리(천연기념물 220호), 충청북도 괴산군 칠성면 울지리(천연기념물 221호), 충청북도 영동군 영동읍 매천리(천연기념물 364호) 등의 자생지가 천연기념물로 남아있다(Anonymous, 1998). 또한 이들 충청북도 지역과는 멀리 떨어진, 전라북도의 변산반도일대의 미선나무 자생지가 최근에 알려지기 시작하였다. 전라북도 변산반도 자생지는 충청북도의 자생지들보다 많은 개체수가 분포한다. 다행스럽게도 지금은 멸종된 충청북도 진천군의 기준표본 채집지에서 이식한 3개 개체가 미국의 Arnold Arboretum에 자라고 있으며, 이들 개체를 삽목하여 번식시킨 clone들이 영국의 Kew Garden을 비롯하여 세계의 여러 식물원에 퍼져있다. 또한 미선나무의 삽목 방법이 널리 보급되어 관상수로 서울지역에 심고 있으며, 평양의 대성동 중앙식물원에 재식되어 있는 것도 북한의 천연기념물(등록번호 12호)로 지정되어 있다(Lee and Lee, 1994).

Nakai(1919, 1920) 이후 *Abeliophyllum*은 연구자에 따라 *Fontanesia*가 속하는 Fontaneseae족 또는 *Forsythia*가 속하는 Forsytheae족으로 처리되었다. 예로, 열매의 해부학적 자료는 주로 *Fontanesia*와의 근연관계를 강조하였고(Taylor, 1945; Johnson, 1957), 염색체의 연구는 *Forsythia*와 같은 $X=14$ 로, $X=13$ 인 *Fontanesia*와는 구별되었으며(Taylor, 1945; Maekawa, 1962; Lim and Ko, 1989), 계단상의 수조직 및 화관의 형태 등의 특징은 *Forsythia*와의 연관, 화분의 발아구 특징(Lee and Park, 1982a, b) 등은 *Fontanesia*와의 유사성을 시사하고 있다. 그러나 Flavonoid(Harborne and Green, 1980), 종자해부(Rohwer, 1993), 목재해부(Bass et al., 1988), 단백질의 면역학적 관계(Piechura and Fairbrothers, 1983) 연구 등의 자료는 이들 연관관계에 대한 설득력 있는 결과를 제공하지 못하고 있다. 따라서 본 연구에서는 이들 3속간의 연관관계를 밝히고, 미선나무속의 계통학적 위치를 명확하게 밝히기 위하여 *Fontanesia*, *Forsythia*, *Abeliophyllum*속의 연관관계를 핵 rDNA의 internal transcribed spacer (ITS) 지역의 염기서열을 이용하여 평가하였다. 즉, 본 연구에서는 이들 염기서열을 근거로 계통수를 제작하여 위에서 제시된 연관관계들 중 어느 것이 더 타당한가를 평가하고자 하였다.

ITS 염기서열의 계통학적 유용성은 다양한 분류군에서 널리 증명되었으며 종간 또는 근연 속간의 연관관계 정립에 중요한 분자자료로 이용되어오고 있다(Baldwin, 1992; Suh

et al., 1993; Kim and Jansen, 1994). 따라서 ITS 염기서열 자료가 올리브과 내의 근연속들인 *Fontanesia*, *Abeliophyllum*, *Forsythia* 등의 연관관계 해석에 중요한 단서를 제공하고, 한국특산속인 *Abeliophyllum*의 계통학적 위치를 명확하게 제시할 것으로 예견된다.

재료 및 방법

본 연구에서는 단일 종으로 구성된 *Abeliophyllum*을 비롯하여 내군으로 *Fontanesia*와 *Forsythia*를 선정하였다. 내군의 3속은 두 개의 족 또는 통합하여 한 개의 족으로 처리된 바 있으며 여러가지 문헌증거에 의하면 서로간의 연관관계가 올리브과의 다른 어느 속들보다 깊다(Taylor, 1945; Johnson, 1957). 외군으로는 *Menodora* Bonpl.속과 *Jasminum* L.속을 선정하였다. 이들 외군 들은 내군의 3속들과 같은 자스민아과(subfamily Jasminoideae)에 속하는 자스민속(*Jasminum*), 메노도라속(*Menodora*)을 선정하여 내군의 연관관계 평가에 이용하였다. 외군의 선정은 본 연구실의 DNA 연구결과(Kim *et al.*, unpublished data)와 기존의 문헌 연구 결과(Steyermark, 1932; Taylor, 1945; Johnson, 1957; Turner, 1991; Rohwer, 1995; Kim, 1997; Kim and Jansen, 1998)를 종합하여 각 속에서 1종씩을 선정하였다.

*Abeliophyllum*의 경우 기준표본 채집지인 충청북도 진천군에서 이식하여 미국 Arnold Arboretum에 재식하고 있는 개체와, 전라북도 부안군 변산반도의 개체 등 두 가지 다른 개체를 이용하였다. *Fontanesia*의 경우 3 분류군 2종으로 구성되어 있으나(Kim, 1998), 본 연구에서는 중국현지화 중국에서 이식하여 미국의 Arnold Arboretum에 재식한 2 분류군을 본 연구에 이용하였다. *Forsythia*의 경우 세계적으로 11종이 분포하지만(Kim, 1999), 이전의 연구에서 *Forsythia*속이 단계통군임이 증명되었으므로 어느분류군을 선정하여도 문제가 없으므로 본 연구에서는 지리적 분포를 고려하여 유럽원산인 *Forsythia europaea* Degen & Baldacci와 중국원산인 *F. viridissima* Lindl.을 이용하였다(Table 1).

DNA 추출·정제 : 자생지 또는 재식지에서 증거표본과 5g 정도의 잎을 채취하여 실험실로 운반한 후 액체질소와 함께 잎을 갈아 가루로 만든 후, 일반적인 2×CTAB 추출방법으로 60°C에서 DNA를 추출하였다(Doyle and Doyle, 1987). 추출된 total DNA는 1×TE buffer에 녹인 후 EtBr-CsCl 농도구배 초원심분리 과정에 의하여 60,000rpm으로 DNA band를 분리하였다(Palmer, 1986). 분리된 DNA는 분자량 12,000을 걸러내는 투과 막(Spectrum Lab., Rancho Dominguez, California, USA)을 이용하여 투석시켜 정제한 후 증폭에 이용하였다.

ITS지역 증폭, 정제, 및 염기서열 결정 : ITS 지역의 특이적인 primer 1과 4를 이용하여

Table 1. Species list of *Abeliophyllum*, *Fontanesia*, *Forsythia*, and outgroups used for ITS sequencing.

Taxa	abbreviation	*Accession number and origin
<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Abel dis	AA 178-16-8 (Korea, Chinchun)
	Abel dis	KJK 1998-0087 (Korea, Byeunsanbando)
		KJK 2000-0292 (Korea, Byeunsanbando)
<i>Fontanesia philliraeoides</i> Labill.	Fon phill	KJK 99-c105 (China)
var. <i>philliraeoides</i>		
<i>Fontanesia philliraeoides</i> Labill.	Fon fortu	AA 1542-80-B (China)
var. <i>fortunei</i> (Carr.) Koehne		
<i>Forsythia europaea</i> Degen & Baldacci	For europ	AA 10198-1917 (Albania)
<i>Forsythia viridissima</i> Lindl.	For virid	AA 1223-85 (China)
<i>Menodora scabra</i> Gray	Menodora	BLT 93-33 (New Mexico, USA)
<i>Jasminum dichotomum</i> Vahl.	Jasminum	EDG 38004 (cultivation)

*AA-Arnold Arboretum, USA, EDG-Edinburgh Botanical Garden, England, KJK-Ki-Joong Kim (Voucher at YNUH), BLT-B.L.Turner (Voucher at TEX).

(Baldwin, 1992; Kim and Jansen, 1994) ITS지역을 증폭하였다. 증폭조건은 Kim and Jansen(1994)의 조건과 동일하다. 증폭된 DNA는 agarose gel에서 확인한 후 QIAquick PCR Purification Kit (QUIAGEN Co., Hilden, Germany)를 이용하여 정제하였다. 정제된 DNA 150ng을 염기서열 결정반응에 이용하였다. 염기서열 결정반응은 ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing System을 이용하여 Perkin Elmer 9600 PCR 기기에서 25cycle 반응을 수행하였다. 이때 반응조건은 primer 1.6 pmole, DNA 150ng, BigDye Terminator 4 μ l 등이었고, PCR 조건은 96 $^{\circ}$ C 10초, 50 $^{\circ}$ C 5초, 60 $^{\circ}$ C 4초의 cycle을 25회 반복하였다. Cycle sequencing 반응을 마친 DNA는 일반적인 EtOH 침전 과정을 통하여 정제한 후 영남대학교의 ABI 377 자동염기서열분석기에서 gel을 걸어 염기서열을 모았다.

DNA 염기서열 정렬 및 계통수 제작 : 양쪽방향으로 결정된 염기서열은 Sequencer(3.1.1. version, Gene Code Corporation, Ann Arbor, Michigan)를 이용하여 편집하였다. 각종 또는 집단별로 편집한 염기서열은 Clustal X program (Gibson *et al.*, 1994)을 이용하여 정렬하였다. 정렬결과 *Abeliophyllum distichum*의 두 집단의 염기서열은 동일하였으므로 단일 분류군으로 처리하였다. 따라서 내군 5분류군, 외군 2분류군 등 총 7개 분류군으로 구성된 자료행렬이 얻어졌다. 이들 정렬된 자료는 PAUP(4.0 version, Swofford, 2000)을 이용하여 기본적인 절약분석(parsimony analysis), Bootstrap 분석(Felsenstein,

1985), NJ분석(Saitou and Nei, 1987; Farris *et al.*, 1996), 붕괴분석(Hillis and Dixon, 1989; Bremer, 1994) 등을 수행하였다. 모든 분석은 분류군 숫자가 7개이므로 모든 가능한 계통수를 모두 찾아내는 소진탐색(exhaustive search)을 이용하였다. Parsimony-bootstrap 분석 및 NJ-bootstrap 분석은 1,000회 반복하였으며 붕괴분석은 모든 내부 절이 붕괴될 때까지 계속하였다.

결과 및 고찰

ITS의 특징 : 본 연구에서 이용한 속별로 살펴본 ITS1, 5.8S, ITS2 지역의 길이는 다 음 Table 2와 같다. 두 개 이상의 분류군이 이용된 *Forsythia*와 *Fontanesia*의 경우 속내의 분류군 간 변이는 없었으며, 5.8S의 경우 모든 속에서 같은 154bp 이었다. 보통 ITS1이 ITS2에 비하여 약간 길었으나, *Fontanesia*의 경우는 반대로 ITS2가 ITS1 보다 길었다. 길이에서 *Abeliophyllum*은 *Forsythia*와 정확히 같았으며 *Fontanesia*와는 크게 차이를 보여 주었다(Table 2). 염기조성은 전체적으로 A=0.196, C=0.304, G=0.293, T=0.207로 GC염기가 0.597로 약 60%를 차지하여 AT 보다는 GC에 치우쳐져 있으나, 속간에 염기 조성은 차이가 없었다.

염기서열의 삽입 및 결실(Indel) 변이 : 정렬된 염기서열은 699 형질로 구성되었다 (Table 3). 5개의 내군에서 14개의 indel이 기록되었으며 외군을 기준으로 비교한 길이, 위치, 나타나는 분류군들은 Table 4와 같다. 이 중 ITS 1 지역에 9개(1번-9번), ITS 2 지역에 5개 (10번-14번)가 분포한다. 모든 indel은 1~3bp의 짧은 것이었으며 결실이 12개, 삽입이 2개였다. 외군과 내군을 구별하는 내군 특이적인 indel은 1, 2, 8, 12번등의 4개였으며, indel 자료만 보아도 내군의 단계통성이 지지되었다. 내군내에서는 *Fontanesia*속 특이적인 indel이 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 14번등의 8가지로 대부분을 차지하였다. 반면에 *Abeliophyllum*이나 *Forsythia* 특이적인 indel은 하나도 없었다.

두 개의 indel(5번과 13번)이 *Abeliophyllum*과 *Forsythia*의 단계통성을 지지하는 것이었다. 이상의 indel 변이의 결과로 보아 3속은 단계통군이며, 이 중 *Forsythia*와 *Abeliophyllum*의 자매군이 지지되었고, 반면에 *Fontanesia*의 경우는 독립적인 indel 변이가 많이 일어나 *Abeliophyllum* 및 *Forsythia*와는 확실하게 구별되는 분류군임을 알 수 있다.

계통수의 평가 : 정렬된 699 site 중 488 site가 염기서열에 변화가 없었고 211개 site가 염기서열에 변화가 있었다(Table 3). 변화가 있는 site 211개 중 95개는 계통학적으로 정보가 없는 단독과생형질이고, 116개가 계통학적으로 유용한 공유과생형질이었다. Exhaustive search에서 7개 분류군으로 구성된 자료의 경우 945개의 무근 계통수가 가능하다. 이 945개의 계통수를 염기변화가 없는 211개 site 자료를 이용하여(Table 3)

Table 2. Lengths of ITS region in surveyed genera.

Taxa	Region	ITS 1 (bp)	5.8S (bp)	ITS 2 (bp)
<i>Forsythia</i>		241	154	219
<i>Abeliophyllum</i>		241	154	219
<i>Fontanesia</i>		217	154	221
<i>Jasminum</i>		245	154	221
<i>Menodora</i>		250	154	231

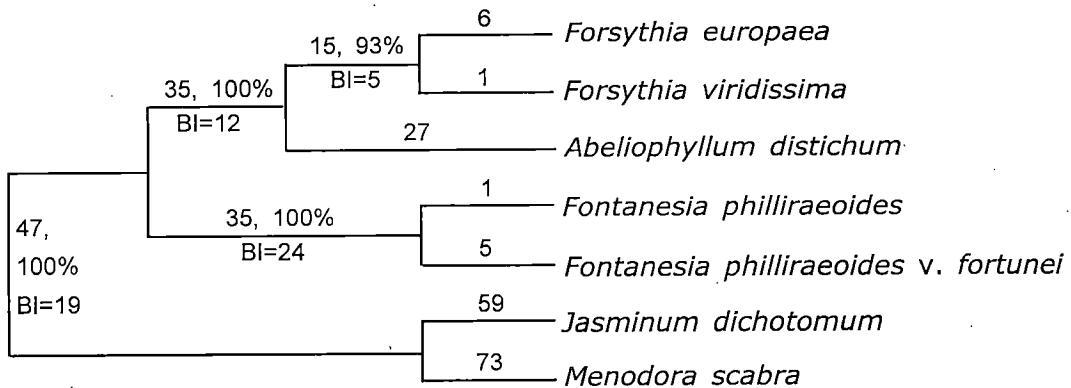


Fig. 1. Cladogram showing the phylogenetic relationship of *Abeliophyllum*. The number above each branch indicate the supporting characters on the ACCTRAN character transformation. The percentages along the each internal node represent the level of monophyly from 1,000 parsimony bootstrap resamplings and the BI values indicate the Bremer support index.

평가한 결과, 최대절약계통수(maximum parsimonious tree)가 304 step에서 1개 찾아졌다(Fig. 1). 두 번째 절약적인 계통수는 이보다 5 step이 긴 309 step에서 1개 찾아졌고, 다음이 312 step에서 1개, 316 step에서 1개, 318 step에서 1개, 323 step에서 2개 순으로 계통수가 찾아졌으며, 가장 긴 계통수는 430 step이었다. 모든 가능한 계통수의 평균길이는 398.92 step이었고 $sd=24.79$, $gl=-1.088$ 로 본 자료에 강한 계통학적 정보가 존재하는 것으로 평가되었다.

가장 절약적인 309 step 계통수(Fig. 1)의 CI(일관성 지수) = 0.8914(공유파생형질만 이용시는 0.8226), HI(비상동지수) = 0.1086, RI(보존지수) = 0.7924로 대부분의 형질이

Table 4. Indel data of ITS region for the *Fontaneisa*, *Forsythia* and *Abeliophyllum* (ingroup taxa) compare to the outgroup taxa.

No.	Indel Length	Position*	Taxa
1	-2bp	54-55	Ingroup specific
2	-3bp	111-113	Ingroup specific
3	-3bp	145-149	<i>Fontanesia</i> specific
4	+1bp	178	<i>Fontanesia</i> specific
5	-1bp	205	<i>Forsythia</i> , <i>Abeliophyllum</i> specific
6	-2bp	205-206	<i>Fontanesia</i> specific
7	-1bp	208	<i>Fontaneisa</i> specific
8	-2bp	250-251	<i>Ingroup</i> specific
9	-1bp	260	<i>Fontaneisa</i> specific
10	+3bp	460-462	<i>Fontaneisa</i> specific
11	-2bp	481-482	<i>Fontaneisa</i> specific
12	-2bp	615-616	<i>Ingroup</i> specific
13	-1bp	652	<i>Forsythia</i> , <i>Abeliophyllum</i> specific
14	-1bp	665	<i>Fontaneisa</i> specific

*Position number는 ITS 1에서 시작하여 ITS 1→5.8S→ITS 2의 방향으로 붙인 것임 (see Table 3).

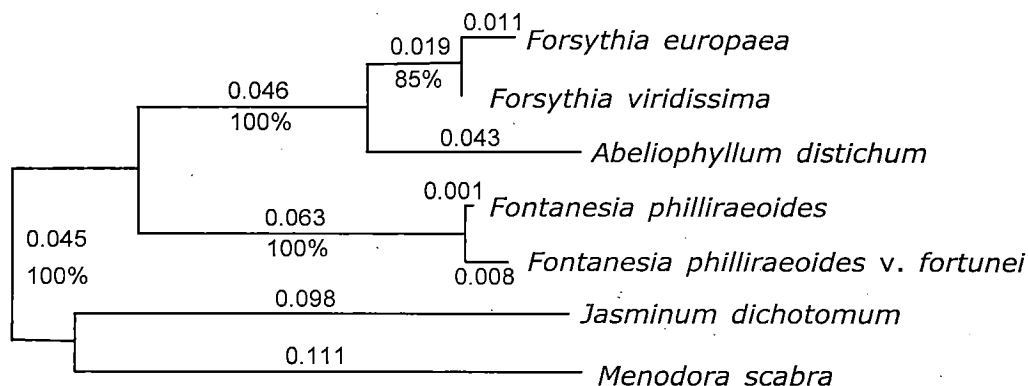
상동적인 치환이었다. 이 계통수는 다음단계의 경쟁적인 계통수보다 5단계나 짧은 것이며, 자료내의 비상동치환이 거의 없으므로 진정계통수(true tree)로 받아드려도 무리가 없는 것으로 사료된다. 이 계통수에서 4개의 내부 절의 단계통이 지지되었다. 이들 내부 절들은 *Forsythia*의 두 종이 15개의 형질로 지지되는 것을 비롯하여, *Fontanesia*의 두 종이 35개의 형질로 지지되었으며, *Forsythia*+*Abeliophyllum*의 절이 35개의 형질로 지지되었으며, 내군과 외군을 나누는 절이 47개의 형질로 지지되는 것 등 이다(모두 촉진변환 ACCTRAN, accelerated transformation, 의 경우 임).

이들 4개 절의 단계통의 정도를 나타내는 bootstrap %도, *Forsythia* 두 종의 경우만 비교적 높은 93% 수준이었으며, 나머지 절들은 모두 매우 높은 100%로 지지되었다. 각 내부 절의 강약의 정도를 나타내는 붕괴분석의 결과 나타나는 붕괴지수(Bremer support, Decay index)는 5에서 24사이로 모든 절이 매우 강하게 지지됨을 보여 주었다 (Table 5). 따라서 본 계통수는 진정계통수로 받아드려도 무리가 없다고 사료된다. 또한 거리자료에 기초한 NJ 계통수(Fig. 2)와 NJ-bootstrap %도 (Table 5) 절약분석과 같은 결과를 보여주었다.

연관관계 및 형질의 진화: 이상의 결과로 보았을 때 한국특산속인 미선나무속

Table 5. The degree of support for the internal nodes on the Figs. 1 and 2.

Internal node Support	<i>Forsythia</i>	<i>Forsythia</i> + <i>Abeliophyllum</i>	<i>Fontanesia</i>	Ingroup/Outgroup
Number of supporting character	15	35	35	47
P-Bootstrap(%)	93	100	100	100
Bremer support	3	12	24	19
NJ-Bootstrap(%)	85	100	100	100

**Fig. 2.** Neighbour-Joining(NJ) phylogram showing the phylogenetic position of *Abeliophyllum*. The decimal point number indicate NJ values on each branch and the percentage on the each internal node represent the NJ-bootstrap values from 1,000 resampling analysis.

(*Abeliophyllum*)은 개나리속(*Forsythia*)과 강한 단계통군을 형성하며 *Forsythia*의 자매군임이 명백하다. 나아가서 *Fontanesia*속은 *Abeliophyllum*의 자매군이라고 보기보다는 *Abeliophyllum*+*Forsythia*의 포괄적인 군에 대한 자매군임이 분명하다. 즉, 한국특산 *Abeliophyllum*은 *Fontanesia* 보다는 *Forsythia*에 더 가깝다는 결론이다. 이는 chloroplast DNA 분석결과와도 일치하는 결과이다(Kim, 1997; Kim *et al.*, unpublished results)

*Abeliophyllum*과 *Forsythia*는 잘 발달된 통상화관을 갖고며, 염색체의 기본수가 $X(n) = 14$ 이며(Taylor, 1945; Maekawa, 1962; Lim and Ko, 1989), 계단상으로 단절된 수조직과 같은 특징을 공유하지만, *Fontanesia*의 경우는 거의 이판화 상태의 작은(5mm 이내)

Table 6. Comparison of general morphological and cytological characters among *Forsythia*, *Abeliophyllum* and *Fontanesia*.

Character	Taxa	<i>Forsythia</i>	<i>Abeliophyllum</i>	<i>Fontanesia</i>
Corolla tube		Well developed	Well developed	Free or united at base only
Fruit		Capsule	Compressed nut with wing	Compressed nut with wing
Number of ovule/cell		Several	Solitary	Solitary
Pith		Interrupted	Interrupted	Uninterrupted
Base Chromosome Number		X=14	X=14	X=13
Pollen aperture		tricolpate	tricolporate	tricolporoidate

화관을 가지며, 염색체의 기본수가 13이고, 꼭 찬 연속적인 수 조직을 갖는 등 형태적으로 쉽게 구별됨으로써(Table 6), ITS 염기서열에 기초한 자료들과도 일치한다. 그러나 열매의 특징에 있어서 *Abeliophyllum*은 *Fontanesia*와 같이 부채모양으로 압착된 날개를 갖는 2실로 구성된(각 실에 한 개의 종자) 견과과의 특징을 갖는다(Nakai, 1919; Taylor, 1945; Johnson, 1957). 그러나 *Forsythia*의 경우는 열매가 날개가 없는 삭과이며 각실에 여러개의 종자가 달리는 등 크게 차이가 난다. 그러므로 ITS 염기서열에 기초한 연관관계가 옳다면 *Abeliophyllum*과 *Fontanesia*에서 나타나는 열매의 형태는 원시공유형질 또는 평행진화 형질로 해석함이 옳다고 본다.

열매의 형태에 기초하여 *Abeliophyllum*은 *Forsythia* 보다는 *Fontanesia*에 유사하다고 보는 견해는 잘못된 것일 가능성이 높다. 열매의 다양한 형태가 올리브과의 속을 나누고 족을 나누는 중요한 특징임에는 이의가 없으나 열매의 특징에 수렴진화 및 평행진화의 문제가 많으므로 올리브과의 계통학적 해석에 이용하는 데는 주의를 요한다. 또한 형태형질의 공통성만을 기초로 공유파생형질인지 원시공유파생형질인지를 판정하기 어려움에서 오는 잘못된 자료해석에도 주의를 요하는 점이다.

결과로 *Abeliophyllum*과 *Fontanesia*를 같은 족으로 처리하는 것보다는(Taylor, 1945), *Abeliophyllum*과 *Forsythia*를 같은 족으로 묶는 분류체계(Johnson, 1957)가 더 타당한 것으로 평가된다. 또한 이들 세속을 같은족으로 묶을 수도 있으나 이에대한 처리는 올리브과의 모든 속들을 포함하는 계통학적 연구결과에 의존하는 것이 더욱 타당하다고 생각되어 본 논문에서는 유보한다.

사 사

본 연구에 필요한 재료확보에 도움을 준 Arnold Arboretum의 J. Alexander, 영국 Edinburgh Botanic Garden의 ground manager등께 감사드린다. 본 연구는 1998-2001년도 한국학술진흥재단 자유공모 연구비(1998-001-D00708)에 의하여 지원되었으며 이에 감사드린다.

인 용 문 헌

- Anonymous, 1998. Natural Monuments of Korea. Korean Natural Heritage Conservation Division, Seongjonsa, Seoul.
- Baas, P., P. M. Esser, M. E. T. van der Westen, and M. Zaudee. 1988. Wood anatomy of the Oleaceae. IAWA Bulletin 9:103-182.
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the international transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the compositae. Mol. Phyl. Evol. 1:3-16.
- Bremer, K. 1994. Bremer support and tree stability. Cladistics 10:295-304.
- 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., V. Albert., M. Kallersjo, D. Lipscomb and A. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. Cladistics 12:99-124.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39:789-791.
- Gibson, T., D. Higgins and J. Thompson, 1994. Clustal X Program. EMBL, Heidelberg, Germany.
- Harborne, J. B. and P. S. Green. 1980. A chemotaxonomic survey of flavonoids in leaves of the Oleaceae. Bot. J. Linn. Soc. 81:155-167.
- Hillis, D. M. and M. T. Dixon. 1989. Vertebrate phylogeny: evidence from 28S ribosomal DNA sequence. In Fernholm, B. Bremer, H. Jornvall (eds.) The Hierarchy of Life Nobel Symposium 70. Amsterdam, Elsevier. Pp. 355-367.
- Johnson, L. A. S. 1957. A review of the family Oleaceae. Contr. New SouthWales Natl. Herb. 2:396-418.
- Kim, K.-J. 1997. Chloroplast DNA evidence for the phylogenetic position of *Abeliophyllum* (Oleaceae). Adv. Pl. Mol. Syst. 1:72(Abs.)
- _____. 1998. A new species of *Fontanesia* (Oleaceae) from China and revision

- of the genus. J. Pl. Biol. 41:142-145.
- _____. 1999. Molecular phylogeny of *Forsythia* (Oleaceae) based on chloroplast DNA variation. Pl. Syst. Evol. 218:113-123.
- _____. and R. K. Jansen 1994. Comparisious of phylogenetic hypotheses among different data sets in dwarf dandelious (*Krigia*, Asteraceae): additional information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. Pl. Syst. Evol. 190:157-185.
- _____. and R. K. Jansen. 1998. A Chloroplast DNA phylogeny of Lilacs (*Syringa* -Oleaceae): plastome groups show a strong correlation with crossing groups. Amer. J. Bot. 85:1338-1351.
- Lee, S.-D. and K.-C. Lee, 1994. Natural Monuments of North Korea. Agricultural Publ., Pyeongyang.
- Lee, S. T. and E. J. Park. 1982a. A Cladistic analysis of the Korean Oleaceae. Korean J. Bot. 25:57-64.
- _____. 1982b. A palynotaxonomic study of the Korean Oleaceae. Korean J. Pl. Tax. 12:1-11.
- Lim, S. C. and S. C. Ko, 1989. A cytotaxonomical study on some species of Korean *Forsythia*. Korean J. Pl. Tax. 19:229-239.
- Maekawa, F. 1962. Major polyploid, with special refesence to the phylogeny of Oleaceae. Jap. J. Bot. 37:25-27.
- Nakai, T. 1919. Genus novum Oleaceaerum in Corea media inventum. Bot. Mag. (Tokyo) 33:153-154.
- _____. 1920. On *Abeliophyllum distichum*. Bot. Mag. (Tokyo) 34:249-251.
- Palmer, J. D. 1986. Isolation and Structural analysis of chloroplast DNA. Meth. Enzymol. 118:167-186.
- Piechura, J. E. and D. E. Fairbrothers. 1983. The use of protein-serological charaeters in the systematics of the family Oleaceae. Amer. J. Bot. 75:780-789.
- Rohwer, J. G. 1993. A preliminary survey of the fruits and seeds of the Oleaceae. Bot. Jahrb. Syst. 115:271-291.
- _____. 1995. Fruit and seed structures in *Menodora* (Oleaceae): a comparison with *Jasminum*. Bot. Acta 108:163-168.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4:406-425.
- Steyermark, J. A. 1932. A revision of the genus *Menodora*. Ann. Missouri Bot. Gard. 19:87-176.

- Suh, Y., L. B. Thien, H. E. Reeve and E. A. Zimmer. 1993. Molecular evolution and Phylogenic implications of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA in Winteraceae. *Amer. J. Bot.* 80:1042-1055.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods. Version 4.0 Sinauer Asso. Inc., Massachusetts, USA
- Taylor, H. 1945. Cytotaxonomy and phylogeny of the Oleaceae. *Brittonia* 5:337-367.
- Turner, B. 1991. An overview of the North American species of *Menodora* (Oleaceae). *Phytologia* 71:340-356.

Phylogenetic Position of *Abeliophyllum* (Oleaceae) based on nuclear ITS Sequence Data

Kim, Ki-Joong*, Hae-Lim Lee and Yeung-Dong Kim¹

(Department of Biology, Yeungnam University, Kyeongsan 712-749,

¹Department of Biology, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea)

Abstract

The phylogenetic position of Korean endemic monotypic genus *Abeliophyllum* (Oleaceae) have been disputed since its description in 1919. The floral morphology with well developed corolla tube, the base chromosome number of $X=14$ and the interrupted lamellated pith in the genus are similar to *Forsythia*, however, the winged compressed indehiscent fruit and the colporated aperture on pollen of *Abeliophyllum* suggest that it may also relate closely to *Fontanesia*. In order to clarify the phylogenetic position of *Abeliophyllum*, the nucleotide sequences of nuclear rDNA internal transcribed spacer (ITS) region were compared among closely related ingroup and outgroup genera in Oleaceae. The sequence data were analyzed by parsimony and distance methods including bootstrapping and decay analyses. Both the indel mutation and the nucleotide substitution data of ITS region support strongly the sister group relationship between *Abeliophyllum* and *Forsythia* rather than the monophyly of *Abeliophyllum* and *Fontanesia*. Thus, the shared morphological features of fruit and pollen grains in *Abeliophyllum* and *Fontanesia* were interpreted as symplesiomorphic or parallel evolutionary conditions.

Key words: *Abeliophyllum*, *Forsythia*, *Fontanesia*, internal transcribed spacer (ITS) region, maximum parsimony analysis

*Corresponding author: Phone: +82-53-810-2377, Fax: +82-53-816-0126,
e-mail: kjkim@ynuucc.yeungnam.ac.kr