노루오줌속(*Astilbe*)의 분자 계통: 계통지리 및 형질 진화에 대한 고찰

김상용 · 김성희¹ · 신현철² · 김영동^{1*}

국립수목원 산림생물조사과, ¹한림대학교 생명과학과, ²순천향대학교 생명과학과

Molecular phylogeny of *Astilbe*: Implications for phylogeography and morphological evolution

Sang-Yong Kim, Sung-Hee Kim¹, Hyunchur Shin² and Young-Dong Kim^{1*}

Division of Forest Biodiversity & Herbarium, Korea National Arboretum, Gyeonggi-do 487-821, Korea

¹Department of Life Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

²Department of Biology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

적 요: 노루오줌속(*Astilbe*)은 동아시아와 북미 동부에 격리되어 분포하는 양상을 보이는 속으로 잘 알려져 있다. 본 연구에서는 노루오줌속 및 근연 속을 대표하는 17종의 핵 리보솜 DNA의 ITS 염기서열에 기초한 계통수를 제작하여 노루오줌속의 분류, 형질 진화 및 계통지리에 대하여 고찰하였다. 베이스 추론법 등을 통해 계통수를 제작한 결과 *Saxifragopsis*가 노루오줌속의 자매군임이 확인되었고, 단성화, 무화피화, 7~11개로 갈라지는 꽃받침 등의 형질상태를 지니는 것으로 알려진 일본 고유종, *A. platyphylla*는 노루오줌속 계통수의 기부에서 가장 먼저 분리되었다. 북미에 격리 분포하는 분류군인 *A. biternata* 및 중국과 동남아시아에 분포하는 *A. rivularis*는 노루오줌속의 진화 초기에 갈라진 것으로 밝혀졌다. 한편, 화피가 있는 나머지 종들은 하나의 핵심군으로 확고하게 무리를 지었다. 핵심군 내에서는 일본, 대만, 필리핀 등지에 분포하는 종들("Japonica" clade)이 단계통군을 이루었고, 중국 및 한국에 분포하는 종인 *A. rubra* var *rubra*(노루오줌)과 *A. koreana*(숙은노루오줌), 즉 "Rubra" clade는 이들과 명확히 구분되는 진화 계열로 나타났다. *A. biternata*의 기원과 격리분포는 베링육교(Bering land bridges)를 통해 이루어진 것으로 추정되었다. 대만에 분포하는 2종과 *A. philippinensis*는 일본에 분포하는 분류군이 남하하면서 갈라져 나온 것으로 해석되었다. 노루오줌속 내에서 무화피화는 원시적 형질상태였으며, 이 형질상태는 적어도 두 개의 진화 계열에서 각각 독립적으로 기원하였을 것으로 추정되었다. 본 연구 결과는 노루오줌속을 분류함에 있어서 잎의 유형(단엽/복엽)을 중요시했던 Engler의 분류 체계를 지지하지 않았으며, 꽃받침의 형태를 일차적으로 고려했던 Hara의 분류 견해를 지지하였다.

주요어: 노루오줌속, ITS 염기서열, 분자 계통, 격리분포, 계통지리

ABSTRACT: *Astilbe* (Saxifragaceae) is a genus well known for its disjunctive distribution in Asia and eastern North America. In this study, we reconstructed a molecular phylogeny of the genus using the sequences of ITS regions of nuclear ribosomal DNA. A total of 17 species representing major lineage of *Astilbe* and closely related taxa were included in the phylogenetic analyses. We obtained a Bayesian phylogenetic tree in which *Saxifragopsis* was positioned as a sister group to *Astilbe*. The Japanese endemic species, *A. platyphylla* was the most basal lineage within the genus. This species is well known for its distinct morphological features such as unisexual flowers, apetal, and calyx with 7-11 lobes. Two species, *A. biternata*, a New World representative of the genus, and *A. rivularis* widely distributed in S. Asia, branched off early in the evolution of *Astilbe*. The remaining species formed a strongly supported core clade, which diverged into two robust geographical lineages: the first ("Japonica" clade) of species distributed in Japan, Taiwan, and Philippines and the other ("Rubra" clade), of taxa in China and Korea. The ITS phylogeny indicates that the Bering land bridges were the major route for the origin and dispersal of *A. biternata*. The two Taiwanese taxa and *A. philippinensis* were found to derive from the Japanese member, as the genus

*Author for correspondence: ydkim@hallym.ac.kr

advanced southwards. The ITS phylogeny suggests that apetalous originated independently at least two times within the genus. Our results do not support Engler's classification system of the genus based on the leaf type (simple vs. compound), but reaffirm Hara's taxonomic idea which primarily considered the features of calyx.

Keywords: *Astilbe*, ITS, molecular phylogeny, disjunct distribution, phylogeography

범의귀과(Saxifragaceae sensu stricto)에 포함되는 노루오줌속(*Astilbe* Buch. -Ham. ex D. Don)은 동아시아와 북미 동부에 국한되어 자라는 동아시아-북미동부 격리분포양상을 보이는 속으로(Li, 1952), 여기에는 한국을 비롯한 중국, 대만, 일본, 필리핀, 인도네시아 등지의 동아시아와 북미 동부에 분포하는 약 18종이 포함된다. 북미에는 *Astilbe biternata* Britt.가 분포하는데 학자에 따라 *A. biternata* var. *crenatilobata* Engl.를 별개의 종, *A. crenatilobata* (Engl.) Small로 분리하여 인식하기도 한다(Pan, 1995). 동아시아에서 가장 높은 종다양성을 보이는 일본에는 *A. platyphylla* Boiss.를 비롯한 10종이 분포하는데 이 중 *A. rubra* Hook. f. var. *rubra*를 제외한 9종이 일본 고유식물이다(Ohba, 2002). 중국 본토에는 *A. rivularis* D. Don, *A. macrocarpa* Knoll 등을 비롯한 5종이 분포하며(Pan and Ohba, 2001), 그 밖에 *A. khasiana* Hallier f.가 히말라야 지역에, *A. longicarpa* (Hayata) Hayata와 *A. macroflora* Hayata가 대만에, *A. pillippinensis* Henry가 필리핀 및 파푸아뉴기니에, *A. apoensis* Hallier f.가 필리핀에, *A. indica* (Blume) Backer가 인도네시아에 각각 분포하는 것으로 알려져 있다(Pan, 1995).

한편, 우리나라에는 총 8분류군의 노루오줌속 식물이 분포하는 것으로 알려져 있으나(Chung et al., 1983) 일부 분류군의 학명은 이명으로 처리되는 추세이다(Pan and Ohba, 2001). 현재 *A. microphylla* Knoll 및 *A. simplicifolia* Makino 등이 국내에 분포하는지는 확인되고 있지 않으며, 따라서 우리나라에는 노루오줌(*A. rubra* var. *rubra*), 숙은노루오줌(*A. koreana* Nakai), 섬노루오줌(*A. rubra* var. *taquetii* (Lév.) Koidzumii) 등 총 3 분류군이 자생하는 것으로 알려져 있다(Kim, 2007).

노루오줌속은 잎의 특징에 의해 단엽성인 sect. *Simplicifoliae*와 복엽성인 sect. *Compositae*로 세분되어 왔지만(Engler, 1930; Pan, 1995) 생식 기관의 특징에 의해 단성화성 계열인 ser. *Platyphylla*와 양성화성 계열인 ser. *Astilbe*, 두 계열로 분류되기도 한다(Hara, 1939; Ohba, 2002). 단엽성인 종은 복엽성인 종의 유형성숙(neoteny)에 따른 진화의 결과로 해석하는 경우도 있으나(Ohba, 2002), 잎 및 꽃의 형질에 근거한 분류체계와 형질진화에 대한 계통학적 검증은 아직까지 시도된 바가 없다.

총 4개의 cpDNA 마커의 염기서열을 분석하여 얻은 결과에 따르면 노루오줌속은 북미 서부에 분포하는 *Saxifragopsis*와 가장 가까운 계통 유연관계를 보이며 이 두 속은 *Boykinia* 그룹에 속하는 *Bolandra*, *Boykinia*, *Jepsonia*, *Sullivantia*

등과 근연관계인 것으로 나타났다(Soltis et al., 2001).

본 연구는 *Saxifragopsis* 및 *Sullivantia*를 외군(outgroup)으로 설정하여 핵 리보솜 DNA의 ITS(nrITS) 염기서열에 기초한 노루오줌속의 계통을 유추함으로써 (1) 노루오줌속의 분류체계를 검증하고, (2) 동아시아와 북미 동부에 격리분포하는 노루오줌속의 지리적 기원을 살펴보고, (3) 노루오줌속의 분류와 관련된 주요 형질의 진화를 고찰하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구를 위해 노루오줌속 식물 전체 18종 가운데 본 속을 분류학적 및 지리적으로 대표하는 14종(총 17개체)으로부터 ITS 염기서열 자료를 수집하였다(Table 1). 계통수의 근을 결정(rooting)하기 위해 기존의 연구결과(Soltis et al., 1996, 2001)에서 노루오줌속의 근연 속으로 밝혀진 *Saxifragopsis*와 *Sullivantia*의 nrITS 염기서열을 계통분석에 포함하였다.

2. 염기서열 결정

국내에서 채집된 식물의 경우 유식물의 연한 잎 5 g을 액체질소로 갈아 CTAB 방법(Doyle and Doyle, 1987)으로 DNA를 추출하였고, 이 total DNA를 1X TE buffer에 녹인 후 EtBr-CsCl 농도구배 초원심분리방법(60,000 rpm, 7시간) 및 투석법으로 정제하였다(Palmer, 1986). 외국에 분포하는 종의 경우 하버드 대학(A, GH), 미조리 식물원(MO), 동경대(TI) 등의 표본관 등에 소장된 석엽표본으로부터 DNA를 추출하였으며 이 과정에는 Loockerman and Jansen(1996)의 방법이 이용되었다. Polymerase chain reaction (PCR)은 주형 DNA 20-50 ng, 10X buffer 10 µl, 200 µM의 dNTPs 8 µl, 50 pmol의 프라이머 각 1 µl, 2.5 units의 ExTaq (Takara Co.) 및 증류수가 포함된 총 100 µl의 반응액을 95°C에서 3분 동안 1차 해리한 후, 해리 95°C 1분, annealing 50°C 1분, extension 72°C 1분으로 구성된 반응을 30회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 하여 수행하였다. PCR 반응액은 QIAquick Gel extraction kit (Qiagen Inc., Valencia, CA)로 정제하였으며 이를 통해 얻어진 DNA를 염기서열 결정에 사용하였다. PCR과 염기서열 결정에는 White et al. (1990)에 의해 제작된 프라이머를 사용하였으나 프라이머 ITS1의 경우 다음과 같이 밀출된 두 개의 염기를 달리

Table 1. Voucher information, collection site, geographic distribution, and GenBank accession numbers of the species used for phylogenetic analysis of *Astilbe*.

Taxon	Voucher information / Collection site	Geographic distribution	GenBank accession numbers (ITS 1, 2)
<i>Astilbe platyphylla</i> Boiss.	<i>Ko. Ito. s.n.</i> (SAPS) / Japan, Hidaka pref.	Japan (Hokkaido)	FJ653621, FJ653638
<i>A. japonica</i> (Morr. & Decne.) A. Gray	<i>K. Seto 30390</i> (A) / Japan, Mie pref., Kosohara	Japan	FJ653622, FJ653639
<i>A. okuyamae</i> Hara	<i>H. Hara s.n.</i> (TI) / Japan, Tokyo pref.	Japan	FJ653623, FJ653640
<i>A. rubra</i> Hook. f. var. <i>rubra</i> #1	<i>Y.-D. Kim A228</i> (HHU) / Korea, Jeolla-Namdo	China/Japan/Korea	FJ653624, FJ653641
<i>A. rubra</i> Hook. f. var. <i>rubra</i> #2	<i>Y.-D. Kim A226</i> (HHU) / Korea, Jeolla-Namdo	China/Japan/Korea	FJ653625, FJ653642
<i>A. koreana</i> Nakai #1	<i>Y.-D. Kim A244</i> (HHU) / Korea, Jeolla-Namdo	Korea	FJ653626, FJ653643
<i>A. koreana</i> Nakai #2	<i>Y.-D. Kim A225</i> (HHU) / Korea, Kangwondo	Korea	FJ653627, FJ653644
<i>A. philippinensis</i> Henry	<i>R.D. Hoodgland & Pullen 6057</i> (A) / Papua New Guinea, W. Highlands	Philippine, Papua New Guinea	FJ653628, FJ653645
<i>A. formosa</i> (Nakai) Nakai	<i>K. Degrichi 4048</i> (A) / Japan, Gifu pref.	Japan, Gifu pref.	FJ653629, FJ653646
<i>A. rivularis</i> D. Don	<i>D.E. Boufford & B. Bartholomew 24561</i> (A) / China, Sichuan	China & S.E. Asia (incl. India)	FJ653630, FJ653647
<i>A. longicarpa</i> (Hayata) Hayata	<i>T.G. Lammers 8580</i> (MO) / Taiwan, Taipei Hsien	Taiwan	FJ653631, FJ653648
<i>A. macroflora</i> Hayata	<i>Hsiu-Lan Ho 594</i> (MO) / Taiwan, Nantou Hsien	Taiwan	FJ653632, FJ653649
<i>A. simplicifolia</i> Makino	<i>Suzuki 294</i> (A) / Japan, Kanagawa pref.	Japan	FJ653633, FJ653650
<i>A. microphylla</i> Knoll	<i>Takashi Koga 170</i> (A) / Japan, Miyagi pref.	Japan	FJ653634, FJ653651
<i>A. thunbergii</i> Miquel	<i>J. Ohwi & K. Okamoto s.n.</i> (A) / Japan, Nagano pref.	Japan	FJ653635, FJ653652
<i>A. biternata</i> Britton	<i>E.E. Berkeley s.n.</i> (A) / USA, W. Verginia	E. USA	FJ653636, FJ653653
<i>Saxifragopsis fragarioides</i> (Green) Small	<i>Hitchcock & Martin 5316a</i> (GH) / USA, California	W. USA	FJ653637, FJ653654
<i>Sullivantia oregana</i> Wats.	<i>Grable 11214</i> (WS) / USA, Oregon (Soltis et al, 1996)	W. USA	U51258 (ITS 1 & 2)
<i>S. hapemanii</i> (Coul. & Fisher) Coul.	<i>Mosley 2518</i> (WS) / USA, Idaho (Soltis et al, 1996)	W. USA	U51259 (ITS 1 & 2)

하는 primer (5'-GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3')를 별도로 제작하여 사용하였다. 염기서열 결정을 위해 ABI PRISM 377 (PE Applied Biosystems) 염기서열 자동분석기를 이용하였다.

3. 염기서열 분석 및 계통수 제작

염기서열은 Clustal W ver. 1.6 (Thompson et al., 1995)를 이용하여 정렬하였고(초기 설정 값 적용), 정렬 결과 발생한 gap은 이후 분석 과정에서 결여형질(missing characters)로 처리하였다. 염기서열의 분류군간 계통유전학적 거리(sequence distance)는 PAUP* ver. 4.0b (Swofford, 2002)을 이용해 추산하였으며 이 과정에서 GTR 모델(Tavar. 1986)을 적용하였다.

계통분석은 파시모니(Parsimony), Neighbor-Joining (NJ), Maximum Likelihood, 베이스 추론(Bayesian inference) 방법을 이용하여 수행하였다. 파시모니 분석은 Heuristic search (10 random addition, MULPARS, TBR option 적용)를 이용하였고, NJ 및 Maximum Likelihood 분석에서는 GTR 모델(Tavar. 1986)을 적용하였다. 베이스 추론 분석을 위해서는 MrBayes 3 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003)을 이용하였는데, 이 과정에서 GTR 모델(Tavar. 1986)을 적용하였으며, 각

Markov chain은 random tree에서 시작했고(chain 진행과 priors는 초기 설정 값 적용), 2,000,000 generation을 반복하였으며, burn-in sample(초기 500,000 generation)을 제거한 후 posterior probabilities (PP) 산출하고 합의계통수(consensus tree)를 제작하였다. 계통수의 각 분계군(clade)의 신뢰도를 평가하기 위한 부트스트랩 값(Felsenstein, 1985)은 위에 제시된 파시모니 분석 방법을 통해 구하였다(PAUP* ver. 4.0b; Swofford, 2002).

결 과

1. ITS 염기서열 분석

노루오줌속의 종에서 ITS 1과 ITS 2 지역의 길이는 각각 245-281 bp와 249-259 bp인 것으로 밝혀졌다(Table 2). 염기서열 정렬 결과 *A. platyphylla*의 ITS 1 지역에 36 bp 결실이 확인되었으며, 이로 인해 노루오줌속 내에서 ITS 1 지역이 ITS 2 지역에 비해 염기서열 길이 변이 폭이 더 컸다. ITS 지역 전체 길이는 총 572 bp로 정렬되었으며 이것을 가지고 계통분석을 수행하였다(정렬된 자료는 교신저자에게 의뢰하여 얻을 수 있음). 외군(outgroup)을 제외하고, 노루오줌속의 종간 염기서열의

Table 2. Size (bp) of ITS regions of the species of *Astilbe* and related genera.

Taxon	Abbr.	ITS 1	ITS 2	Total
<i>Astilbe platyphylla</i> Boiss.	Apla	245	252	497
<i>A. japonica</i> (Morr. & Decne.) A. Gray	Ajap	275	252	527
<i>A. okayamae</i> Hara	Aoku	274	252	526
<i>A. rubra</i> Hook. f. var. <i>rubra</i> #1	Arub1	277	259	536
<i>A. rubra</i> Hook. f. var. <i>rubra</i> #2	Arub2	277	257	534
<i>A. koreana</i> Nakai #1	Akor1	276	257	533
<i>A. koreana</i> Nakai #2	Akor2	277	258	535
<i>A. philippinensis</i> Henry	Aphi	274	252	526
<i>A. formosa</i> (Nakai) Nakai	Afor	274	249	523
<i>A. rivularis</i> Buch.-Ham. ex D. Don	Ariv	281	250	531
<i>A. longicarpa</i> (Hayata) Hayata	Alon	279	253	532
<i>A. macroflora</i> Hayata	Amac	275	254	529
<i>A. simplicifolia</i> Makino	Asim	273	251	524
<i>A. microphylla</i> Knoll	Amic	276	255	531
<i>A. thunbergii</i> Miquel	Athu	276	252	528
<i>A. biternata</i> Britton	Abit	279	252	531
<i>Saxifragopsis fragarioides</i> (Green) Small	Sfra	274	244	518
<i>Sullivantia oregana</i> Wats.	Sore	278	260	538
<i>S. hapemanii</i> (Coul. & Fisher) Coul.	Shap	278	260	538

계통유전학적 거리(sequence distance)는 *A. longicarpa*와 *A. macroflora* 사이의 거리가 0.96로 최소였고, *A. biternata*와 *A. philippinensis* 사이의 거리는 20.64로 가장 컸다(Table 3).

2. 계통분석

ITS 염기서열을 베이스 추론법(Bayesian inference method)으로 분석하여 계통수를 제작한 결과 *Saxifragopsis*와 노루오줌속의 자매군 관계가 매우 높은 통계적 수치(부트스트랩 값, 100%; PP, 1.0)로 확인되었다. 노루오줌속 내에서는 *A. platyphylla*가 가장 먼저 갈라져 나왔고, 이후 *A. rivularis*-*A. biternata*와 나머지 핵심군(core clade)으로 분리되었다. *A. rivularis*-*A. biternata*의 자매군 관계에서 PP가 0.9였으나, 부트스트랩 값은 80% 이하로 낮았다. 반면에 핵심군은 매우 확고한 단계통군을 형성하였다(부트스트랩 값, 97%; PP, 1.0). 핵심군 내에서는 *A. rubra* var. *rubra*와 *A. koreana* ("Rubra" clade)가 자매군 관계를 이루며 강한 단계통군을 형성하였으며, 이들을 제외한 나머지 종들 역시 단계통군("Japonica" clade)을 이루었다(부트스트랩 값, 83%; PP, 1.0). 대만에 분포하는 *A. longicarpa*와 *A. macroflora*는 자매군 관계를 보였고 *A. philippinensis*는 이들과 매우 가까운 유연관계를 보였다(부트스트랩 값, 96%; PP, 1.0). 그러나 핵심군 내에 있는 나머지 일본 고유종들의 상호 유연관계는 높은 통계적 지지를 받지 못했다. 단엽성 식물인 *A. simplicifolia*는 핵심군 내에서 일본산 분류군과 함께 자리하였다.

동일한 자료를 파시모니, NJ, Maximum likelihood 방법으로 분석하여 얻은 계통수는 일부 일본산 종의 관계를 제

Table 3. Pairwise sequence distances between the species of *Astilbe* and related genera. Absolute distances are shown above the diagonal, and sequence divergence values ($\times 100$) obtained by GTR method (Tavaré, 1986) are below the diagonal. Names of each accession are abbreviated as first capital letter of the genus name and first three letters of the species epithet (refer Table 2 for taxon abbreviation).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1. Shap	-	12	118	112	134	125	120	120	120	125	127	123	114	121	121	123	121	121	121
2. Sore	2.28	-	122	114	137	129	122	122	124	130	130	125	118	122	124	127	125	125	125
3. Sfra	28.80	30.07	-	65	98	91	92	92	87	85	94	88	85	81	85	86	84	84	84
4. Apla	28.33	28.89	15.61	-	68	70	61	61	57	60	62	59	60	57	59	58	56	56	56
5. Abit	33.45	34.36	23.05	15.86	-	84	88	86	76	79	89	78	83	75	74	84	82	82	83
6. Ariv	30.98	32.15	21.60	16.63	18.77	-	77	74	71	71	80	72	76	68	74	73	71	71	71
7. Amac	29.17	29.75	21.91	14.29	20.40	16.98	-	5	23	27	18	26	23	26	18	37	35	36	37
8. Alo	29.15	29.73	22.02	14.30	19.72	16.20	0.96	-	24	27	15	27	23	27	18	38	36	37	38
9. Ajap	29.43	30.56	20.62	13.25	17.27	15.52	4.54	4.75	-	21	27	17	18	21	16	30	28	28	29
10. Afor	31.03	32.76	20.21	14.16	18.06	15.62	5.43	5.45	4.17	-	29	12	25	16	11	30	28	28	29
11. Apil	31.59	32.43	22.63	14.51	20.64	17.82	3.55	2.94	5.39	5.90	-	28	27	30	26	42	40	40	41
12. Athu	30.14	30.56	20.85	13.75	17.63	15.80	5.16	5.38	3.32	2.37	5.60	-	21	12	13	27	25	25	26
13. Amic	27.24	28.38	19.98	14.00	18.76	16.64	4.53	4.53	3.52	5.00	5.42	4.11	-	19	18	35	33	33	34
14. Aoku	29.67	29.92	19.05	13.25	16.77	14.82	5.19	5.42	4.13	3.18	6.07	2.33	3.72	-	16	25	23	23	24
15. Asim	29.57	30.58	20.20	13.88	16.65	16.35	3.53	3.55	3.14	2.16	5.28	2.55	3.52	3.17	-	29	27	28	29
16. Arub1	30.32	31.58	20.48	13.61	19.32	16.03	7.55	7.78	6.05	6.12	8.69	5.41	7.07	5.02	5.88	-	4	8	8
17. Arub2	29.58	30.82	19.82	13.04	18.69	15.48	7.10	7.32	5.63	5.68	8.23	4.99	6.63	4.59	5.44	0.76	-	4	4
18. Akor1	29.46	30.70	19.74	12.95	18.58	15.40	7.28	7.50	5.61	5.65	8.19	4.98	6.61	4.58	5.64	1.53	0.76	-	4
19. Akor2	29.42	30.66	19.75	12.97	18.89	15.39	7.50	7.72	5.82	5.86	8.42	5.17	6.82	4.78	5.84	1.53	0.76	0.76	-

Fig. 1. Bayesian tree based on nrITS sequences of 14 species of *Astilbe* and some related species of *Sullivantia* and *Saxifragopsis*. Bootstrap values over 80% and Bayesian PP (Posterior Probabilities) over 0.8 are shown below and above the branches, respectively.

Fig. 2. A possible dispersal route of the major lineages of *Astilbe*. "Rubra" clade - *A. koreana*, *A. rubra*. "Japonica" clade - *A. formosa*, *A. japonica*, *A. microphylla*, *A. okuyamae*, *A. simplicifolia*, *A. thunbergii*, *A. longicarpa*, *A. macroflora*, *A. philippinensis*.

외하고 Fig. 1과 동일한 결과를 보였다(data not presented).

고 찰

노루오줌속의 형태형질 진화와 분류

NrITS 염기서열 분석을 통해 제작된 계통수는 노루오줌속의 분류와 형태형질 진화를 이해하는 데 중요한 단서를 제공하였다. 우선, *Astilbe*와 *Saxifragopsis*의 자매군(sister group) 관계가 매우 높은 통계적 수치로 확인되었는데(부트스트랩 값, 100; PP, 1.00) 이는 기존의 연구 결과와 일치하는 것이다(Soltis et al., 2001). *Astilbe*는 ITS 계통수에서 단계통군으로 확인되었으나, 이를 지지하는 통계적 수치인 부트스트랩 값과 PP는 각각 84%와 0.87에 그쳐 비교적 낮았다. PP가 분계군(clade)의 지지도를 과장한다는 특징을 고려하면(Huelsenbeck et al., 2002) 0.87이라는 PP 값은 비교적 작은 값이며, 이는 계통수 제작에 활용된 ITS의 염기서열이 지니는 높은 비상동유사성(homoplasy)이 반영된 결과로 생각된다.

노루오줌속의 분류체계와 관련하여 잎의 종류에 따라 단엽성 종인 *Astilbe simplicifolia*를 sect. *Simplicifoliae*로, 복엽성인 나머지 분류군을 sect. *Compositae*로 분류한 Engler and Prantl(1930)의 분류체계와 이를 일부 수정한 Pan (1995)의 분류학적 견해는 ITS 자료에 의해 지지되지 않았다. Ohba(2002)는 *A. simplicifolia*가 유형성숙(neoteny)을 통해 진화되었다고 주장하면서, 노루오줌속의 분류에 있어서 꽃받침열편의 수와 꽃잎의 유무 및 식물의 성을 중요시하여, 꽃받침열편의 수가 7-11개이면서 꽃잎이 없고 자웅이주성인 *A. platyphylla*를 ser. *Platyphyllae*로, 꽃받침열편의 수가 5개인 나머지 종을 ser. *Astilbe*로 분류한 Hara(1939)의 견해를 따른 바 있다. 본 연구의 nrITS 계통수에서 *A. platyphylla*가 노루오줌속 내에서 가장 초기에 분화된 종으로 밝혀져 Hara(1939)의 견해 및 이를 지지한 Ohba(2002)의 형질 진화 해석을 지지하였다. 한편, *Saxifragopsis*의 꽃은 꽃받침열편이 5개인데(Small, 1896), 이는 노루오줌속의 분화 초기에 *A. platyphylla*에서 꽃받침열편의 수가 7-11개로 증가하였음을 말해준다.

노루오줌속의 진화에서 비교적 초기에 분화된 *A. biternata*와 *A. rivularis*를 제외한 나머지 대부분의 종은 매우 확고한 핵심군(core clade)을 형성하였는데, 자웅이주성이고 꽃잎이 잘 발달하지 않은 두 종과 달리 핵심군에 속하는 종들은 모두 양성화주성이고 꽃잎이 잘 발달하는 특징을 공유하고 있다(Fig. 1). 노루오줌속의 자매속(sister genus)인 *Saxifragopsis*가 양성화주성이며 꽃잎이 있는 반면에, 노루오줌속 내에서 초기에 갈라져 나온 진화계열인 *A. platyphylla*, *A. biternata*와 *A. rivularis*가 자웅이주성이며 꽃잎이 없다는 점을 고려할 때, 본 연구 결과는 노루오줌속의 출현 과정에서 자웅이

주성으로 진화가 먼저 일어난 후 양성화주성으로 역진화가 일어났으며, 꽃잎 역시 초기 진화 과정에서 사라진 이후, 역진화에 의해 다시 생겨났다는 해석을 가능케 한다.

노루오줌속의 계통지리

동아시아와 북미에 격리 분포하는 식생은 신생대 북반구에 발달했던 온대림이 지질 및 기후의 변화 과정을 거치면서 잔존하여 생성된 것으로 잘 알려져 있다(Wen, 1999). 노루오줌속과 *Saxifragopsis*가 포함되는 *Boykinia* 그룹(Soltis et al., 2001)에 속하는 분류군의 경우 *Telesonix*, *Jepsonia*, *Saxifragopsis*, *Sullivantia*, *Bolandra*는 북미에 분포하고, *Boykinia*만이 대부분의 종이 아시아에, 일부 종이 북미 서부에 분포하는 것으로 알려져 있다(Mabberley, 1987). 노루오줌속 및 자매군인 *Saxifragopsis*의 현재 분포와 ITS 계통수를 함께 고려해보면 북반구에 널리 분포하던 두 속의 조상 종이 아시아 동부와 북미 서부 집단으로 갈라져 북미 서부의 집단은 *Saxifragopsis*로, 아시아 집단은 노루오줌속의 공통조상으로 각각 분화한 것으로 해석된다. 북미 동부에 격리 분포하는 *A. biternata*의 경우 계통수상에서의 위치와 branch 길이로 볼 때, 최근에 분화했을 가능성보다는 노루오줌속의 진화 초기에 북미 동부로 건너갔을 가능성이 더 크다고 볼 수 있다. 신생대에 아시아와 북미 사이에 베링 육교(Bering land bridges)를 통한 식물의 이동이 빈번했음을 고려하면(Wen, 1999) 이 종 역시 이 경로를 통해 북미 동부로 이동했을 가능성이 높으며, Pan(1995)도 이러한 가능성에 대해 언급한 바가 있다. 그러나 신생대 초기에 형성된 로키산맥이 북미대륙에서 서쪽에서 동쪽으로 식물이 이동하는 것을 방해했을 가능성과 북대서양 육교(North Atlantic land bridges)가 신생대에도 일부 작동하였기에(Tiffney, 1985a, b) 아시아에 있던 노루오줌속 식물이 Tethys Seaway를 따라 유럽을 거쳐 북미대륙의 동쪽으로 이동했을 가능성도 완전히 배제할 수는 없다. 그러나 현재 유럽 지역에서 *Astilbe*의 화석이 발견되었다는 기록은 확인할 수 없었다.

노루오줌속의 ITS 계통수 및 현재의 지리적 분포에 의하면, 핵심군에 속하는 조상 종이 남쪽으로 분포역을 확대하면서 여러 종으로 분화된 것으로 추정된다. 본 속은 특히 일본에서 가장 심한 종분화 과정을 거쳤으며, 이중 일부가 대만 및 필리핀, 파푸아 뉴기니 등으로 남하하면서 분화한 것으로 추정된다.

ITS 염기서열은 노루오줌속의 분류체계 및 형질진화와 식물 계통지리적 고찰에 중요한 단서를 제공하였으나 핵심군 내의 일부 중간 유연관계는 명확히 규명하지 못했다. 따라서 보다 구체적인 계통학적 논의를 위해서는 계통학적 유용성이 보다 높은 형질이나 DNA 구간을 추가로 분석할 필요가 있다. 뿐만 아니라 본 연구에서 누락된 *A. macrocarpa* 등 일부 분류군을

연구에 추가하고, *A. rivularis*, *A. rubra*, *A. thunbergii* 등과 같이 형태적 변이가 매우 큰 종의 경우 더 많은 수의 개체를 포함하여 보다 폭넓은 계통학적 및 식물지리학적 연구를 수행할 필요가 있다.

사 사

본 논문의 심사를 맡아주신 심사자들에 대해 사의를 표합니다. 본 연구는 국립수목원 임업연구개발사업의 연구비에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Chung, Y. H., B. Y. Sun and Y. C. Chung. 1983. Monographic study of the endemic plants in Korea III. Taxonomic and interspecific relationships of the genus *Astilbe*. Kor. J. Bot. 26: 73-9 (in Korean).
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.
- Engler, A. and K. Prantl. 1930. Die natrlichen Pflanzenfamilien, Band 18a, Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. Pp. 112-115.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Hara, H. 1939. *Astilbe*. In Nova Flora Japonica 3. Nakai, T. and M. Honda (eds.), Sanseido, Tokyo. Pp. 6-27.
- Huelsenbeck, J. P., B. Larget, R. E. Miller and F. Ronquist. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. Syst. Biol. 51: 673-688.
- Kim, Y. D. 2007. *Astilbe*. In The Genera of Vascular Plants of Korea. Park, C.-W. (ed.), Academy Publishing Co., Seoul. Pp. 523-524.
- Loockerman, D. J. and R. K. Jansen. 1996. The use of herbarium material for DNA studies. In Sampling the green world. Stussey, T.F. and S. Sohmer (eds.), Columbia University Press, New York. Pp. 205-220.
- Li, H.-L. 1952. Floristic relationships between eastern Asia and eastern North America. Trans. Am. Philos. Soc. 42: 371-429.
- Mabberley, D. J. 1987. The plant book. Cambridge Univ. Press, Cambridge. P. 50.
- Ohba, H. 2002. *Astilbe*. In Flora of Japan. Vol. II. Iwatsuki, K. et al. (eds.), Kodansha Ltd, Tokyo. Pp. 41-46.
- Palmer, J. D. 1986. Isolation and structural analysis of chloroplast DNA. Meth. Enzymol. 118: 167-186.
- Pan, J.-T. 1995. A Study on the Tribe Astilbeae Miq. (Saxifragaceae). Acta Phytotax. Sinica. 33: 390-402 (in Chinese).
- Pan, J.-T. and H. Ohba. 2001. *Astilbe*. In Flora of China Vol. 8. Wu, Z.-y. and P.H. Raven, MBG press, St. Louis. Pp. 274-276.
- Ronquist, F. and J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19: 1572-1574.
- Small, J. K. 1896. Two new genera of Saxifragaceae. Bull. Torrey Bot. Club 23: 18-20.
- Soltis, D. E., L. A. Johnson and C. Looney. 1996. Discordance between ITS and chloroplast topologies in the *Boykinia* group (Saxifragaceae). Syst. Bot. 21: 169-185.
- Soltis, D. E., R. K. Kuzoff, M. E. Mort, M. Zanis, M. Fishbein, L. Hufford, J. Koontz and M. K. Arroyo. 2001. Elucidating deep-level phylogenetic relationships in Saxifragaceae using sequences for six chloroplastic and nuclear DNA regions. Ann. Missouri Bot. Gard. 88: 669-693.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) ver. 4.0b, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tavar, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences. Lect. Math. Life Sci. 17: 57-86.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson. 1995. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22: 4673-4680.
- Tiffney, B. H. 1985a. Perspectives on the origin of the floristic similarity between eastern Asia and eastern North America. J. Arnold Arbor. 66: 73-94.
- Tiffney, B. H. 1985b. The Eocene North Atlantic Land Bridge: Its importance in tertiary and modern phytogeography of the northern hemisphere. J. Arnold Arbor. 66: 243-273.
- Wen, J. 1999. Evolution of eastern Asia and eastern North America disjunct distributions in flowering plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 30: 421-455.
- White, T. J., T. Bims, 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.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White (eds), Academic Press, Inc., San Diego. Pp. 315-322.