



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

한국산 홍조 붉은잎속 (*Callophyllis*)의

종 다양성 및 계통학적 유연관계

Species diversity and phylogenetic relationships of the red algal  
genus *Callophyllis* (Kallymeniacea, Gigartinales) from Korea

제주대학교 대학원

생물학과

이 형 우

2015년 2월

# 한국산 홍조 붉은잎속 (*Callophyllis*)의 종다양성 및 계통학적 유연관계

지도교수 김 명 속

이 형 우

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2015년 2월

이형우의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 \_\_\_\_\_ (인)

위 원 \_\_\_\_\_ (인)

위 원 \_\_\_\_\_ (인)

제주대학교 대학원

2015년 2월

# 목 차

Abstract .....	iii
List of Tables .....	v
List of Figures .....	vi
I. 서론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	6
1. 재료의 채집 및 보관 .....	6
2. 형태형질 분석 .....	11
3. DNA 염기서열 및 분자계통 분석 .....	12
III. 결과 .....	16
1. 한국산 붉은잎속( <i>Callophyllis</i> )의 분자형질 분석 및 계통학적 유연관계 .....	16
1.1. 미토콘드리아 COI-5P 유전자 분석 및 종 경계 설정 .....	16
1.2. 엽록체 <i>rbcL</i> 유전자 분석 및 계통학적 유연관계 .....	21
1.3. 핵 SSU rDNA 유전자 분석 및 계통학적 유연관계 .....	25

2. 한국산 붉은잎속( <i>Callophyllis</i> )의 형태형질 분석 .....	28
2.1. <i>Callophyllis adhaerens</i> Yamada .....	29
2.2. <i>Callophyllis cartilaginea</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	32
2.3. <i>Callophyllis hayamensis</i> Yamada .....	35
2.4. <i>Callophyllis japonica</i> Okamura .....	38
2.5. <i>Callophyllis mollitia</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	41
2.6. <i>Callophyllis repens</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	45
2.7. <i>Callophyllis serratifolia</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	48
2.8. <i>Callophyllis undulata</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	52
IV. 고찰 .....	55
V. 결론 .....	64
VI. 참고문헌 .....	66

## Abstract

The genus *Callophyllis*, mainly distributed in temperate region, is the largest red algal genus in the family Kallymeniaceae including 60 species in the world. Since species delimitation of the genus *Callophyllis* has not been designated yet, there are the huge conflict of phylogenetic relationships. In Korea, there are recorded six *Callophyllis* species, but it is very difficult to identify species accurately because of the imprecise species boundary. The aim of the present study is to resolve species diversity and phylogenetic relationships of the genus *Callophyllis* from Korea. To perform morphological observations and molecular analyses, samplings were carried out in the southern coastline of Korean peninsula including Jeju Island. In addition, we carried out the collection of three species from type localities in Japan. As a result of molecular analyses using nuclear SSU rDNA, plastid *rbcL* and mitochondrial COI-5P genes, eight species of the genus *Callophyllis* were confirmed from Korea: *C. adhaerens* Yamada and *C. japonica* Okamura, previously reported species in Korea; *C. hayamensis* Yamada as an unrecorded species; *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov., *C. repens* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov. and *C. undualta* sp. nov. as newly discovered cryptic ones. There are no Korean specimens that matched *C. adnata* and *C. crispata* from Japan. *C. adhaerens* has adherent and irregularly subdichotomous thallus with slightly obtuse margin. *C. japonica* is characterized by erect and subdichotomous thallus with sharp branchlets laterally, and form a genetic group with the Japanese species with 0.3% and 1.0% intraspecific divergence in *rbcL* and COI-5P analyses, respectively. *C. hayamensis*, having flattened and flabellate thallus with short stipe arising from discoidal holdfast, was identified morphologically by comparing with holotype specimen and literature. *C. cartilaginea* sp. nov. is erect, cartilaginous and di- or trichotomously branched in a bushy clump with spinose protuberances at smooth margin. *C.*

*mollitia* sp. nov. has flattened, fan-like and tenuously membranous thallus with roundish or bluntly dissected apex. *C. repens* sp. nov. has flattened, slightly cartilaginous and creeping thallus attached by a discoidal holdfast and minute radical discs. *C. serratifolia* sp. nov., known as *C. crispata* in Korea, has dichotomously branched thallus with serrate margin. Procarp has three-celled carpogonial branch borne on supporting cell connected subsidiary cells. *C. undulata* sp. nov. has flattened and membranous thallus with pleated and crenulate margin. In conclusions, we recognized that the species diversity of *Callophyllis* has been underestimated from Korea, as well as the northwestern Pacific region. The species boundary of the genus *Callophyllis*, which is revealed from Korean and Japanese specimens, make us understand the phylogenetic relationships of the genus *Callophyllis* distributed from northwestern Pacific region. Further, it will provide the base of a critical resolution to revise the taxonomy of the genus *Callophyllis*, and will be a cornerstone to revealing the phylogenetic affinity distributed in both hemispheres.

## List of Tables

<b>Table 1.</b> Collection information and GenBank accession number of <i>Callophyllis</i> specimens analyzed in this study. ....	8
<b>Table 2.</b> Primer for DNA amplification and sequencing nuclear SSU rDNA, plastid <i>rbcL</i> and mitochondrial COI-5P genes. ....	14
<b>Table 3.</b> Thermal cycling conditions of polymerase chain reaction for SSU rDNA, <i>rbcL</i> and COI-5P genes. ....	15
<b>Table 4.</b> Genetic information from nuclear SSU rDNA, plastid <i>rbcL</i> and mitochondrial COI-5P genes. ....	19
<b>Table 5.</b> A comparison of taxonomic characteristics among the species of <i>Callophyllis</i> including five new species. ....	62



## List of Figures

<b>Fig. 1.</b> Collection sites map of <i>Callophyllis</i> specimens from Korea and Japan. Collection sites showed as the filled circles in the map. Arrow mark indicates the type locality of <i>C. adnata</i> , <i>C. crispata</i> and <i>C. japonica</i> . .....	7
<b>Fig. 2.</b> Unrooted phylogram generated using neighbor-joining analysis from the cytochrome oxidase I (COI) sequences of <i>Callophyllis</i> specimens collected in this study (taxa in bold) and acquired from GenBank (taxa not bold). .....	20
<b>Fig. 3.</b> Phylogenetic tree of the genus <i>Callophyllis</i> species (bold is collected in this study and normal is acquired from GenBank) based on <i>rbcL</i> sequences inferred from maximum likelihood analysis. ....	24
<b>Fig. 4.</b> Maximum likelihood phylogenetic tree of the red algal genus <i>Callophyllis</i> species estimated using SSU rDNA gene sequences. ....	27
<b>Fig. 5.</b> <i>Callophyllis adhaerens</i> Yamada .....	31
<b>Fig. 6.</b> <i>Callophyllis cartilaginea</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	34
<b>Fig. 7.</b> <i>Callophyllis hayamensis</i> Yamada .....	37
<b>Fig. 8.</b> <i>Callophyllis japonica</i> Okamura .....	40
<b>Fig. 9.</b> <i>Callophyllis mollitia</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	44
<b>Fig. 10.</b> <i>Callophyllis repens</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	47
<b>Fig. 11.</b> <i>Callophyllis serratifolia</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	51
<b>Fig. 12.</b> <i>Callophyllis undulata</i> H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. ....	54

# I. 서 론

홍조류 돌가사리목(Gigartinales)의 붉은땀띠과(Kallymeniaceae)에 속하는 붉은 잎속(*Callophyllis*)은 칠레산 *Callophyllis variegata* (Bory de Saint-Vincent) Kützing와 북대서양 유럽산 *C. laciniata* (Hudson) Kützing을 기반으로 하여 설립된 분류군으로(Kützing 1843), 주로 온대해역에 분포하며(Arakaki et al. 2011), 전 세계 60종이 보고되어 있는(Guriy and Guiry 2014) 큰 분류군이다. 현재 북서태평양 연안에는 국내 6종(Kang 1968; Lee and Kang 2001; Lee 2008), 일본 8종(Yoshida 1998), 중국 3종(Xia 2004)이 분포하는 것으로 보고되어 있다.

붉은잎속(*Callophyllis*)은 붉은 색을 띠는 막질(membranous) 또는 부드러운 연골질(cartilaginous) 엽상체(thallus)가 기부로부터 직립하거나 납작하게 옆으로 누워 자라며, 부채꼴 형태로 3-5회 두 갈래로 분지하면서 엽상체 가장자리가 주름지거나 톱니모양의 돌기가 나타나는 외형적인 특징과 1-3열의 피층(cortex)과 커다란 원형의 수세포(medullary cell)로 이루어지는 내부구조를 갖는다(Norris 1957). 사분포자체는 배우체의 형태와 같고 사분포자낭은 십자형 분열(crucially divided)을 한다(Wormersley and Norris 1971). 또한 암배우체에서 낭과(cystocarp)는 종에

따라 엽상체의 표면에 산재하거나 엽체의 가장자리(marginal portion), 엽상체 말단 또는 측면에 자라는 유한지 등 특정한 부위에 형성된다(Norris 1957).

붉은잎속(*Callophyllis*)은 Gigartineae에 속하는 족(tribe) 단위의 Kallymenieae가 설립되면서 *Kallymenia* J. Agardh와 *Polycoelia* J. Agardh와 함께 Kallymenieae에 편입되었다(Norris 1957). 이후 Kallymenieae는 Kylin (1928)에 의해 과(family)로 승격되었고, 현재 붉은땀띠과(Kallymeniaceae)의 27속 중 대표적인 분류군으로 자리하고 있다. 붉은땀띠과의 속(genus)들은 암생식기관(female reproductive structure) 발달 시, 전과체(procarp)의 형성 유무에 따라 두 그룹으로 분류되는데(Norris 1957), 붉은잎속은 태원열(carpogonial branch)의 지지세포(supporting cell)가 수정 후 조세포(auxiliary cell)의 기능을 수행하여 지지세포와 보조세포(subsidiary cell)가 융합세포(fusion cell)를 형성하여 전과체를 형성하는 procarpic 형(또는 *Callophyllis* type)을 지닌다(Norris 1957).

붉은잎속은 기본적으로 엽상체 및 정단부의 형태, 분지패턴과 엽상체 가장자리의 주름구조나 돌기의 형태를 기준으로 종을 동정해왔다. 그러나 지역별로 엽상체의 형태적 변이 범위가 크고 비정형적인 분지패턴으로 인하여 형태적 형질만을 기준으로 종의 경계를 설정하는데 많은 어려움이 있다. 그러므로 붉은잎속 분류군의 보다 정확한 종의 경계를 설정하여 종의 실체를 확인하기 위해 최근 DNA 유전자 분

석 연구가 이루어져 왔다. Harper와 Saunders (2002)는 핵의 LSU rRNA 유전자 마커를 이용하여 북동태평양에 분포하는 붉은잎속을 분석한 결과, 붉은잎속이 붉은땀띠과 내에서 독립된 단계통군을 형성하는 것을 밝히면서 캘리포니아와 칠레에 보고된 *C. pinnata*가 각각 다른 종임을 인지하였다. 또한 기존에 *C. cristata*로 알려진 종이 *Euthora cristata*임을 밝히고 *C. firma*와 *C. chilensis*를 *Pugetia*로 재분류하였다(Harper and Saunders 2002). 그러나 핵의 LSU rRNA가 엽록체의 *rbcL*에 비하여 종 해상력이 떨어짐을 지적하였다(Harper and Saunders 2002). Arakaki 등(2011)은 *rbcL* 염기서열 분석을 통하여 기준종인 *C. variegata* 및 다른 붉은잎속 분류군들 간의 분류학적 위치를 규명하고, *C. conceptionensis* 및 *C. macrostiolata*를 신종 보고하였다. Clarkston과 Saunders (2012)는 미토콘드리아의 COI-5P 유전자 마커를 이용한 DNA 바코딩 분석을 통하여 *C. okamurae*를 *Pugetia*로 재분류하고, Harper와 Saunders (2002)의 LSU rRNA 분석에 의해 붉은잎속에서 *Pugetia*로 재분류되었던 *P. firma*와 *P. chilensis*를 새로이 설립시킨 *Salishia*속으로 재분류하면서 *Salishia firma*를 기준종으로 하였다. 이후 북동태평양에 분포하는 붉은잎속에 대한 COI-5P 및 LSU rRNA, EF2 유전자 염기서열 결합 분석을 통해 *Pugetia*와 *Thamnophyllis*가 붉은잎속과 밀접한 계통학적 유연관계를 형성함을 밝혔다(Clarkston and Saunders 2013). 그리고 붉은잎속 분류군에서 형

성되는 태원열의 개수에 따라 monocarpogonial 그룹과 polycarpogonial 그룹으로 나뉘어지는 두 개의 계통그룹으로 분류하였다(Clarston and Saunders 2013). Klochkova 등(2013)은 러시아 오토츠크해 연안에 분포하는 *Ionia cornu-cervi*를 *rbcl* 계통분석을 통하여, 이 분류군이 붉은잎속의 기준종인 *C. variegata*와 단계통을 형성함을 밝히면서 *Callophyllis*로 재분류하였다. 이처럼 종 단위 수준에서 높은 해상력을 지닌 *rbcl* 및 COI-5P 유전자는 정확한 종의 분류학적 위치 결정 및 종의 경계를 설정할 수 있을 뿐만 아니라 계통학적 유연관계를 파악하는데 유용하다. 그러므로 한반도를 비롯한 북서태평양 연안에 분포하는 붉은잎속 분류군의 종 다양성 및 종의 분류학적 위치를 결정하는데 분자적 형질을 분석하는 연구가 수행될 필요가 있다.

현재까지 국내에는 *Callophyllis adhaerens* (좁은붉은잎), *C. adnata* (넓은붉은잎), *C. crispata* (주름붉은잎), *C. japonica* (벚붉은잎), *C. palmata* (팔손이붉은잎) 및 *C. rhyncocarpa* (부리붉은잎) 총 6종이 보고되어 왔다(Kang 1968; Lee and Kang 2001; Lee 2008). 그러나 이들 분류군에 대한 형태분류 및 분자형질 분석 연구가 수행된 바 없어, 지역 및 수심 별로 다양한 형태적 변이를 보이고 종을 구분하는 경계(species delimitation)가 확립되지 않아 정확한 종 동정이 어려운 분류군 중 하나이다. 그러므로 본 연구의 목적은 한반도 연안에 분포하는 붉은잎속

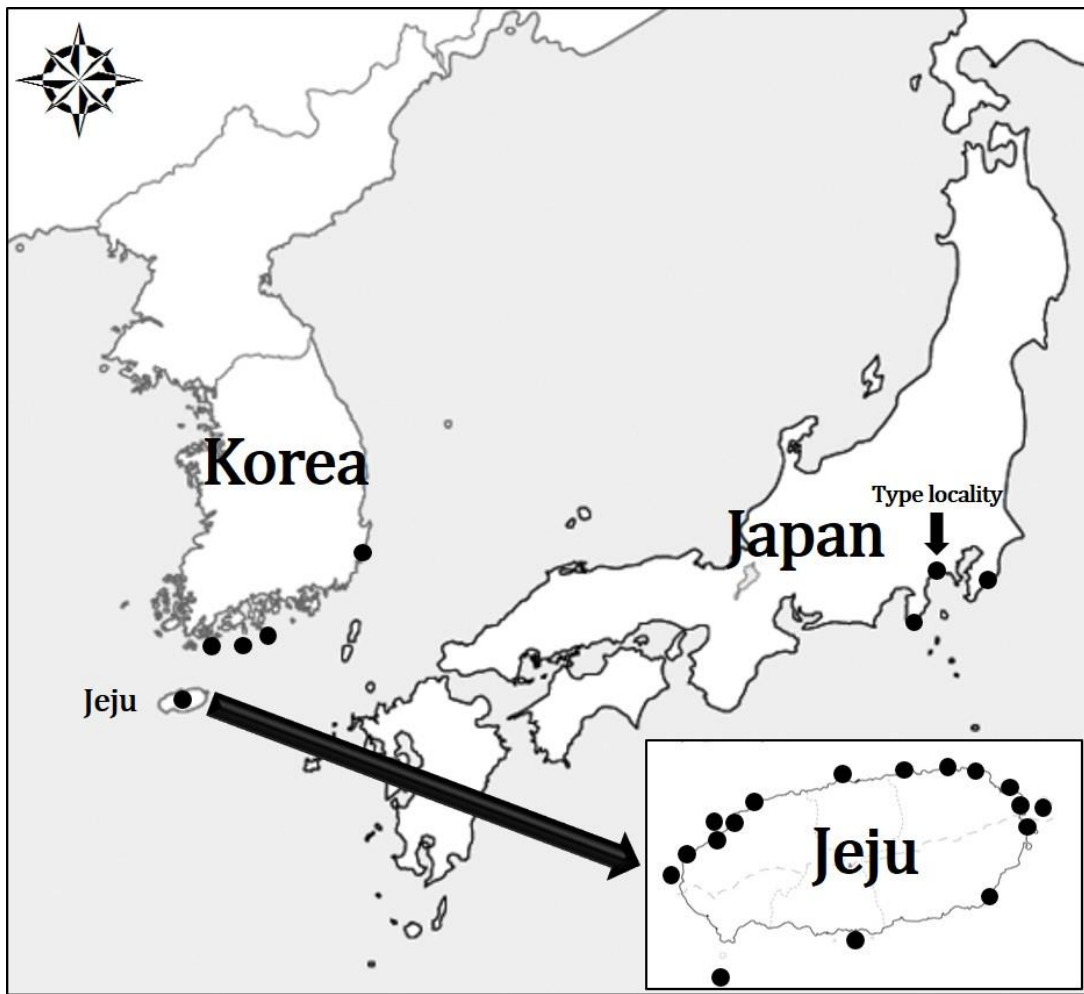
(*Callophyllis*) 분류군에 대한 DNA 염기서열 분석을 통해 종 다양성을 확인하고, 형태 및 분자형질을 종합 분석하여 정확한 종의 경계를 설정하며, 계통학적 유연관계를 파악하는데 있다. 그리고 더 나아가 북서태평양 연안에 분포하는 붉은잎속의 진화계통 및 계통지리 연구를 위한 기초적인 자료를 축적하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료의 채집 및 보관

본 연구는 한반도 남해안과 제주도 연안 조간대 하부와 조하대에서 붉은잎속 표본을 채집하였으며, 특히 조하대에 분포하는 종들을 채집하기 위하여 SCUBA diving을 수행한 결과, 붉은잎속(*Callophyllis*) 8종 67개체가 채집되었다(Table 1). 그리고 한국산 *Callophyllis* 종들의 분류학적 위치를 확인하기 위하여 국내에 보고된 6종 중, *Callophyllis adnata*, *C. crispata*와 *C. japonica*를 모식산지인 일본 Fujisawa시 Enoshima 지역에서 채집하여 비교하였다(Fig. 1).

채집된 표본은 해수에 담아 실험실로 운반한 뒤, 형태관찰용 표본과 DNA 염기서열 분석용 표본으로 분류하고 사진 촬영하였다. 형태관찰용 표본은 5-10% 해수-포르말린 용액에 고정하여 보관하여 형태관찰을 수행한 후, 건조표본을 제작하였다. DNA 염기서열 분석용 표본은 voucher를 제작하여 보관하였으며, 표본 제작시 일부 조직을 떼어 내어 건조시켜 Silica-gel을 이용하여 보관하였다. 제작된 건조표본 및 voucher는 제주대학교 생물학과 해조류 표본실(JNUB)에 보관되어 있다.



**Fig. 1.** Collection sites map of *Callophyllis* specimens from Korea and Japan. Collection sites showed as the filled circles in the map. Arrow mark indicates the type locality of *C. adnata*, *C. crispata* and *C. japonica*.



**Table 1.** Collection information and GenBank accession number of *Callophyllis* specimens analyzed in this study. Circles in SSU rDNA raw represent the obtained sequences in this study, but have not submitted in GenBank yet.

Taxa	Collection information	Habitat (depth / substratum)	Voucher	GenBank accession No.		
				SSU rDNA	<i>rbcL</i>	COI-5P
<i>Callophyllis adhaerens</i> Yamada	Munseom, Jeju, Korea; 17 Jun. 2009		JN-CA09sp002	O	KM675242	KM675335
	Jungmun, Jeju, Korea; 16 Mar. 2010		JN-CA10ad002		KM675240	KM675340
	Mara Is., Jeju, Korea; 17 Jul. 2010		JN-CA10ad004	O	KM675241	KM675336
	Udo, Jeju, Korea; 12 Jun. 2011		JN-CA11ad003	O	KM675239	KM675337
	Biyangdo, Jeju, Korea; 30 Jul. 2011		JN-CA11ja001	O		KM675339
	Udo, Jeju, Korea; 11 Jun. 2011		JN-CA11sp012			KM675338
	Biyangdo, Jeju, Korea; 7 Apr. 2012	12-15 m depth / rock	JN-CA12sp006			KM675341
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jun. 2012	10-12 m depth / rock	JN120606-05			KM675342
	Jongdal, Jeju, Korea; 21 Jun. 2012	10-12 m depth / rock	JN120621-01			KM675343
<i>Callophyllis adnata</i> Okamura	Gochome, Shimoda, Japan; 26 Mar. 2014	8-10 m depth / rock	JN140326-013		KM675243	KM675344
	Gochome, Shimoda, Japan; 26 Mar. 2014	8-10 m depth / rock	JN140326-014		KM675244	KM675345
	Gochome, Shimoda, Japan; 26 Mar. 2014	8-10 m depth / rock	JN140326-015		KM675245	KM675346
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-069		KM675246	KM675347
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-070		KM675247	KM675348
<i>Callophyllis cartilaginea</i> sp. nov.	Sangmo, Jeju, Korea; 5 Apr. 2011		JN-CA11sp006		KM675295	KM675327
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jun. 2012	5-10 m deep / rock	JN120606-01		KM675296	
	Dueokdo, Wando, Korea; 27 Jul. 2012	10 m deep / rock	JN120727-45			KM675329
	Dueokdo, Wando, Korea; 27 Jul. 2012	10 m deep / rock	JN120727-60			KM675328
<i>Callophyllis crispata</i> Okamura	Onjuku, Isumi, Japan; 24 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140324-017			KM675349
	Ohara, Isumi, Japan; 24 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140324-100			KM675350
	Ohara, Isumi, Japan; 24 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140324-101			KM675351
	Ohara, Isumi, Japan; 24 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140324-102			KM675352
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-071			KM675353
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-072			KM675354
<i>Callophyllis hayamensis</i> Yamada	Jocheon, Jeju, Korea; 20 May 2011	25-30 m depth / rock	JN-CA11an002	O	KM675249	KM675355
	Jocheon, Jeju, Korea; 20 May 2011	25-30 m depth / rock	JN-CA11an003	O	KM675248	KM675356

**Table 1.** Continued

Taxa	Collection information	Habitat (depth / substratum)	Voucher	GenBank accession No.		
				SSU rDNA	<i>rbcL</i>	COI-5P
<i>Callophyllis japonica</i> Okamura	Udo, Jeju, Korea; 23 Jul. 2009		JN-CA09ja003	O		KM675361
	Udo, Jeju, Korea; 30 Jan. 2010		JN-CA10ja001	O		KM675366
	Shinyang, Jeju, Korea; 14 Jun. 2010		JN-CA10ja003	O		KM675368
	Udo, Jeju, Korea; 21 Feb. 2010		JN-CA10ja007	O		KM675370
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan.2012	5-8 m deep / rock	JN-CA12ja005	O	KM675265	
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012	5-8 m deep / rock	JN-CA12ja006	O	KM675264	
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012	5-8 m deep / rock	JN-CA12ja007		KM675263	
	Goseong, Jeju, Korea; 3 Mar. 2012	Intertidal / rock	JN-CA12ja009		KM675261	
	Goseong, Jeju, Korea; 3 Mar. 2012	Intertidal / rock	JN-CA12ja010		KM675254	
	Gimnyeong, Jeju, Korea; 10 Mar. 2012	Intertidal / rock	JN-CA12ja011		KM675253	
	Hanlim, Jeju, Korea; 6 Apr. 2012	Intertidal / rock	JN-CA12ja012		KM675252	
	Ganjeolgot, Ulsan, Korea; 19 Aug. 2011	Intertidal / rock	JN-GJG-20		KM675280	
	Hanlim, Jeju, Korea; 22 April 2012	Intertidal / rock	JN120422-02		KM675260	
	Hado, Jeju, Korea; 15 May 2012	Intertidal / rock	JN120515-19		KM675259	
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jun. 2012	5-8 m deep / rock	JN120606-03		KM675258	
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jun. 2012	5-8 m deep / rock	JN120606-04		KM675257	KM675373
	Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jun. 2012	5-8 m deep / rock	JN120606-19		KM675251	KM675374
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-075		KM675255	
	Enoshima, Fujisawa, Japan; 28 Mar. 2014	Intertidal drift	JN140328-076		KM675256	KM675375
	<i>Callophyllis mollitia</i> sp. nov.	Pyoseon, Jeju, Korea; 4 Feb. 2010		JN-CA10an001	O	KM675301
Udo, Jeju, Korea; 30 Jan. 2010			JN-CA10sp001	O	KM675304	KM675331
Haengwon, Jeju, Korea; 15 Apr. 2010			JN-CA10sp006		KM675303	
Chagwido, Jeju, Korea; 6 Jun. 2011			JN-CA10sp007	O	KM675302	
Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012		10 m deep / invertebrates	JN-CA12sp001		KM675300	
Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012		10 m deep / invertebrates	JN-CA12sp002		KM675299	
Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012		10 m deep / invertebrates	JN-CA12sp003	O	KM675298	
Jongdal, Jeju, Korea; 6 Jan. 2012		10 m deep / invertebrates	JN-CA12sp004		KM675297	KM675332

**Table 1.** Continued

Taxa	Collection information	Habitat (depth / substratum)	Voucher	GenBank accession No.		
				SSU rDNA	<i>rbcL</i>	COI-5P
<i>Callophyllis mollitia</i> sp. nov.	Daesambudo, Yeosu, Korea; 25 Jul. 2012	10-15 m deep / corallines	JN120725-06			KM675333
	Daesambudo, Yeosu, Korea; 25 Jul. 2012	10-15 m deep / corallines	JN120725-07			KM675334
<i>Callophyllis repens</i> sp. nov.	Shinchang, Jeju, Korea; 17 Jul. 2012	25-30 m deep / rock, coralline	JN120717-20		KM675294	
	Shinchang, Jeju, Korea; 17 Jul. 2012	25-30 m deep / rock, coralline	JN120717-21		KM675293	
<i>Callophyllis serratifolia</i> sp. nov.	Munseom, Jeju, Korea; 28 Mar. 2010		JN-CA10cr001	O	KM675290	KM675305
	Gwideok, Jeju, Korea; 31 May 2011		JN-CA11sp002			KM675306
	Gwideok, Jeju, Korea; 31 May 2011		JN-CA11sp003			KM675307
	Munseom, Jeju, Korea; 13 May 2012	8-12 m deep / rock	JN120513-22		KM675287	KM675308
	Munseom, Jeju, Korea; 13 May 2012	8-12 m deep / rock	JN120513-24		KM675286	KM675309
	Munseom, Jeju, Korea; 2 Jun. 2012	8-15 m deep / rock	JN120602-04		KM675289	
	Munseom, Jeju, Korea; 2 Jun. 2012	8-15 m deep / rock	JN120602-05		KM675288	KM675310
	Munseom, Jeju, Korea; 2 Jun. 2012	8-15 m deep / rock	JN120602-06		KM675283	KM675311
	Geomundo, Yeosu, Korea; 25 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120725-49			KM675312
	Geomundo, Yeosu, Korea; 25 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120725-51			KM675313
	Geomundo, Yeosu, Korea; 25 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120725-52			KM675314
	Jakdo, Yeosu, Korea; 26 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120726-08		KM675285	
	Jakdo, Yeosu, Korea; 26 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120726-09		KM675284	KM675315
	Jakdo, Yeosu, Korea; 26 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120726-10		KM675282	
	Baekdo, Yeosu, Korea; 26 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120726-45		KM675281	KM675316
	Cheongsando, Wando, Korea; 27 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120727-42			KM675317
	Cheongsando, Wando, Korea; 27 Jul. 2012	10-15 m deep / rock	JN120727-43			KM675318
	Gochome, Shimoda, Japan; 27 Mar. 2014	8-10 m deep / rock	JN140327-043			KM675319
	Gochome, Shimoda, Japan; 27 Mar. 2014	8-10 m deep / rock	JN130427-044			KM675320
<i>Callophyllis undulata</i> sp. nov.	Udo, Jeju, Korea; 11 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-CA11sp008	O		KM675324
	Udo, Jeju, Korea; 11 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-CA11sp009			KM675326
	Udo, Jeju, Korea; 11 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-CA11sp011			KM675325
	Udo, Jeju, Korea; 12 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-HU110612-01	O	KM675291	KM675321
	Udo, Jeju, Korea; 12 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-HU110612-02	O	KM675292	KM675322
	Udo, Jeju, Korea; 12 Jun. 2011	25-30 m deep / rock	JN-HU110612-03	O		KM675323

## 2. 형태형질 분석

붉은잎속 (*Callophyllis*)의 외부 형태관찰을 위해 SZ61 해부현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 엽체의 형태, 길이, 폭 등을 분석하고 분지패턴을 확인하였다. 내부구조 관찰을 위해, 동결 마이크로 절편장치(NK-101-II; Nippon Optical Works Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 시료를 절편하고 1% 산성 aniline blue 시약으로 염색한 뒤 30% Corn syrup으로 고정하여 슬라이드 표본을 제작하였다. 암배우체는 Wittmann's aceto-iron-hematoxylin 시약으로 염색하고 (Wittmann 1965), 50% Hoyer's mounting medium으로 고정하여 슬라이드 표본을 제작하였다(Lin et al. 2012). 슬라이드 표본은 BX50 광학현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하여 관찰하고 현미경 사진장치(QImaging 1394; QImaging, Surrey, BC, Canada)로 사진 촬영한 후, 각각의 종 들의 내부구조 특징을 분석하였다.

### 3. DNA 염기서열 및 분자계통 분석

건조 보관된 샘플로부터 DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)을 사용하여 genomic DNA를 추출하고, 추출된 DNA를 PCR (Polymerase Chain Reaction) 기법을 이용하여 증폭하였다. 핵 SSU rDNA, 엽록체 *rbcL* 및 미토콘드리아 COI-5P 유전자 구간 증폭에 사용된 primer 조합 및 PCR profile은 각각 Table 2와 3에 기재하였다. AccuPower PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea)에 추출한 genomic DNA와 primer를 첨가한 뒤, 총 20  $\mu$ L를 Peltier Thermal Cycler, PTC-100 (Bio-Rad, CA, USA)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 산물은 ACCUPrep Purification Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 정제한 뒤, sequencing은 Macrogen (Seoul, Korea)에 의뢰하였다. SSU rDNA, *rbcL* 및 COI-5P sequence는 Chromas (ver.1.45)로 편집한 뒤, BioEdit (Hall 1999) 프로그램을 사용하여 정렬하였다.

한국산 붉은잎속에 대한 종의 경계를 정의하고 계통학적 유연관계를 파악하기 위하여 본 연구에서 결정된 붉은잎속 염기서열과 NCBI GenBank에 등록된 염기서열과 비교분석 하였다. 붉은잎속의 종내 및 종간 변이율을 확인하고, COI-5P 유전자를 이용한 근린결합분석(Neighbor-joining analysis: NJ)을 수행하기 위하여 MEGA5 (Tamura et al. 2011)를 사용하였다. 계통학적 유연관계를 파악하기 위해

최우추정분석(Maximum likelihood; ML)은 RAxML (Stamatakis 2006) 프로그램을 사용하여 수행하였다. GTR+ $\Gamma$ +I model을 적용하고, 계통수 분지의 단계통성에 대한 신뢰도를 파악하기 위해 1,000회의 bootstrap resampling을 수행하였다. Bayesian 추론 계통분석(Bayesian inference; BI)은 MrBayes ver. 3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003)을 사용하여 GTR+ $\Gamma$ +I model을 적용하고, Markov Chain Monte Carlo 방법을 이용하여 four chain으로 2,000,000 generation을 수행하였다. 마지막으로 ML 및 BI 계통분석을 통해 얻어진 계통수는 FigTree ver. 1.4 프로그램을 사용하여 도식화 하였다.

**Table 2.** Primer for DNA amplification and sequencing nuclear SSU rDNA, plastid *rbcL* and mitochondrial COI-5P genes.

Gene	Primer		Sequence	reference
SSU	G01	F	CACCTGGTTGATCCTGCCAG	Saunders & Moore (1994)
	G04	F	CAGAGGTGAAATTCTTGGAT	Saunders & Moore (1994)
	G07	R	AGCTTGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC	Saunders & Moore (1994)
	G14	R	CCTTGGCAGACGTTTCGCAG	Saunders & Moore (1994)
<i>rbcL</i>	F145	F	CAACCAGGWGTAGATCCAGTAGAAGC	Kim et al. (2012)
	F762	F	GTATGAAAGAGCTGAATTTGC	Kim et al. (2012)
	R898	R	GACGAGAATAAGTTGARTTACC	Kim et al. (2012)
	R1442	R	AAACATTAGCTGTTGGAGTTTCTAC	Kim et al. (2012)
COI-5P	GazF1	F	TCAACAAATCATAAAGATATTGG	Saunders (2008)
	GazR4	R	AAAATCAAATAAATGCTG	Saunders (2008)

**Table 3.** Thermal cycling conditions of polymerase chain reaction for SSU rDNA, *rbcL* and COI-5P genes.

Gene	Step	Temperature	Time	Cycles
SSU rDNA	Initial denaturation	94°C	4 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	38
	Annealing	55°C	30 sec	
	Extension	72°C	1min 30sec	
	Final extension	72°C	7 min	1
<i>rbcL</i>	Initial denaturation	95°C	2 min	1
	Denaturation	93°C	1 min	35
	Annealing	47°C	1 min	
	Extension	72°C	2 min	
	Final extension	72°C	2 min	1
COI-5P	Initial denaturation	94°C	2 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	5
	Annealing	45°C	30 sec	
	Extension	72°C	1 min	
	Denaturation	94°C	30 sec	35
	Annealing	46.5°C	30 sec	
	Extension	72°C	1 min	
	Final extension	72°C	7 min	



### Ⅲ. 결 과

#### 1. 한국산 붉은잎속(*Callophyllis*)의 분자형질 분석 및 계통학적 유연관계

본 연구에서는 남해안 및 제주도 연안, 일본에서 채집된 붉은잎속 1,750bp의 핵 SSU rDNA 염기서열 21개, 1290bp의 엽록체 *rbcL* 염기서열 50개와 701bp의 미토콘드리아 COI-5P 염기서열 59개를 결정하였고, 이중 *rbcL* 과 COI-5P 염기서열은 NCBI GenBank에 등록하였다(Table 1). 그리고 한국산 붉은잎속의 분류학적 위치를 파악하기 위하여 NCBI GenBank에 등록된 붉은잎속의 *rbcL* 염기서열 27개와 COI-5P 염기서열 33개를 함께 비교분석 하였다.

##### 1.1. 미토콘드리아 COI-5P 유전자 분석 및 종 경계 설정

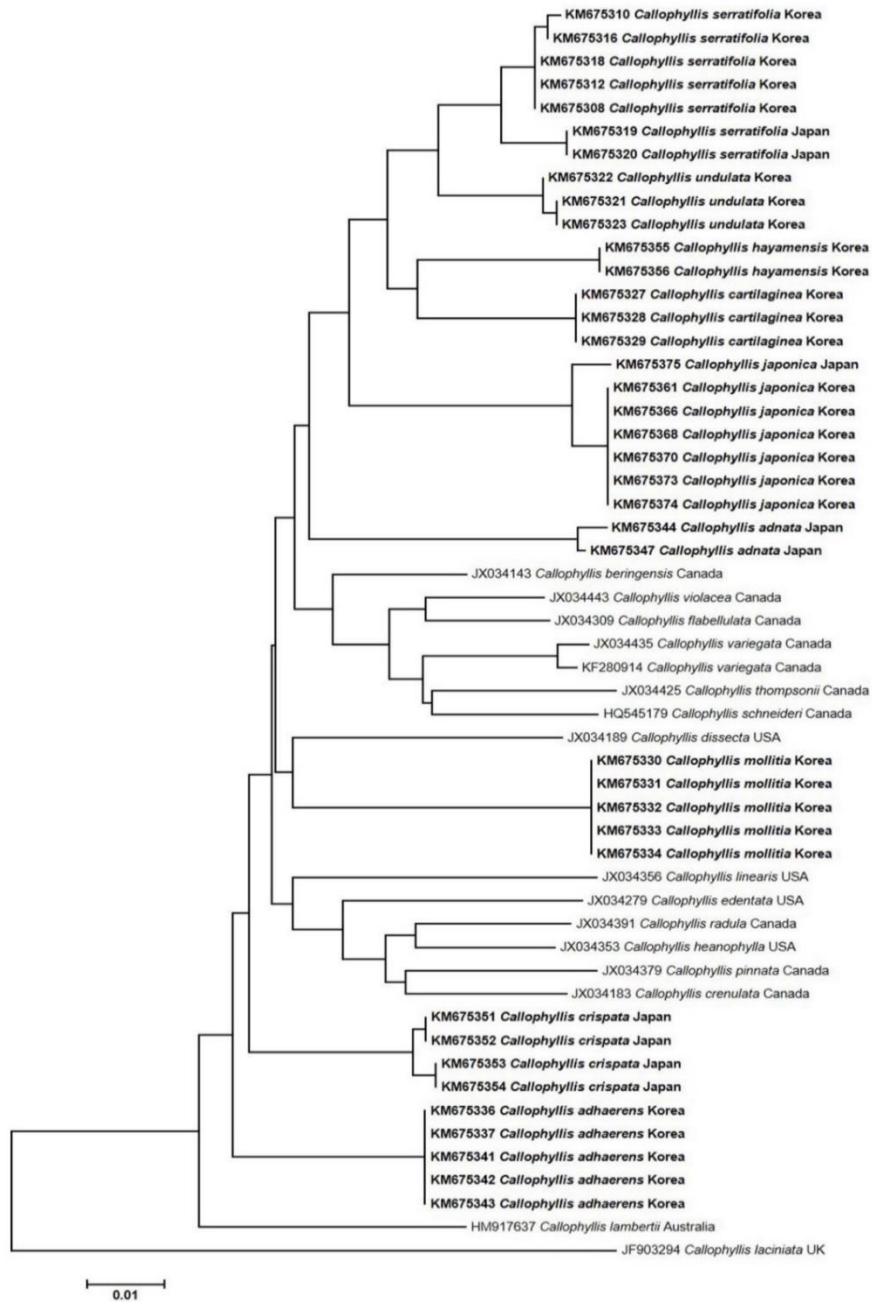
본 연구에서 결정된 붉은잎속 표본의 COI-5P 염기서열 59개와 NCBI GenBank에 등록된 붉은땀띠과 염기서열 16개를 함께 분석한 결과, 전체 701bp 중 259bp에서 염기서열 변이가 나타났고, 그 중 211bp가 계통학적 정보를 제공하였다(Table 4). COI-5P 유전자 구간의 근린결합분석(Neighbor-joining analysis) 결과는 한국산 붉은잎속에 대한 명확한 종 경계를 위한 기준을 제시하였고, 이를 통해

국내 미기록종인 *C. hayamensis*를 비롯하여, *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov. 그리고 *C. undulata* sp. nov. 등 4종의 신종을 밝혀내었다. *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.는 두 종 사이의 종간 변이율은 2.8-3.3%로 나타내며, 한국산 붉은잎속 분류군들 중 가장 가까운 근연관계를 형성하였다(Fig. 2). *C. cartilaginea* sp. nov.는 *C. hayamensis*와 4.4%의 종간 변이율을 나타내면서 5.7-5.9%의 종간 변이율을 보이는 *C. japonica*보다 *C. hayamensis*에 더 가까운 근연관계를 보였다(Fig. 2). *C. hayamensis*와 *C. cartilaginea* sp. nov. 둘 다 종내 변이율을 나타내지 않았다. *C. japonica*의 경우, 한국산 표본들과 기준모식산지인 일본 Enoshima에서 채집된 표본들과 1%의 종내 변이율을 나타내고 있고, 한국산 *C. japonica* 표본들 사이에서 5bp의 염기서열 차이를 보였다. *C. mollitia* sp. nov.는 일본산 *C. adnata*와 자매그룹을 형성하였고(Fig. 2), 7.7-7.9%의 종간 변이율을 보이고 있으며, 종내 변이율은 나타내지 않았다. *C. serratifolia* sp. nov.는 한국산 표본들에서 0-0.3%의 종내 변이율이 나타났고, 일본 Shimoda에서 채집한 표본들과 함께 비교했을 때 1.3-1.6%의 비교적 높은 종내 변이율을 나타내었다. *C. undulata* sp. nov.의 종내 변이율은 0-0.2%로 나타났다. 한국산 붉은잎속 식물의 분류학적 위치를 결정하기 위해 채집된 일본산 *C. adnata* 표본들은 0.5%의 종내 변이율을 나타내었고, 일본산 *C. crispata*의 경우

기준모식산지인 Enoshima에서 채집된 표본들과 Chiba현 Ohara지역에서 채집된 표본들 사이에서 0.5%의 종내 변이율을 나타내었다. *C. adhaerens*는 분석된 표본들 사이에서 2bp의 염기서열 변이가 관찰되었다. 전체적으로 붉은잎속 식물들의 COI-5P 유전자 염기서열 분석에서 종간 변이율은 2.8%-3.1%로 한국산 *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.에서 가장 작게 나타났고, 캐나다 태평양 지역의 *C. thompsonii* (JX034425)와 일본산 *C. adnata*에서 8.8-9.5%로 가장 크게 나타났다.

**Table 4.** Genetic information from nuclear SSU rDNA, plastidal *rbcL* and mitochondrial COI-5P genes.

		COI-5P	<i>rbcL</i>	SSU rDNA
Nucleotide (bp)		701	1290	1750
Base frequency	$\pi_A$	0.2381	0.2381	0.3053
	$\pi_C$	0.2116	0.2116	0.1547
	$\pi_G$	0.2985	0.2985	0.2065
	$\pi_T$	0.2518	0.2518	0.3335
Constant site (%)		440 (62.8)	840 (41.9)	1461 (83.0)
Variable site (%)		259 (36.9)	450 (34.9)	288 (16.5)
Parsimony informative site (%)		211 (30.1)	356 (27.6)	232 (13.6)
Intraspecific (%)		0-1.6	0-1.0	-
Interspecific Min. (%)		2.8-3.1	0.6	0
Interspecific Max. (%)		8.8-9.5	6.4	1.0



**Fig. 2.** Unrooted phylogram generated using neighbor-joining (NJ) analysis from the cytochrome oxidase I (COI) sequences of *Callophyllis* specimens collected in this study (taxa in bold) and acquired from GenBank (taxa not bold). This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bar: substitutions/site.

## 1.2. 엽록체 *rbcL* 유전자 분석 및 계통학적 유연관계

한국산 붉은잎속에 대한 엽록체 *rbcL* 유전자 염기서열 분석 결과, 이전에 문헌으로 보고 되었던 6종 중 *Callophyllis adhaerens*, *C. japonica* 2종이 확인되었고, COI-5P 분석 결과 확인된 미기록종 *C. hayamensis*과 *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov. 그리고 *C. undulata* sp. nov. 등 4종의 신종을 비롯하여, 추가적으로 신종인 *C. repens* sp. nov.를 확인하였다. 본 연구에서 결정된 붉은잎속 표본의 엽록체 *rbcL* 염기서열 50개와 NCBI GenBank에 등록된 붉은땀띠과의 21개 염기서열과 함께 분석한 결과, *rbcL* 유전자 염기서열에서는 전체 1290bp 중 34.9%의 염기서열 변이가 나타났고, 계통학적인 정보를 제공하는 염기서열이 27.6%로 나타났다(Table 4). COI-5P 분석 결과에서 일본산 *C. adnata*와 가장 가까운 근연관계를 나타내었던 *C. mollitia* sp. nov.는 *rbcL* 분석 결과에서도 0.1-0.3%의 종내 변이율을 보이는 기준모식산지인 일본산 *C. adnata*와 3.1-3.2%의 종간 변이율을 나타내며 자매그룹을 형성하였다(Fig. 3). *C. hayamensis*, *C. serratifolia* sp. nov. 및 *C. undualta* sp. nov.는 *rbcL* 유전자 염기서열 분석에서 서로 가까운 근연관계를 보이며 자매그룹을 형성하였다 (Fig. 3). *C. hayamensis*는 *C. serratifolia* sp. nov.와 0.9-1.0%, *C. undulata* sp. nov.와 1.2-1.3%의 종간 변이율이 나타났다. 각각 0.1%의 종내변이율을 갖는 *C. serratifolia* sp. nov.와 *C.*

*undulata* sp. nov.는 0.6-0.8%의 종간 변이율을 나타내며, COI-5P 분석 결과와 마찬가지로 한국산 붉은잎속 분류군들 중 가장 가까운 근연관계를 보였다. *C. japonica*는 *C. cartilaginea* sp. nov.와 1.4-1.5%의 종간 변이율을 보이면서 자매 그룹을 형성하였다 (Fig. 3). 한국산 *C. japonica*는 기준모식산지인 일본 Enoshima 에서 채집된 표본과 0.3%의 종내 변이율을 나타내는데, 이 두 지역의 표본들은 NCBI GenBank에 등록된 일본산 *C. japonica*와 0.7-1.0%의 변이율을 보인다. *C. adhaerens*, *C. hayamensis*, *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov. 및 *C. repens* sp. nov.에서는 종내 변이율이 관찰되지 않았다. 전체적으로 붉은잎속 식물들의 종간 변이율은 0.6%로 *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.에서 가장 적게 나타났으며, 뉴질랜드산 *C. laingiana* (HM587176)와 칠레산 *C. concepcionensis* (HQ910497)에서 6.4%로 가장 크게 나타났다.

한국산 붉은잎속 *rbcl* 분석을 통해 확인된 8종은 각각 94% 이상의 높은 ML bootstrap값으로 강력하게 지지되고, BI 분석에서도 *rbcl* 1.0의 높은 BI posterior probability값으로 재확인되었다(Fig. 3). *C. hayamensis*, *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.로 구성되는 단계통군은 100%의 ML bootstrap값과 1.0의 높은 BI posterior probability값으로 강하게 지지되고, 여기에 *C. japonica*와 *C. cartilaginea* sp. nov.와 함께 비록 낮은 ML bootstrap값(<70%)과 BI posterior

probability값(<0.5)의 지지를 받지만, 하나의 커다란 계통군을 형성한다(Fig. 3). 이들 분류군들은 공통적으로 하나의 원형 기부로부터 피층화된 엽병이 자라고 그 위에서 두 갈래 또는 세 갈래로 부채꼴형으로 분지하는 패턴을 가지고 있으며 엽체 분지가 서로 연결하지 않는다. 그러나 이 계통군에 엽상체 하부에 여러 개의 원형 기부에 의해 기질에 부착되면서 불규칙적인 두 갈래 분지를 하고 각각의 분지들이 서로 옆에 있는 분지들과 연결하는 특징을 지니는 *C. repens* sp. nov.이 함께 포함되어 있는데, 이는 형태형질과 분자계통 유연관계를 정립하는데 한계를 보인다(Fig. 3).



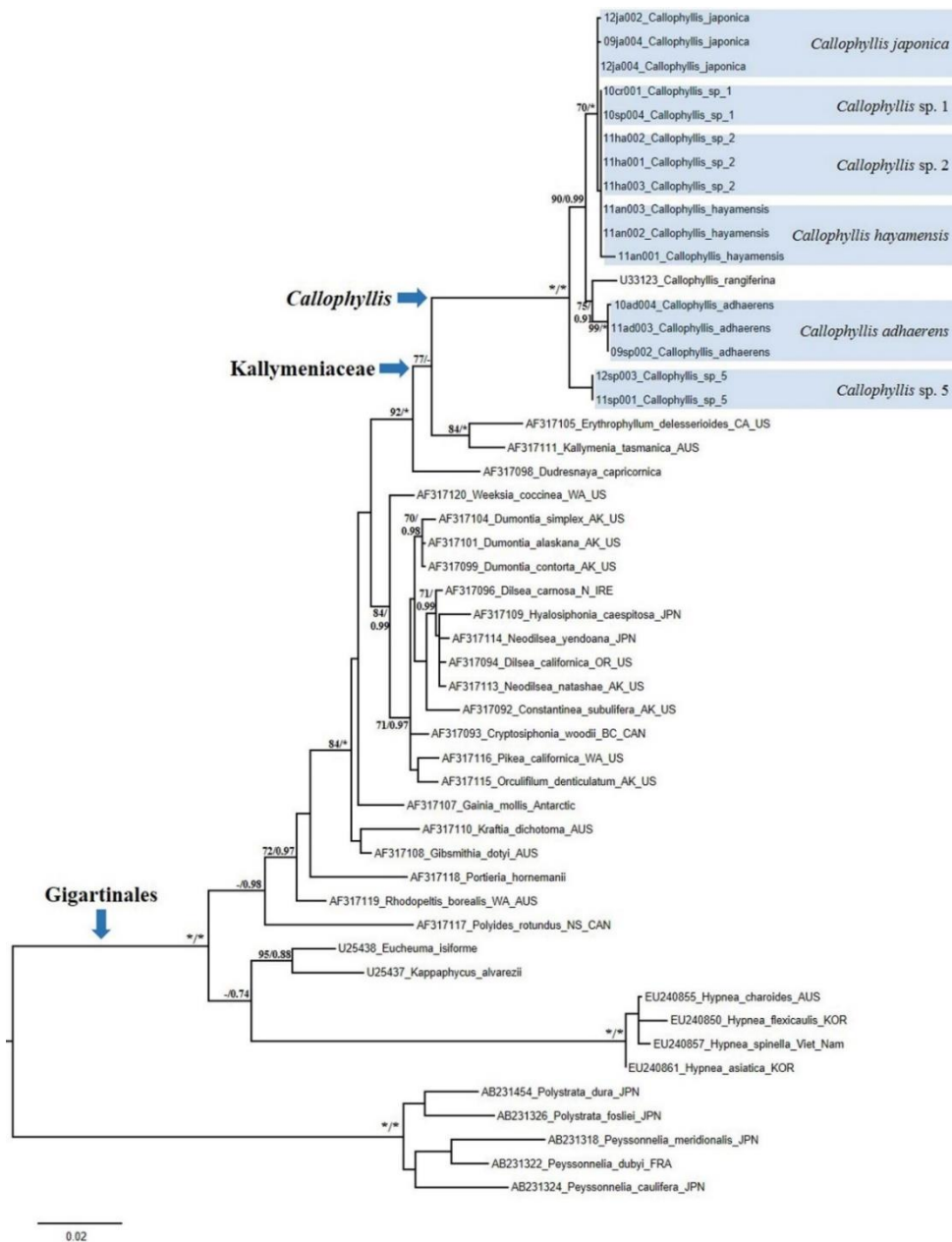


**Fig. 3.** Phylogenetic tree of the genus *Callophyllis* species (bold is collected in this study and normal is acquired from GenBank) based on *rbcL* sequences inferred from maximum likelihood analysis. Bootstrap value are shown above the branches: maximum likelihood (left) and Bayesian posterior probabilities (right). Branches marked with an asterisk received 100% support in both analyses, whereas those lacking values received less than 70% support. This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bar: substitutions/site.

### 1.3. 핵 SSU rDNA 유전자 분석 및 계통학적 유연관계

본 연구에서 결정된 21개의 붉은잎속 표본의 핵 SSU rDNA 유전자 염기서열과 NCBI GenBank에 등록된 돌가사리목 및 외군을 형성하는 Peyssonneliales의 염기서열 34개를 함께 분석한 결과, 전체 1,750bp 중 288bp의 염기서열 변이가 나타나고 그 중 232bp의 염기서열이 계통학적인 정보를 제공함을 확인하였다(Table 4). 핵 SSU rDNA에 대한 ML과 BI를 이용한 분자계통분석에서 붉은잎속 식물이 속해 있는 붉은땀띠과(Kallymeniaceae)는 돌가사리목 내에서 미끌풀과(Dumontiaceae)와 가까운 계통학적 근연관계를 형성하는 것으로 확인되었다(Fig. 4). 한국산 붉은잎속은 붉은땀띠과 내에 독립된 계통군 (clade)을 형성하며 매우 높은 지지값(100/1.0)을 갖는다 (Fig. 4). 붉은잎속은 붉은땀띠속(*Kallymenia*)과 3.1-3.4%, *Erythrophyllum*과 3.0-3.3%의 속간 변이율(intergeneric divergence)을 보인다. 좁은붉은잎(*Callophyllis adhaerens*)은 *C. rangiferia*와 0.5%의 종간 변이율로 가까운 근연관계를 형성하고, 좁은붉은잎(*C. adhaerens*)와 *C. mollitia* sp. nov.는 1.0%의 변이율을 보인다. 벚붉은잎(*C. japonica*)은 *C. hayamensis*, *C. serratifolia* sp. nov. 및 *C. undulata* sp. nov. 그룹과 0.01%의 종간 변이율로 서로 가까운 근연관계를 보여주지만(Fig. 4), *C. hayamensis*, *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.를 구분해주지 못하는 한계를 보였다(Fig. 4). 핵의 SSU rDNA 염기서열 분

석 결과 붉은잎속이 돌가사리목(Gigartinales) 내에서 단계통군을 형성하고 가장 계통학적 유연관계가 가까운 분류군이 붉은땀띠과(Kallymeniaceae)임을 보였다. 그러나 SSU rDNA는 염기서열 1750bp 내에서 염기서열 변이가 나타나지 않는 구간이 전체 염기서열의 83%를 차지할 만큼 보존적이며, 전체의 13.6% 만이 계통학적 정보를 제공할 뿐(Table 4) SSU rDNA는 종 단위 수준에서 분류군을 구분할 수 있는 해상력이 부족하다 (Fig. 4). 이는 핵의 다른 유전자 부위인 LSU rRNA에 대한 연구 결과 (Harper and Saunders 2002)와 일치한다.



**Fig. 4.** Maximum likelihood phylogenetic tree of the red algal genus *Callophyllis* species estimated using SSU rDNA gene sequences. Arrow marks indicate each monophyletic clades of Gigartinales, Kallymeniaceae and *Callophyllis*. Numbers above each clade represent maximum likelihood bootstrap values (left) and Bayesian posterior probabilities (right). Branches marked with an asterisk received 100% support being shown in both analyses, whereas those lacking values received less than 70% support. Scale bar: substitutions/site.

## 2. 한국산 붉은잎속 (*Callophyllis*)의 형태형질 분석

*Callophyllis* Kützing 1843

Korean name: 붉은잎속.

Lectotype species: *Callophyllis variegata* (Bory de Saint-Vincent) Kützing.

**Description:** Thallus erect or flattened, soft-membranous to slightly cartilaginous, usually flabellately, marginal portion of thallus smooth, slightly serrate, ruffled pinnate or spiny protuberant, sub-dichotomously, di- or trichotomously branched. Short stipe arising from a discal holdfast or absent. Cortex isodiametric, usually 1-2 layered and covered epidermal layer. Medulla of large and isodiametric cells. Three-celled carpogonial branches borne on a supporting cell having 2-5 subsidiary cells. Fusion cell formed from subsidiary cells, supporting cell and a cell of carpogonial branch after fertilization, and gonimoblast filaments initiated from fusion cell. Cystocarp protuberant one-side or both side, having ostioles. Tetrasporophyte isomorphic. Tetrasporangia cruciately divided and scattered in cortex.

## 2.1. *Callophyllis adhaerens* Yamada 1932

[Text-Fig. 5]

**Holotype:** SAP 13043 (Yoshida 1998).

**Type locality:** Enoshima, Fujisawa, Kanagawa, Japan; Wagu, Shima, Mie, Japan (Yamada 1932).

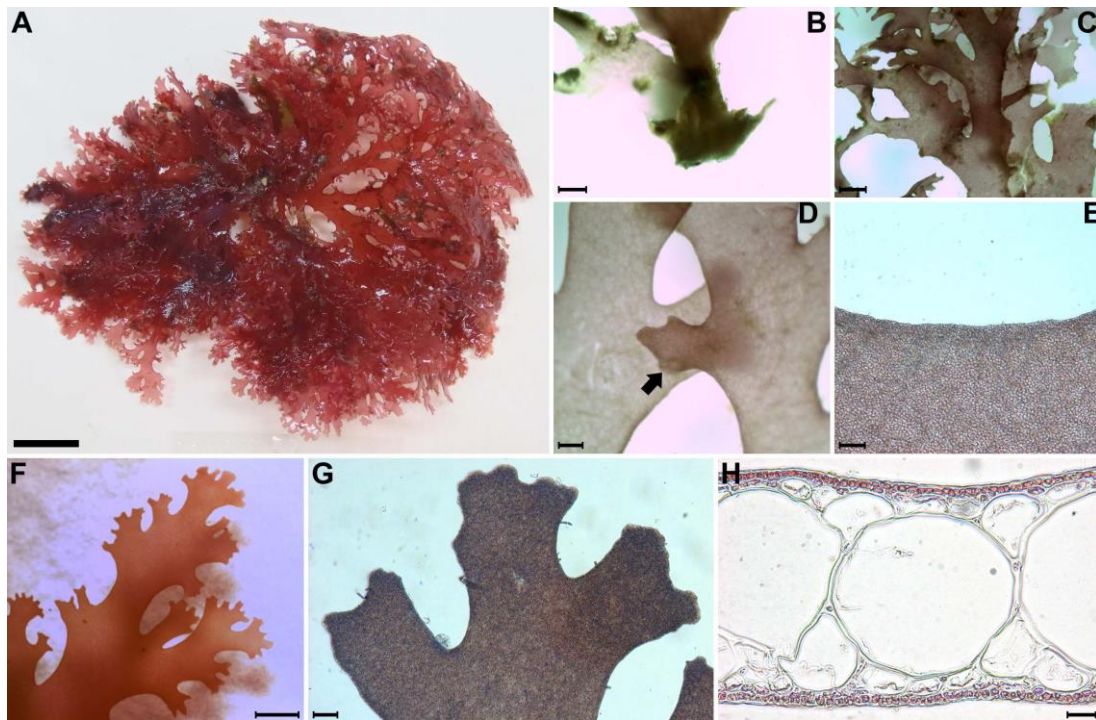
**Distribution:** China (Xia 2004); Japan (Yoshida 1998); Korea (Lee 2008).

**Habitat:** Subtidal zone, 10-15 m deep.

**Specimens examined:** Munseom, Seogwipo on June 2, 2012 (120602-01-02); Seopseom, Seogwipo on April 5, 2013 (2013-v0286-8); Munseom, Seogwipo on June 16, 2013 (130616-14); Munseom, Seogwipo on October 20, 2013 (2013-v0565).

**Morphology:** Plants, coloring bright red, grows flattened and flabellate (Fig. 5A) arising from a very short and cylindrical stipe, less than 1mm, from a discoidal

holdfast (Fig. 5B). Thallus becomes 3-7 cm long, 1.8-2.3 mm wide in middle and 0.6-0.8 mm wide in upper. The thickness of thallus is about 200  $\mu\text{m}$ . Thallus is subdichotomous irregularly in a same plane, and each branches are loosely entangled (Fig. 5C). One dorsal portion of branches are adherent to another ventral surface (Fig. 5D). The margin of thallus is smooth (Fig. 5E) with laterally and pinnately obtuse protuberances (Fig. 5F). The apex is obtuse and roundish occurring small protuberances (Fig. 5G). Anatomically, medullar consists of large isodiametric cells, 126-148  $\mu\text{m}$  x 135-160  $\mu\text{m}$ , surrounded by several small cells, 41-58  $\mu\text{m}$  x 62-66  $\mu\text{m}$  (Fig. 5H). Cortex is usually one cell layer, and each cortical cell is sub-isodiametric, 2.6-3.8  $\mu\text{m}$  x 3.8-5.2  $\mu\text{m}$  (Fig. 5H).



**Fig. 5.** *Callophyllis adhaerens* Yamada. (A) Habit showing flattened membranous thallus. (B) A cylindrical stipe arising from a discoidal holdfast. (C) Sub-dichotomously branching type of frond. (D) A junctional point (arrow) at dorsal surface to ventral surface between neighboring fronds. (E) Smooth margin of blade. (F) The laterally obtuse protuberances of frond. (G) Obtuse and roundish apex of frond. (H) Cross section view of frond showing one celled cortical layer and large isodiametric medullary cells surrounded by small cells. Scale bars represent: A, 1 cm; B, 500  $\mu\text{m}$ ; C & F, 1,000  $\mu\text{m}$ ; D, 200  $\mu\text{m}$ ; E, 50  $\mu\text{m}$ ; G, 100  $\mu\text{m}$ ; H, 25  $\mu\text{m}$ .



2.2. *Callophyllis cartilaginea* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov.

[Text-Fig. 6: Lee and Kim 2014]

**Diagnosis:** Thallus cartilaginous, erect, narrowly flabellate, dark- to brown-red in color, di- or trichotomously branched in a bushy clump, stipitate in slightly compressed, 5-7 cm long, 1.1-1.7 mm wide in the middle, attached to the substratum by a sub-discoidal holdfast; apex acute; margin usually smooth with spinescent protuberances.

**Holotype:** JN120606-01 (Fig. 6A), vegetative plant, collected at 5-10 m in depth of the subtidal zone on June 6, 2012, and deposited in the Herbarium of Department of Biology, Jeju National University, Korea (JNUB).

**Type locality:** Jongdal, Jeju, Korea (33°29'34.40" N, 126°55'16.23" E)

**Etymology:** The specific epithet (*cartilaginea*) was chosen to represent this species, as it has a cartilaginous thallus.

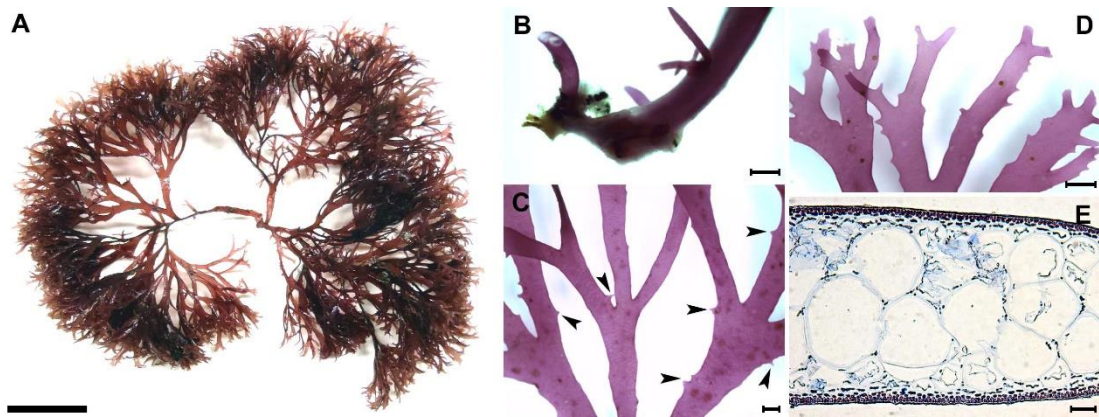
**Distribution:** Korea (this study).

**Specimens examined:** JN120606-01-2 (Jongdal, June 6, 2012, vegetative);

120727-45, 60 (Dueokdo, July 27, 2012, vegetative); NIBRAL0000143264,

140423-s01-3 (Jongdal, April 23, 2014, vegetative).

**Morphology:** Plants are erect, flabellate, cartilaginous, and dark-red in color (Fig. 6A). Thallus has a short sub-cylindrical stipe arising from a discoidal holdfast, which gets more compressed (Fig. 6B). The thallus is di- or trichotomously branched (Fig. 6C), and is irregularly sub-dichotomously branched at the upper portion (Fig. 6D). The thallus is 5-7 cm long, 310-358  $\mu\text{m}$  thick, and 1.1-1.7 mm wide, but 2.2-3.4 mm wide at the branching point. The thallus margin is almost smooth, and often small spinescent protuberances laterally (Fig. 6C-D). The apex is acute (Fig. 6D). The medulla is made of a two- or three-celled layer: Two large isodiametric cells, 112-146  $\mu\text{m}$  x 104-160  $\mu\text{m}$  in size, and one small oblong cell, 49-61  $\mu\text{m}$  x 58-72  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 6E). Outer cortical cells are bead-like and 4.3-5.6  $\mu\text{m}$  x 4.5-5.4  $\mu\text{m}$  in size, whereas inner cells are oblong and 4.1-5.7  $\mu\text{m}$  x 6.4-8.5  $\mu\text{m}$  in size.



**Fig. 6.** *Callophyllis cartilaginea* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. (A) Holotype specimen (JN120606-01, vegetative plant, Jongdal, 6 June 2012). (B) Very short compressed stipe arising from flattened holdfast. (C) Frond trichotomously branched at the middle portion bearing short spinescent protuberances (arrowheads). (D) Frond sub-dichotomously branched at the apical portion and having acute apex. (E) Cross section view showing three celled layer of medulla consisting of isodiametric cells. This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars represent: A, 2 cm; B, 500  $\mu$ m; C & D, 1,000  $\mu$ m; E, 50  $\mu$ m.

### 2.3. *Callophyllis hayamensis* Yamada 1941

[Text-Fig. 7: Lee and Kim 2014]

**Holotype:** TNS (Yoshida 1998).

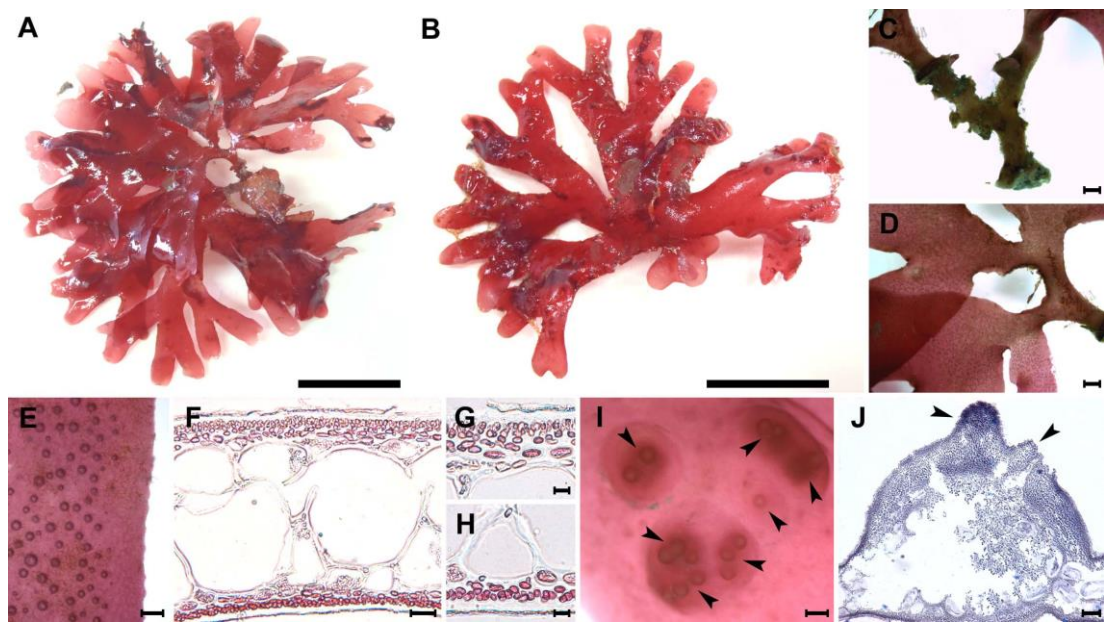
**Type locality:** Hayama, Kanagawa, Japan.

**Distribution:** Korea (this study) and Japan (Yoshida 1998).

**Specimens examined:** JN2013-v0454 (Sasu-dong, July 7, 2013, ♀); JN2013-v0457-460 (Guideok 1-ri, July 10, 2013, vegetative); JN2013-s0222-4, JN2013-v0494, NIBR0000143266 (Sasu-dong, July 12, 2013, ♀).

**Morphology:** Plant is flattened, flabellate, scarlet to dark-red in color, 5-8 cm long, and 190-206  $\mu\text{m}$  thick (Fig. 7A-B). The thallus has a cylindrical stipe arising from a discoidal holdfast, and is 3.9-7.3 mm long (Fig. 7C). The thallus is dichotomously branched 2-4 times, and broadens upwardly (Fig. 7D). The width of the thallus is ranged from 6.4-8.1 mm in the middle to 3.5-4.3 mm in the upper. The margin is slightly crenulated (Fig. 7E). The apex of the thallus is obtuse and roundish. The medulla consists of two isodiametric celled layer,

that are 62-114  $\mu\text{m}$  x 46-114  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 7F). The outer cortex is dorsiventral, consisting of a two- or three-celled layer in the dorsal cortex and a one-celled layer in the ventral cortex (Fig. 7G-H). Cystocarps are scattered over the upper blades (Fig. 7I), and protude more dorsally with several one-sided ostioles (Fig. 7J).



**Fig. 7.** *Callophyllis hayamensis* Yamada. (A) JN2013-v0454, vegetative plant collected from Sasu-dong on 7 July 2013, showing flattened membranous thallus. (B) JN2013-v0495, female gametophyte collected from Sasu-dong on 12 July 2013. (C) Cylindrical and dichotomous branched stipe arising from a discoidal holdfast. (D) Thallus dichotomously branched at the basal part. (E) Slightly crenulation at the margin of frond. (F) Cross section of the frond showing medulla and cortex. (G) Cross section of the dorsal cortex. (H) Cross section of the ventral cortex. (I) Cystocarp borne at the upper part of thallus having ostioles (arrowheads). (J) Cross section view of cystocarp protuberated dorsally with two ostioles (arrowheads). This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars represent: A-B, 2 cm; C-D, 1,000  $\mu\text{m}$ ; E & I, 200  $\mu\text{m}$ ; F, 25  $\mu\text{m}$ ; G-H, 10  $\mu\text{m}$ ; J, 100  $\mu\text{m}$ .

#### 2.4. *Callophyllis japonica* Okamura 1894

[Text-Fig. 8]

**Holotype:** SAP herb. Okamura (Yoshida 1998).

**Type locality:** Enoshima, Kangawa, Japan (Yoshida 1988).

**Distribution:** Japan (Yoshida 1998), Korea (Kang 1968; Lee 2008).

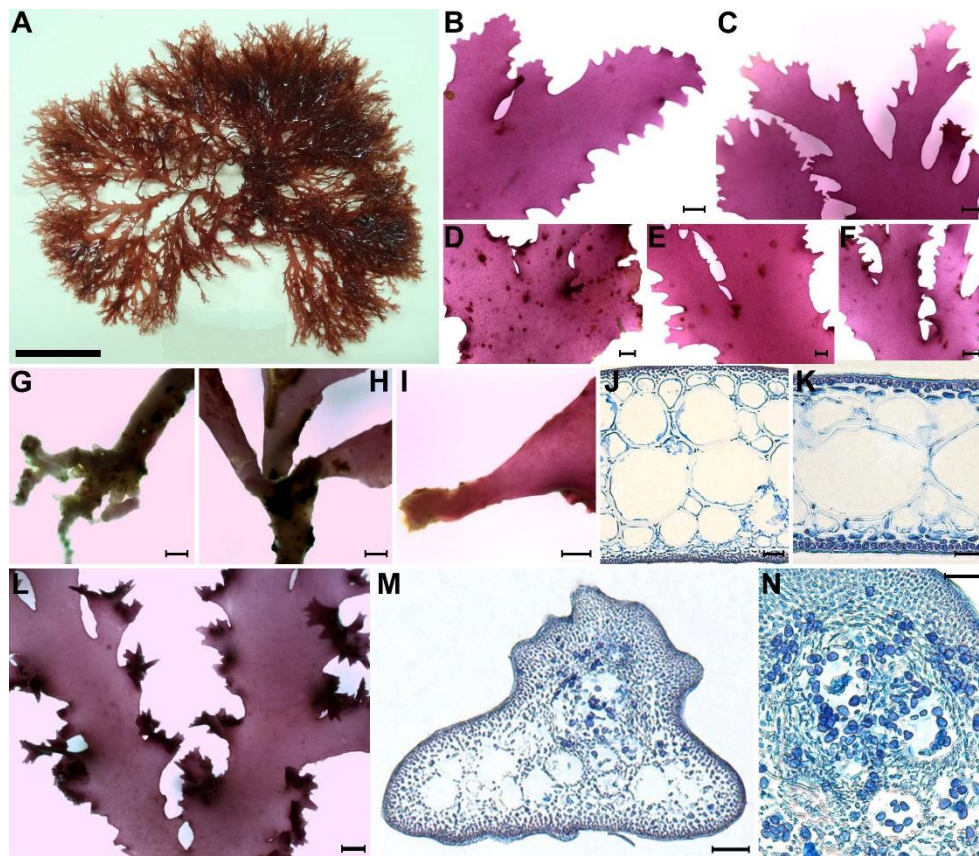
**Habitat:** Intertidal and subtidal zone, 3–6 m deep.

**Specimens examined:** Hado-ri, Jeju on May 15, 2012 (120515-19); Jongdal-ri, Jeju on June 6, 2012 (120606-03-04); Jongdal-ri, Jeju on April 23, 2014 (2014-v0016); (2014-s0001, female gametophyte); Seongsan, Jeju on June 27, 2014 (2014-s0001-4, female gametophyte).

**Morphology:** Plants, coloring red to brown-red, grow erect and flabellate (Fig. 8A) arising from a cylindrical stipe, and are generally found as single blade from a discoidal holdfast (Fig. 8I) or as several blades growing together

in a small clump with stipe branched from a stem attached by finger-like and creeping holdfast when mature (Fig. 8G-H). The length of thallus ranges from 7-10 cm in spring to more than 20 cm in summer. Thallus is subdichotomous or trichotomous irregularly in a same plane (Fig. 8D-F). Blades is narrower afterward apex, 2.5-9.0 mm wide at middle and 1.3-2.5 mm at upper, and thinner, about 430  $\mu\text{m}$  at basal, 330  $\mu\text{m}$  at middle and 210  $\mu\text{m}$  thick at upper. Many spiny protuberances are occurred along the margin of blades, and some of them looks like branchlets (Fig. 8B-F). Medulla consists of isodiametric cells, 59-119  $\mu\text{m}$  x 101-140  $\mu\text{m}$ , 3-4 celled layer at basal and middle (Fig. 8J), while large sub-isodiametric cells surrounded by several small isodiametric cells, 64-79  $\mu\text{m}$  x 58-84  $\mu\text{m}$  and 98-110  $\mu\text{m}$  x 125-130  $\mu\text{m}$ , at upper (Fig. 8K). Cortex two celled layer in basal and middle, one celled in upper, 3.8-5.9  $\mu\text{m}$  x 4.5-6.1  $\mu\text{m}$ . Cystocarps are borne at the center of spiny branchlets (Fig. 8L), and one-sided protuberant with several ostioles (Fig. 8M). The branchlets bearing cystocarps are crumpled or twisted (Fig. 8L). Carpospores are slightly ovoid to subisodiametric (Fig. 8N).





**Fig. 8.** *Callophyllis japonica* Okamura. (A) Vegetative habit showing slightly cartilaginous thallus. (B) Apex with much spiny protuberance laterally and apically. (C) Irregular branching patterns at the upper portion. (D-F) thallus branching at the middle portions and much spiny protuberance at the margin of frond. (G) Cylindrical stipe arising from finger-like holdfast. (H) Stipe branching. (I) Cuneate base of frond expanding wider and more flattened from basal to middle portion. (J) Cross section of medulla at the basal and middle portion of frond consisting of four isodiametric cells. (K) Cross section of frond at the upper portion consisting of one celled cortex, and large isodiametric cells of medulla surrounded by small cells (L) Cystocarps borne at the marginal spiny branchlets. (M) One-sided protuberant cystocarp. (N) Carpospores borne at gonimoblast filaments. Scale bars represent: A, 3 cm; B-C & E, 500  $\mu$ m; D & F & L, 1,000  $\mu$ m; J & N, 50  $\mu$ m; K, 25  $\mu$ m; M, 100  $\mu$ m.

2.5. *Callophyllis mollitia* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov.

[Text-Fig. 9: Lee and Kim 2014]

**Diagnosis:** Thallus membranous, tender, flattened, palmate, bright brown-red in color, sub-dichotomously branched, shortly stipitate, 3-5 cm long, 4.3-5.1 mm wide in the middle, attached to the substratum by a discoidal holdfast with several minute radical discs arising from the thallus; Apex roundish, margin smooth, cystocarps hemispherical scattered over the entire blades with 2-3 one-sided ostioles; tetrasporangia cruciately divided, scattered irregularly in the cortex.

**Holotype:** JN120725-07 (Fig. 9A), female gametophyte, collected at 12-15 m in depth of the subtidal zone on July 25, 2012, and deposited in the Herbarium of Department of Biology, Jeju National University, Korea (JNUB).

**Isotype:** NIBR (NIBRAL0000143265, vegetative) and JNUB (JN120725-08, ♀).

**Type locality:** Daesambudo, Yeosu, Korea (34°03'07.17" N, 127°22'56.58" E).

**Etymology:** The specific epithet (*mollitia*) was chosen to represent the tender

thallus of this species.

**Distribution:** Korea (this study)

**Specimens examined:** JN12sp001-4 (Jongdal, January 6, 2012, ♂);

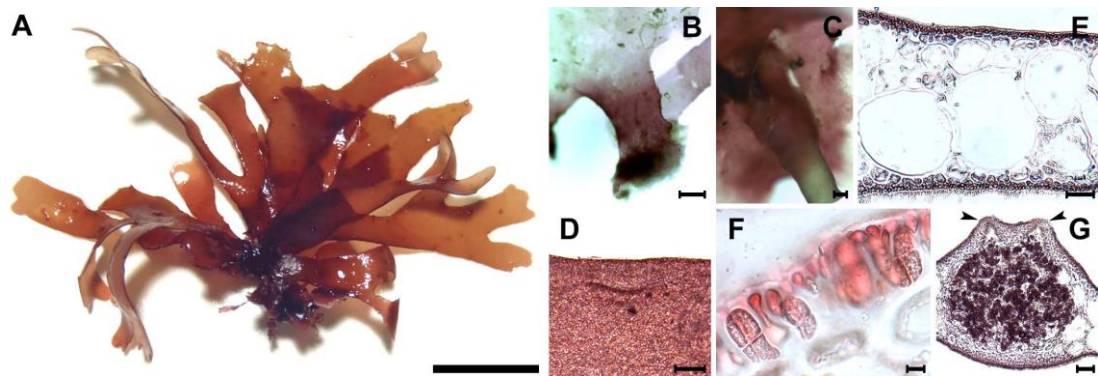
NIBRAL0000143265 (Daesambudo, July 25, 2012, vegetative), 120725-07-8

(Daesambudo, July 25, 2012, ♀); 120130-16-18 (Munseom, January 30, 2013,

vegetative).

**Morphology:** Plant is flattened, palmate, tender, membranous, and bright brown-red in color (Fig. 9A). Its thallus is branched irregularly 2-3 times (Fig. 9A). Thallus has a very short stipe arising from a radical disc (Fig. 9B), and is attached by several minute radical discs borne laterally or ventrally at the basal portion (Fig. 9C). The thallus is 3-5 cm long, 279.8-315.7  $\mu\text{m}$  thick, 1.9-2.9 mm wide at the basal, 4.3-5.1 mm wide at the middle, and 2.3-2.9 mm at the upper portion. The thallus margin is smooth all over (Fig. 9D). The apex is roundish or bluntly dissected. The medulla is made up of irregular isodiametric or sub-isodiametric cells (Fig. 9E), the smaller cells are 75-83  $\mu\text{m}$  x 80-110  $\mu\text{m}$  in size, and the larger cells are 141-204  $\mu\text{m}$  x 152-198  $\mu\text{m}$ . The

cortex is made up of bead-like cells, 5.3-5.9  $\mu\text{m}$  x 4.9-6.1  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 9E). Tetrasporangia are oblong and cruciately divided, and they are located in the cortex, 31.1-34.5  $\mu\text{m}$  x 13.0-15.6  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 9F). Cystocarps are scattered over the entirety of the blades, more protuberant dorsally than ventrally, and they have several ostioles opened dorsally (Fig. 9G). The cystocarps are 738.6-784.6  $\mu\text{m}$  x 795.3-818.7  $\mu\text{m}$ .



**Fig. 9.** *Callophyllis mollitia* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. (A) Holotype specimen (JN120727-07, ♀, Daesambudo, 7 July 2012). (B) The Main radical disc. (C) Minute radical discs borne at the basal portion of frond grasping substratum (articulated coralline algae). (D) Smooth margin of frond. (E) Cross section view showing medulla consisting of irregular size of isodiametric cells. (F) Teterasporangia cruciately divided scattered in the cortical layer. (G) Cross section view showing cystocarp with two ostioles (arrowheads). This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars represent: A, 1 cm; B, 500  $\mu$ m; C, 300  $\mu$ m; D & G, 100  $\mu$ m; E, 50  $\mu$ m; F, 10  $\mu$ m.

2.6. *Callophyllis repens* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov.

[Text-Fig. 10; Lee and Kim 2014]

**Diagnosis:** Thallus creeping, flattened, flabellate, slightly cartilaginous, dark red in color, dichotomously branched, 2-5 cm long, 2.1-2.8 wide in the middle, attached to the substratum by a discoidal holdfast with several minute radical discs; apex is acute; margin minutely crenulated, a few globular lateral protuberances, and adherent laterally to neighboring blade margins.

**Holotype:** JN120717-20 (Fig. 10A), vegetative plant, collected at 25-30 m in depth of the subtidal zone on July 17, 2012, and deposited in the Herbarium of Department of Biology, Jeju National University, Korea (JNUB).

**Isotype:** NIBR (NIBR0000143263, vegetative).

**Type locality:** Shinchang, Jeju, Korea (33°21'00.88" N, 126°09'51.26" E).

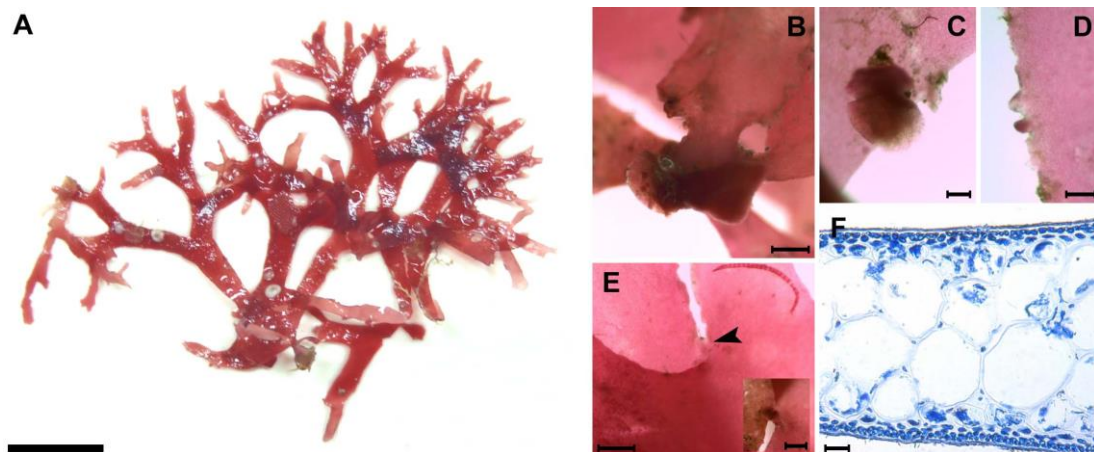
**Etymology:** The specific epithet (*repens*) was chosen to represent the creeping thallus of this species.

**Distribution:** Korea (this study).

**Specimens examined:** JN120717-20 (Shinchang, 17 July 2012, vegetative);

NIBR0000143263 (Shinchang, 17 July 2012, vegetative).

**Morphology:** Plants are flattened, slightly cartilaginous, and dark-red in color (Fig. 10A). The thallus is dichotomously branched in the same plane (Fig. 10A). The thallus arises from a main discoidal holdfast (Fig. 10B), and bears several minute radical discs at the basal portion (Fig. 10C). The thallus is 2-5 cm long, 200-220  $\mu\text{m}$  thick, and 2.1-2.8 mm wide at the middle portion, getting narrower to the upper portion, 0.9-1.7 mm wide. The apex is acute. The thallus margin is minutely crenulated (Fig. 10D). One blade of the thallus is adhered to another blade at the margin by the lateral protuberances of both blades (Fig. 10E). The medulla is made up of irregular isodiametric or sub-isodiametric cells, 61.8-90.1  $\mu\text{m}$  x 58.6-84.9  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 10F). Cortex is a one- or two-celled layer, 5.3-6.7  $\mu\text{m}$  x 5.2-6.9  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 10F).



**Fig. 10.** *Callophyllis repens* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. (A) Holotype specimen (JN120717-20, vegetative plant, Shinchang, 17 July 2012). (B) Main holdfast of the frond. (C) Minute radical disc borne at the basal portion of frond. (D) Globular protuberances borne from minutely crenulate margin of thallus. (E) The adhering point (arrowhead) of frond attached at the margin. (F) Cross section view showing one celled cortical layer and large isodiametric medullary cells surrounded by small cells. This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars represent: A, 2 cm; B & E, 500  $\mu\text{m}$ ; C-D, 200  $\mu\text{m}$ ; F, 25  $\mu\text{m}$ .



2.7. *Callophyllis serratifolia* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov.

[Text-Fig. 11; Lee and Kim 2014]

**Diagnosis:** Thallus flattened, flabellate, slightly cartilaginous, dark red in color, dichotomously branched in a bushy clump, shortly stipitate, 5-7 cm long, 2.3-4.9 mm wide in the middle, attached to the substratum by a discoidal holdfast; apex narrowly blunt; margins serrated; procarps consist of a supporting cell, 2-4 subsidiary cells, three-celled carpogonial branch; cystocarps spherical and scattered over the upper blades with 2-6 both-sided ostioles; tetrasporangia cruciately divided and scattered irregularly in the cortex.

**Holotype:** JN120602-04 (Fig. 11A), vegetative plant, collected at 8-15 m in depth of the subtidal zone on June 2, 2012, and deposited in the Herbarium of Department of Biology, Jeju National University, Korea (JNUB).

**Isotype:** JNUB (JN120602-5, ♀) and NIBR (NIBR0000143261, vegetative).

**Type locality.** Munseom, Seogwipo, Korea (33°13'40.25" N, 126°34'01.05" E).

**Etymology:** The specific epithet (*serratifolia*) was chosen to represent the fact that the marginal outline of this species has serrated edges.

**Distribution:** Korea (Lee 2008, this study) and Japan (this study).

**Specimens examined:** JN120513-22, 24 (Munseom, May 13, 2012, vegetative);

JN120602-04, NIBR0000143261 (Munseom, June 2, 2012, vegetative);

JN120602-05 (Munseom, June 2, 2012, ♀); JN120725-49-52 (Geomundo, July

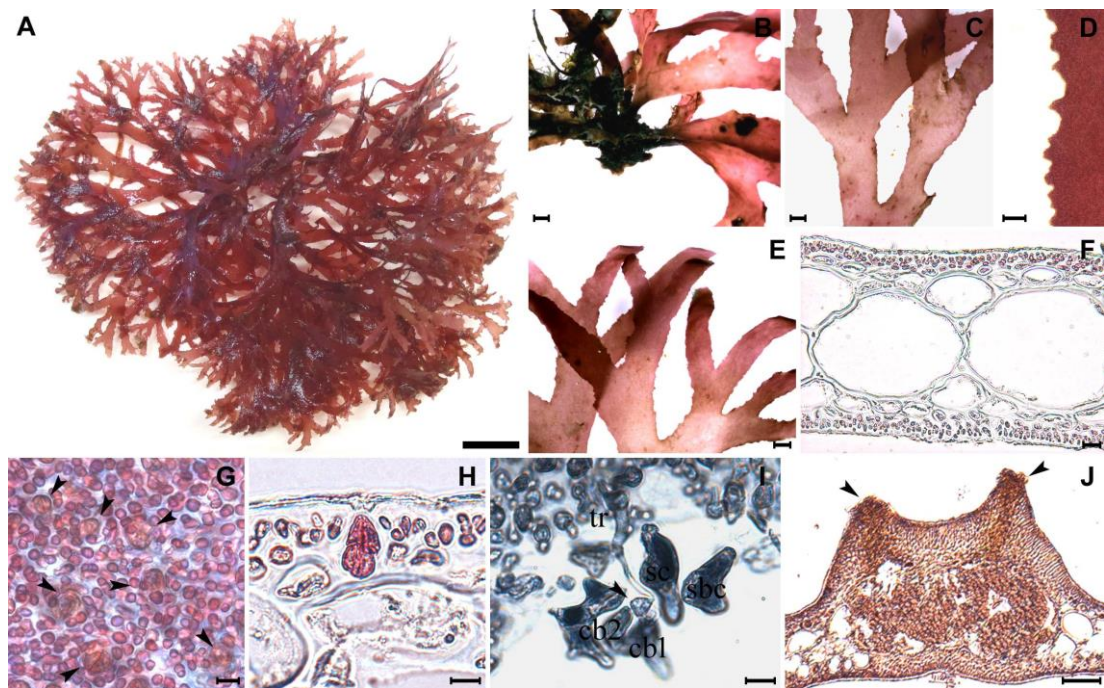
28, 2012, vegetative); JN120727-43 (Dueokdo, July 27, 2012, ⊕); 120727-44

(Dueokdo, July 27, 2012, ♀); JN2013-v0285 (Seopseom, April 5, 2013, ⊕);

130616-25 (Munseom, July 16, 2013, ♀).

**Morphology:** Plants are flattened, flabellate, slightly cartilaginous, and dark-red in color (Fig. 11A), arising from a short cylindrical stipe. The thallus grows as a single blade or a small clump with several blades from a discoidal holdfast (Fig. 11B). The thallus is usually 5-7 cm long, occasionally up to 10 cm long, 2.3-4.9 mm wide at the middle branches, 1.2-2.1 mm wide at the upper part, 320-395  $\mu\text{m}$  thick at the basal, and 193-212  $\mu\text{m}$  thick at the middle. The thallus is dichotomously branched in the same plane (Fig. 11C), and serrated

at the margins (Fig. 11D). The apex is narrowly blunt (Fig. 11E). The medullar consists of large sub-isodiametric central cells, 97-102  $\mu\text{m}$  x 101-127  $\mu\text{m}$  in diameter, surrounded by several small cells, 54-71  $\mu\text{m}$  x 55-82  $\mu\text{m}$  in diameter (Fig. 11F). The cortex is usually a two-cell layer consisting of cortical cells, 4.6-6.7  $\mu\text{m}$  x 5.2-7.8  $\mu\text{m}$  in diameter (Fig. 11F). Tetrasporangia are irregularly scattered on the thallus surface (Fig. 11G), and are cruciately divided in the cortical layer, 2.0-2.3  $\mu\text{m}$  x 9.5-10.9  $\mu\text{m}$  in diameter (Fig. 11H). The procarp consists of three-celled carpogonial branches arising from a supporting cell with two subsidiary cells (Fig. 11I). Cystocarps are located on the surface of the upper branches, are 890.4-842.4  $\mu\text{m}$  x 870.6-920.9  $\mu\text{m}$ , and protude toward both sides with both-sided ostioles (Fig. 11J).



**Fig. 11.** *Callophyllis serratifolia* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. (A) Holotype specimen (JN120602-04, vegetative plant, Munseom, 2 June 2012). (B) A discoidal holdfast bearing several fronds. (C) Thallus dichotomously branched. (D) The serration at the margin of frond. (E) Frond having narrowly blunt apex (F) Cross section of frond showing two celled layer of cortex, and large isodiametric cells of central medulla surrounded by small cells. (G) Surface view showing scattered tetrasporangia (arrowheads). (H) Tetrasporangia cruciately divided in the cortical layer. (I) Three celled carpogonial branch and carpogonium (arrowhead) borne supporting cell with subsidiary cells. (J) Cross section of cystocarp with two ostioles (arrowheads). This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars represent: A, 1 cm; B, C & E, 1,000  $\mu\text{m}$ ; D & J, 100  $\mu\text{m}$ ; F, 20  $\mu\text{m}$ ; G-I, 10  $\mu\text{m}$ .

2.8. *Callophyllis undulata* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov.

[Text-Fig. 12; Lee and Kim 2014]

**Diagnosis:** Thallus flattened, flabellate, membranous, erect, stipitate, light scarlet to bright red in color, dichotomously branched in a bushy clump, 3–8 cm long, 2.8–9.9 mm wide in the middle, attached to the substratum by a discoidal holdfast; apex roundish; margin pleated.

**Holotype:** JNHU110612-01 (Fig. 12A), vegetative plant, collected at 25–30 m in depth of the subtidal zone on June 12, 2011, and deposited in the Herbarium of Department of Biology, Jeju National University, Korea (JNUB).

**Isotype:** JNUB (JNHU110612-2, vegetative) and NIBR (NIBR0000143262, vegetative).

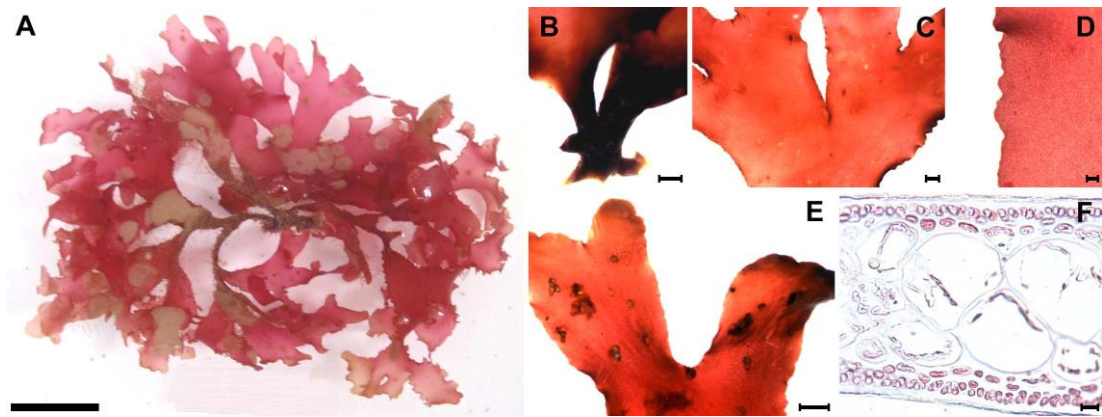
**Type locality:** Udo Channel, Jeju, Korea (33°29′55.19″ N, 126°56′02.53″ E).

**Etymology:** The specific epithet (*undulata*) was chosen to represent the pleated edge of the marginal outline of this species.

**Distribution:** Korea (this study).

**Specimens examined:** JNHU110612-01 & 03, NIBR0000143262 (Udo Channel, June 12, 2011, vegetative).

**Morphology:** Plants are erect, flabellate, scarlet to bright-red in color (Fig 12A), and have a cylindrical stipe that arises from a discoidal holdfast (Fig. 12B). The thallus is 3-8 cm long, 2.8-9.9 mm wide, and 99.1-190.5  $\mu\text{m}$  thick. The thallus is dichotomously branched (Fig. 12C), pleated, and bluntly serrated at the margin (Fig. 12D). The apex is roundish (Fig. 12E). The medulla is almost entirely a two-celled layer of large sub-diametric cells, 42.2-85.4  $\mu\text{m}$  x 39.6-86.6  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 12F). The cortex is one or two layered: The outer cortical cells are bead-like, 3.5-5.2  $\mu\text{m}$  x 3.3-5.0  $\mu\text{m}$  in size, and the inner cortical cells are oblong, 2.5-5.2  $\mu\text{m}$  x 6.4-8.6  $\mu\text{m}$  in size (Fig. 12F).



**Fig. 12.** *Callophyllis undulata* H. W. Lee & M. S. Kim sp. nov. (A) Holotype specimen (JNHU110612-01, vegetative plant, Udo Channel, 2 June 2011). (B) Two stipes arising from a discoidal holdfast. (C) Thallus having pleated margin and dichotomously branched frond. (D) Thallus margin pleated and bluntly serrate. (E) Frond having roundish apex. (F) Cross section showing two celled layers of the cortex consisting of isodiametric cells at the outer layer and oblong cells at the inner, and two or three layered isodiametric medullary cells. This figure is referred by Lee and Kim (2014). Scale bars; A, 1 cm; B-C & E, 1,000  $\mu\text{m}$ ; D, 100  $\mu\text{m}$ ; F, 10  $\mu\text{m}$ .

## IV. 고 찰

본 연구에서 총 10종의 한국 및 일본산 붉은잎속 분류군에 대한 종 경계를 설정할 수 있었으며, 국내 미기록종인 *C. hayamensis*와 5종의 신종, *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov., *C. repens* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.를 밝혀내었다(Lee and Kim 2014). *rbcl* 유전자는 종 단위 수준에서의 해상력이 높아 현재 NCBI GenBank에 다양한 붉은잎속 분류군의 염기서열 정보가 등록되어 있어 종의 분류학적 위치를 결정하는데 유용하다. Arakaki 등 (2011)은 붉은잎속에 대한 *rbcl*분석에서 2%의 변이율을 종을 구분하는 기준으로 제시하였다. 그러나 형태적으로 뚜렷한 차이를 보이는 *C. hayamensis*와 *C. serratifolia* sp. nov.의 종간 변이율 0.9-1.0%, *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.의 종간 변이율 0.6-0.8%으로 비교적 낮은 수준으로 명확한 종 경계를 설정하는데 어려움이 있다. 반면에 COI-5P 유전자 마커는 전체 701bp 중, *rbcl* 분자마커에 비해 높은 종간 변이율 (2.8-9.5%)을 보여주었다(Table 4). 또한 *rbcl*에서 가장 낮은 0.6-0.8%의 종간변이율을 보이는 *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.에서 2.8-3.1%의 종간변이율을 나타내며 붉은잎속의 종을 구분하는데 *rbcl* 마커에 비해 보다 명확한 종 경계를 설정해준다. 이는 북동태평양



연안에 분포하는 붉은잎속에 대하여, COI-5P가 2.6%를 기준으로 종을 구분하는데 유용한 마커임을 입증한 연구 결과가 뒷받침해준다(Clarkston and Saunders 2013).

본 연구에서는 엽상체의 모양, 엽상체의 분지패턴 및 엽체의 폭 등의 특징을 비롯하여 기부 형태, 엽상체 정단부 형태 그리고 엽상체 가장자리의 주름구조 또는 톱니모양의 돌기형성 정도를 포함하여 붉은잎속 10종에 대하여 구분하였다 (Table 5). *C. japonica* (벚붉은잎)와 *C. cartilaginea* sp. nov.는 하나의 부착기로부터 직립하여 생장하고, *C. adhaerens*, *C. hayamensis*, *C. serratifolia* sp. nov.와 *C. undulata* sp. nov.는 하나의 부착기를 가지고 직립한 엽병으로부터 납작하게 기질에 평행하게 누워 자라는 특징을 가지고 있으며, *C. mollitia* sp. nov.와 *C. repens* sp. nov.는 여러 개의 부착기에 의해 기질에 기어자라는 특징을 지니고 있다. 한국산 붉은잎속 8종의 수직분포를 살펴보면, 직립하는 형태의 *C. japonica*와 *C. cartilaginea* sp. nov.가 수심 5-10 m의 조하대에서 주로 분포하고, 기질에 평행하게 누워 자라는 분류군의 경우 *C. adhaerens*와 *C. serratifolia* sp. nov.는 수심 10-20 m에 그리고 *C. hayamensis*와 *C. undulata* sp. nov.는 20 m 이하의 깊은 수심대에 분포한다. 그리고 기질에 기어 자라는 분류군의 경우 *C. mollitia* sp. nov.는 10-20 m, *C. repens* sp. nov.는 20 m 이하의 조하대에 분포한다. 직립하는 분류군들은 10 m 이상의 조하대 상부에 분포하고 누워 자라거나 기어자라는 분류군

의 경우 10 m 이하의 조하대에 혼재하여 분포하는 것으로 유추할 수 있으나, 붉은  
잎속 분류군의 수직분포를 부착 및 성장형태 연관시켜 설명하기에는 현재로서는 한  
계가 있다. 그러므로 붉은잎속의 수직분포와 부착 및 성장형태의 상관관계를 입증  
하기 위해서는 한반도뿐만 아니라 세계 여러 지역에 생육하는 다양한 붉은잎속 종  
들의 부착 및 성장형태와 수직분포에 대한 정보가 필요하다.

*C. hayamensis*와 *C. undulata* sp. nov.는 비교적 정형화된 두 갈래 분지를 하면  
서 부채꼴 형태로 자라는 공통형질을 지니고 있다. 그러나 *C. hayamensis*는 직립  
한 엽병으로부터 기질에 평행하게 자라며 배면의 피층과 복면의 피층 구조가 서로  
다른 특징과 함께 엽체 가장자리의 거치가 비교적 무딘 톱니모양을 지니고 있지만  
(Fig. 7; Yamada 1941), *C. undulata* sp. nov.는 배면과 복면의 피층구조가 동일하  
고 엽상체 가장자리에 주름구조가 잘 발달해 있는 차이를 보인다(Fig. 12). *C.*  
*adhaerens*와 *C. repens*는 엽상체들이 성장하면서 서로 연결하는 특징을 보이는데,  
*C. adhaerens*는 엽상체에 둔각의 돌기들이 자라고 서로 이웃하는 엽상체의 배면  
(dorsal portion)과 복면(ventral portion)이 서로 맞닿아 연결하지만(Fig. 5;  
Yamada 1932) *C. repens* sp. nov.는 불규칙한 분지패턴을 보이며 분지들이 측면  
가장자리에서 서로 연결한다(Fig. 10). *C. mollitia* sp. nov.는 분지된 엽체의 분지패  
턴이나 분지 횡수, 그리고 기질 부착형태는 *C. adnata*와 유사하지만, *C. adnata*는

엽체의 폭이 10-20 mm로 *C. mollitia* sp. nov.에 3-5배 더 넓으면서 엽체의 가장 자리에 거치를 발달하지 않고 부드러운 *C. mollitia* sp. nov.와 달리 무딘 톱니모양의 구조가 나타나는 차이를 보인다(Table 5). *C. japonica*는 북서태평양에 분포하는 다른 종들과 달리 독특하게 가장자리에 톱니모양의 돌기가 가장 잘 발달하면서 가장자리를 따라 날카로운 유한지가 자라는 특징을 지닌다(Fig. 8; Okamura 1936). *C. serratifolia* sp. nov. 또한 엽체의 가장자리를 따라 날카로운 톱니모양의 거치가 발달하지만(Fig. 11), *C. japonica*처럼 가장자리를 따라 날카로운 유한지를 내거나 *C. crispata*처럼 주름구조를 나타내지 않는다(Table 5). *C. undulata* sp. nov.는 일본산 *C. crispata*처럼 엽체의 가장자리에 주름구조가 발달하였지만, *C. undulata*는 *C. crispata*에 비해 뚜렷하게 두갈래 분지를 하며 부채꼴 형태로 자라며(Fig. 12), 개체의 크기와 엽체의 폭에서 큰 차이를 보인다(Table 5).

사분포자낭의 분열패턴은 돌가사리목(Gigartinales)에서 과(family)를 분류하는 기준이 되는데(Kylin 1932), 붉은뿔떡갈과는 돌가사리과(Gigartinaceae)와 함께 십자형 분열한다(Schmitz and Hauptfleisch 1897). 본 연구에서 *C. mollitia* sp. nov.와 *C. serratifolia* sp. nov.에서 피층세포 사이에 산재하여 분포하여 십자형 분열을 하는 사분포자낭을 확인하였다(Figure 9F and 11H). 북동태평양 연안에 분포하는 붉은잎속의 경우 사분포자낭반(tetrasporangial sori)의 형성 유무에 따라 분류하는데

(Dawson 1954; Norris 1957; Abbott and Norris 1966), 본 연구에서 확인한 한국 산 붉은잎속 2종의 사분포자낭들은 피층에 산재한다.

붉은잎속의 암배우체에서 낭과(cystocarp)는 엽체의 표면, 또는 엽체의 가장자리 부분이나 엽체 측면으로 발달하는 유한지에 형성되며(Norris 1957), 낭과에 과공(ostiole)이 형성되며 과공의 개수와 과포자낭이 부풀어 오르는 방향이나 과공의 방향은 종에 따라 차이를 보인다(Dawson 1954; Norris 1957; Abbott and Norris 1966). 본 연구에서 *C. hayamensis* (Fig. 7), *C. japonica* (Fig. 8), *C. mollitia* sp. nov. (Fig. 9)와 *C. serratifolia* sp. nov. (Fig. 11)에서 낭과를 확인하였다. 이중 *C. japonica*만이 엽체의 가장자리를 따라서 발달한 유한지에 낭과가 형성되고, *C. hayamensis*, *C. mollitia* sp. nov.와 *C. serratifolia* sp. nov.의 낭과는 엽상체 상부에서 마지막으로 분지한 엽체 표면에 불규칙하게 산재하여 형성된다. *C. hayamensis*와 *C. mollitia* sp. nov. 경우 배면(dorsal) 방향으로만 낭과가 부풀어 오르며 과공도 배측으로만 형성된다. 이에 반해, *C. serratifolia* sp. nov.는 낭과가 배측(dorsal)과 복측(ventral) 양방향으로 부풀어 오르고 과공 또한 양방향으로 형성되는 차이를 보인다. 그러므로 낭과의 형성 위치, 과공의 개수와 방향은 붉은잎속의 종을 구분하는데 필요한 중요 형질임을 알 수 있다.

붉은잎속의 암생식기관 발달과정에서, 태원열 (carpogonial branch)은 전과체

(procarp)에서 세 개의 세포로 이루어져 발달한다(Arakaki et al. 2011). 본 연구에서는 *C. serratifolia* sp. nov.에서만 확인되었다. *C. serratifolia* sp. nov.에서 3세포성의 태원열이 하나의 지지세포(supporting cell)에서 형성되며, 2개 이상 다각형의 보조세포(subsidiary cell)를 갖는다 (Fig. 11I). 수정된 후, 보조세포 중 하나의 말단부에서 세포가 분할 되면서 연결세포(connecting cell)을 형성하지만(Lin et al. 2012), 본 연구에서는 관찰되지 않았다. Abbott과 Norris (1966)는 북동태평양 연안에 분포하는 붉은잎속 분류군들이 전과체에서 형성되는 태원열의 개수가 붉은잎속 내 계통을 분류하는 중요한 특징이 될 수 있음을 제안하면서, 하나의 태원열(monocarpogonial branch system)을 계통군과 여러 개의 태원열(polycarpogonial branch system)을 갖는 두 개의 계통군으로 분류하였다. Clarkston과 Saunders (2013)의 COI-5P, LSU rRNA 및 EF2 유전자 염기서열을 유합분석 수행하여, 전과체에서 형성되는 태원열의 개수에 따라 두 계통군이 나뉘어짐을 확인하였다. 본 연구에서 도출한 COI-5P 계통수를 살펴보면, 북서태평양에 분포하는 붉은잎속 분류군들 중, *C. adnata*, *C. hayamensis*, *C. japonica*, *C. mollitia* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov. 및 *C. undulata* sp. nov.는 monocarpogonial 계통군과 자매그룹을 형성하고, polycarpogonial 계통군에 속하는 분류군은 본 연구에서 확인되지 않았다(Fig. 4). 그리고 *C. adhaerens*와 *C.*

*crispata*는 monocarpogonial 계통군 또는 polycarpogonial 계통군과 근연관계를 형성하지 않고, 각각 독립적인 단계통군을 형성하고 있다. 현재까지도 암생식기관 발달과정이 확인되지 않은 분류군들이 다수 존재하므로, 붉은잎속 분류군들의 계통학적 유연관계를 정립하기 위해서는 암생식기관 발달과정에서 각 분류군별 형성되는 태원열 수에 대한 향후 심도 있는 형태관찰 분석이 우선적으로 요구되며, 이들 분류군에 대한 COI-5P 및 *rbcL* 유전자를 비롯한 다양한 유전자 구간을 유합한 분자계통분석을 통해 monocarpogony와 polycarpogony로 나뉘어지는 계통분류를 뒷받침할 수 있는 근거를 제시하여야 할 것이다.

본 연구에서는 기존에 한반도 연안에 보고되었던 7종 중, *C. adhaerens* (좁은붉은잎)와 *C. japonica* (벚붉은잎), 두 종의 실체를 확인하였다. 붉은잎속에서 *Salishia*로 속(genus)이 이전된 *S. firma*를 제외하고, 한반도에 *C. adnata* (넓은붉은잎), *C. crispata* (주름붉은잎), *C. palmata* 및 *C. ryncocarpa* (부리붉은잎)이 생육하는 것으로 보고되어 있지만(Kang 1968; Lee and Kang 2001; Lee2008), 본 연구에서 그 실체는 확인하지 못하였다. 그러므로 이들의 실체를 밝히기 위하여, 본 연구에서 확인된 한국산 붉은잎속 8종 이외에도 한반도에 분포하는 다양한 붉은잎속 표본을 확보하고 기준모식산지 표본과 비교 및 분석하여 종 다양성을 확인하는 연구를 지속적으로 수행되어야 할 필요가 있다.

**Table 5.** A comparison of taxonomic characteristics among the species of *Callophyllis* including five new species. This table is referred by Lee and Kim (2014).

	<i>C. cartialginea</i> sp. nov.	<i>C. mollitia</i> sp. nov.	<i>C. repens</i> sp. nov.	<i>C. serratifolia</i> sp. nov.	<i>C. undulata</i> sp. nov.
Habitat (depth)	On rocks (5-10 m deep)	On corallines or invertebrates (10-15 m deep)	On rocks or corallines (25-30 m deep)	On rocks (8-15 m deep)	On rocks (25-30 m deep)
Thallus	Erect, cartilaginous, in a bushy clump	Flattened, palmate, membranous in tender	Flattened, slightly cartilaginous, creeping	Flattened, slightly cartilaginous, in a bushy clump	Flattened, membranous, in a bushy clump
Branching	Di- or trichotomous	Sub-dichotomous	Dichotomous	Dichotomous	Dichotomous
Color	Dark- to brown-red	Bright brown-red	Dark red	Dark red	Light scarlet to bright red
Length	5-7 cm long (up to 15 cm long)	3-5 cm long (up to 8 cm long)	2-5 cm long	5-7 cm long (up to 10 cm long)	3-8 cm long
Width (in middle)	1.1-1.7 mm wide	4.3-5.1 mm wide	2.1-2.8 mm wide	2.3-3.2 mm wide	7.6-9.9 mm wide
Apex	Acute	Roundish or bluntly dissected	Acute	Narrowly blunt	Roundish
Margin	Smooth and spinescent protuberances	Smooth	slightly crenulate	Serrate	Pleated and crenulate
Adherence Attachment	None A sub-discoïd holdfast	None Minute radical discs	lateral margin to margin A discoïd holdfast and minute radical discs	None A discoïd holdfast	None A discoïd holdfast
Cystocarp	-	Over the entire blades scatteredly	-	Over the upper blades scatteredly	-
Ostiole	-	2-3 one-sided	-	2-6 one or both-sided	-
Reference	This study	This study	This study	This study	This study

**Table 5.** Continued.

	<i>C. adhaerens</i> Yamada	<i>C. adnata</i> Okamura	<i>C. crispata</i> Okamura	<i>C. hayamensis</i> Yamada	<i>C. japonica</i> Okamura
Habitat (depth)	On rocks or other algae (10-15 m deep)	Not determined	On rocks in subtidal	On rocks or invertebrates (20-25 m deep)	On rocks (3-6 m deep)
Thallus	Flattened, membranous	Flattened, softly membranous	Erect, membranous	Stipe erect and blade flattened, membranous	Erect, membranous, in a bushy clump
Branching	Pinnately dichotomous	Dichotomous in short interval	Di- or polychotomous	Dichotomous	Irregularly di- to subdichotomous
Color	Bright red	Red and often fading ferruginous	Blooded or rosy	Scarlet to dark red	Dark- to brown-red
Length	3-7 cm long	6-10 cm long	10-20 cm long	4-7 cm long	7-10 cm long (up to 20cm long)
Width (in middle)	1.8-2.3 mm wide	10-20 mm wide	20-30 mm wide	6.4-8.1 mm wide	2.5-9.0 mm wide
Apex	Obtuse	Obtuse and expanded	Roundish	Roundish obtuse	Acute
Margin	Smooth and small protuberance	Entirely or more/less crenulate	Naked in sterile, minutely curled in fertile	Slightly crenulate	Spinescent protuberance and some branchlets
Adherence	To each other or to other things	None	None	None	None
Attachment	A discoid holdfast	Minute radical discs	A discoid holdfast	A discoid holdfast	A discoid holdfast
Cystocarp	Along the margin	Over the upper blades scatteredly	At the margin or on the surface	Over the upper blades scatteredly	On center of branchlets along the margin
Ostiole	-	1-2 ostioles	1 ostiole	2-6 one-sided ostioles	2-4 one-sided ostioles
Reference	Yamada (1932)	Okamura (1932)	Okamura (1896, 1916)	Yamada (1941)	Okamura (1936)



## V. 결 론

본 연구에서는 한반도 남해안과 제주도 연안의 조간대 및 조하대에 서식하는 붉은잎속의 엽상체 형태, 분지패턴, 기부형태 및 낭과의 생성 위치 등 형태형질에 근거하여 분류된 8종과 기준모식산지인 일본에서 채집된 3종의 분자형질을 분석하였다. SSU rDNA, *rbcL* 및 COI-5P 유전자 마커를 분석하였다. 붉은잎속은 환경에 따른 형태적 변이가 심하고 명확하게 종의 경계가 정립되지 않아 형태형질만을 기준으로 종을 구분하기에 한계가 있는데, *rbcL*과 COI-5P 마커는 종 동정을 위해 유효한 종 해상력을 제공하였다. 특히 COI-5P는 *rbcL*에 비해 염기서열의 길이가 짧아 빠른 분자형질 분석이 가능하고, 염기서열 변이율이 높아 종간 변이율이 2.8-9.5%로 0.6-6.4%인 *rbcL*보다 명확한 종의 구분이 가능하였다. 형태형질과 분자형질 분석 결과를 통해 기존에 보고되었던 *Callophyllis adhaerens*와 *C. japonica*의 실체를 확인하고 미기록종인 *C. hayamensis*와 잠재종 5종을 발굴하였다. 그리고 *C. serratifolia* sp. nov.의 암생식기관 발달과정을 추적하여 세 개의 세포로 구성되는 태원열의 구조, 낭과의 형태 등, 붉은잎속의 암생식기관 발달과정을 인지하였다. 붉은잎속 분류군의 계통학적 유연관계를 파악하기 위하여 COI-5P 분자마커를 이용

한 ML 및 BI 계통분석과 암생식기관 발달 시 형성되는 태원열의 개수를 접목하였으나, 아직까지 암생식기관 발달과정이 밝혀지지 않은 분류군이 많고 COI-5P 분자마커의 계통분석 만으로는 한계가 있다. 그러므로 *rbcL*과 COI-5P 분자마커를 유합한 계통분석과 더 많은 종의 암생식기관 발달과정을 추적하여 정의할 필요가 있다. 본 연구에서 확인된 붉은잎속 8종의 형태형질과 분자형질 분석 결과는 향후 북서태평양 연안에 분포하는 붉은잎속의 계통학적 유연관계를 파악하는데 유용한 정보를 제공할 것이며, 더 나아가 태평양 연안에 분포하는 붉은잎속의 진화계통 및 계통지리를 연구하는데 중요한 기초자료가 될 것이다.

## VI. 참고 문헌

- Abbott IA, Norris RE. 1966. Studies on *Callophyllis* (Rhodophyceae) from the Pacific coast of North America. *Nova Hedwigia* 10: 67-84.
- Arakaki N, Alveal K, Ramirez ME, Fredericq S. 2011. The genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae, Rhodophyta) from the central-south Chilean coast (33° to 41°S), with the description of two new species. *Revista Chilena de Historia Natural* 84: 481-499.
- Clarkston BE, Saunders GW. 2012. An examination of the red algal genus *Pigetia* (Kallymeniaceae, Gigartinales), with descriptions of *Salishia firma* gen. & comb. nov., *Pugetia cryptica* sp. nov. and *Beringia wynei* sp. nov. *Phycologia* 51: 33-61.
- Clarkston BE, Saunders GW. 2013. Resolving species diversity in the red algal genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae, Gigartinales) in Canada using molecular assisted alpha taxonomy. *European Journal of Phycology* 48: 27-46.
- Dawson EY. 1954. Marine red algae of Pacific Mexico. Part 2. Cryptonemiales

(cont.). Allan Hancock Pacific Expeditions 17: 241-398.

Guiry MD, Guiry GM. 2014. Algaebase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>. Accessed 31 July 2014.

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Ser. 41: 95-98.

Harper JT, Saunders GW. 2002. Using molecular data to resolve the taxonomic limits of the genera *Callophyllis*, *Euthora* and *Pugetia*. Phycological Research 50: 275-281.

Kang JW. 1968. Illustrated encyclopedia of fauna and flora of Korea. Vol. 8. Marine algae. Sam-Hwa Publisher, Seoul, 90 pp.

Kim MS, Kim SY, Yang MY, Kim B, Diaz-Tapia P. 2012. Morphology and molecular study of *Pterosiphonia arenosa* sp. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Jeju Island, Korea. Algae 26: 211-219.

Klochkova TA, Kim GH, Klochkova NG, Belij MN, Boo GH, Boo SM. 2013. *Callophyllis cornu-cervi* (Perestenko) comb. nov. (Gigartinales,

- Rhodophyta): re-evaluation of the endemic monotypic genus *Ionia* from the Sea of Okhotsk based on morphology and molecular evidence. *Botanica Marina* 56: 119-129.
- Kützing FT. 1843. *Phycologia generalis oder anatomie, physiologie und systemkunde der tänge*. Brockhaus, Leipzig.
- Kylin H. 1928. Entwicklungsgeschichtliche Florideenstudien. *Acta Univ. Lund.* 24(4): 1-127.
- Kylin H. 1932. Die Florideenordnung Gigartinales. *Acta Univ. Lund.* 28(8): 1-88, plates 1-28.
- Lee HW, Kim MS. 2014. Cryptic species diversity of the red algal genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae, Gigartinales) from Korea. *J Ecol Environ* 37: 395-410.
- Lee Y, Kang S. 2001. *A Catalogue of the Seaweeds in Korea*. Jeju National University Press, Jeju.
- Lee Y. 2008. *Marine algae of Jeju*. pp. [i]-xvi, 1-477, map. Academy Publishing Co., Seoul. (in Korean)
- Lin SM, D'Archino R, Hommersand MH. 2012. A new method of cystocarp

- development in the red algal genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae) from Chile. *Journal of Phycology* 48: 784-792.
- Norris RE. 1957. Morphological studies on the Kallymeniaceae. University of California Publications in Botany 218: 251-334.
- Okamura K. 1896 Contributions to the knowledge of the marine algae of Japan. II. *Botanical Magazine, Tokyo* 10: 21-28, 33-40.
- Okamura K. 1916. *Icones of Japanese algae*. Vol. 4. No. II. Tokyo. pp. 21-39, pls. 156-160.
- Okamura K. 1932. *Icones of Japanese algae*. Vol. 6. No. VIII. Tokyo. pp. 75-82, pls. 286-290.
- Okamura K. 1936. *Nippon Kaisô shi* [Descriptions of Japanese algae]. [4], [1]-964, [1]-11, frontispiece portrait, 1-427 figs. Tokyo: Uchida Rokakuho. (in Japanese)
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Saunders GW. 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species

diversity. 1. The foliose *Dilsea-Neodilsea* complex and *Weeksia*.

Botany 90: 191-203.

Saunders GW, Moore TE. 2013. Refinements for the amplification and sequencing of red algal DNA barcode and RedToL phylogenetic markers: a summary of current primers, profiles and strategies. *Algae* 28: 31-43.

Schmitz F, Hauptfleisch P. 1897. Rhodophyceae. In A. Engler and K. Prantl, 'Die natürlichen Pflanzenfamilien', Teil 1, Abt 2, pp. 298-544.

Stamatakis A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.

Wittmann W. 1965. Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. *Stain Technology* 40: 161-164.

- Womersley HBS, Norris RE. 1971. The morphology and taxonomy of  
Australian Kallymeniaceae (Rhodophyta). Australian Journal of Botany  
Supplement 2: 1-62.
- Xia BM. 2000. Flora Algarum Marinarum Sinicarum, Tomus 2 Rhodophyta,  
No. 3. Gelidiales, Cryptonemiales, Hildenbrandiales. Science Press,  
Beijing, China.
- Yamada Y. 1932. Notes on some Japanese algae IV. Journal of the Faculty of  
Science, Hokkaido Imperial University. Ser. V, 2: 267-276.
- Yamada Y. 1941. Notes on some Japanese algae IX. Scientific Papers of the  
Institute of Algological Research, Faculty of Science, Hokkaido  
Imperial University 2(2): 195-215.
- Yoshida T. 1998. Marine algae of Japan. Uchida Rokakuho Publishing Co. Ltd.,  
Tokyo. (in Japanese)



## 국 문 초 록

홍조류 붉은잎속(*Callophyllis*)는 붉은땀띠과(Kallymeniaceae)에 속하는 분류군 중 가장 큰 분류군으로서, 전 세계 60여종이 보고되어 있으며 주로 온대지역에 분포한다. 붉은잎속은 현재까지도 종 경계 설정이 모호하여, 종들 간의 계통학적 유연관계가 잘 정립되어 있지 않다. 한국에는 지금까지 붉은잎속 6종이 보고되어 있지만, 모호한 종 경계로 인하여 정확한 동정에 한계를 가지고 있다. 그러므로 본 연구는 한국산 붉은잎속의 종 다양성을 확인하고 계통학적 유연관계를 밝히고자 한다. 한국산 붉은잎속의 형태형질 관찰 및 분자계통분석을 수행하기 위하여, 제주도를 포함한 한반도 남해안에서 채집이 수행되었으며, 일본의 기준모식산지로부터 세 종의 붉은잎속 표본도 채집되었다. 핵의 SSU rDNA, 엽록체 *rbcL* 및 미토콘드리아 COI-5P 유전자 마커를 이용한 분자형질 분석 결과, 한반도에 분포하는 것으로 보고되어 온 *C. adhaerens* (좁은붉은잎)과 *C. japonica* (벚붉은잎), 미기록종인 *C. hayamensis*, 그리고 본 연구를 통하여 새로이 밝혀진 *C. cartilaginea* sp. nov., *C. mollitia* sp. nov., *C. repens* sp. nov., *C. serratifolia* sp. nov. 및 *C. undulata* sp. nov., 붉은잎속 8종이 확인되었다. COI-5P 유전자 마커는 종간 변이율이 0.6-6.4%

인 *rbcL*보다 높은 2.8-9.5%의 중간 변이율로 한국산 붉은잎속 8종을 구분할 수 있는 종 해상력을 제공하였다. 그리고 이전에 보고되었던 *C. adnata*와 *C. crispata*는 기준모식산지인 일본산 표본과 일치하는 한국산 표본은 본 연구에서 확인되지 않았다. 미기록종인 *C. hayamensis*는 이분지를 하는 원통형의 엽병으로부터 2-3회 이분지하며 부채꼴로 성장한다. 기질로부터 직립하며 부채꼴로 이분지 또는 다분지하는 *C. cartilaginea* sp. nov.는 *C. japonica*에 비해 엽침이 덜 발달하는 특징을 가지고 있으며, 수직분포가 *C. japonica*와 유사하다. *C. mollitia* sp. nov.와 *C. repens* sp. nov.는 여러 개의 작은 부착기를 가지며 기질에 평행하게 자라지만, 엽상체의 형태, 질감 및 분지패턴, 그리고 생육하는 수직분포에서 차이를 보인다. *C. serratifolia* sp. nov.는 규칙적인 이분지를 하며 부채꼴 형태를 이루며 성장하고, 가장자리에 뚜렷한 톱니모양의 거치를 갖는다. *C. undulata*는 *C. hayamensis*와 엽상체의 형태와 수직분포가 유사하지만, 엽상체의 가장자리에 주름이 잘 발달한 특징을 지니고 있다. 본 연구를 통하여 지금까지 한국 및 북서태평양 연안에 분포하는 붉은잎속의 종 다양성이 과소평가되어 왔음을 인지하고 한국 및 일본산 붉은잎속 표본을 통해 보다 명확한 붉은잎속의 종 경계를 정립하였으며, 계통학적 유연관계를 이해하는데 도움을 주었다. 뿐만 아니라 향후 전 세계에 분포하는 붉은잎속의 계통학적 유연관계를 밝히는데 도움을 줄 것으로 기대한다.

## 감사의 글

2008년 제주대학교 생물학과에 진학하여, 생물의 다양성을 몸소 체험하면서 넓은 바다에 다양한 형태로 생물 진화의 커다란 부분을 차지하며 생육하고 있는 해조류를 분류하는 생물학도로서 살아갈 수 있는 기회를 주신 많은 분들께 감사를 드리고 싶습니다.

제가 해조류 분류학에 입문할 수 있는 기회를 주시고, 새로운 인생의 길을 건도록 지도해주신 김명숙 교수님께 진심 어린 감사를 드립니다. 해조류 분류학을 탐구하는 연구자로 성장할 수 있도록 저의 과오를 감싸 안고 인내하시며 제가 발걸음을 멈추지 않도록 해주심에 감사를 드립니다. 앞으로 더욱 성장하는 모습을 보여드리기 위해 노력하겠습니다. 그리고 학위논문 심사를 위해 작은 오류 하나하나 세심하게 검토해 주시며 큰 격려를 해주신 이준백 교수님과 박수제 교수님께 깊이 감사를 드립니다. 또한 학부과정부터 석사학위 과정 동안, 생물학을 전공하는데 많은 가르침을 주신 생물학과 이화자 교수님, 고석찬 교수님, 김세재 교수님, 이선령 교수님과 송우람 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

또한, 처음 해조류 분류를 시작하는 단계에서 많은 조언과 도움을 주신 국립생물자원관의 조가연 박사님과 배은희 박사님, 해조류 계통분석에 필요한 계통분석 프

로그래를 가르쳐 주신 동아대학교 이정형 교수님과 한국해양연구소 양은찬 박사님, 그리고 붉은잎속을 비롯한 붉은땀피과의 형태 및 암배우체 발달과정을 관찰 방법을 지도해 주시고 뉴질랜드에서의 연수를 보살펴 주신 NIWA의 Wendy A. Nelson 박사님과 Roberta D'Archino 박사님, 우리나라의 다양한 해조류 생육환경에 대해 조언을 해주신 권천중 박사님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 일본에서의 채집을 도와주신 Tokyo University의 Mariko Kondo 박사님, Tsukuba University의 Shigeki Wada 박사님, Chiba의 National History Museum and Institute의 Norio Kikuchi 박사님께도 깊은 감사를 드립니다.

언제나 해산식물분류학실험실을 지키며 함께 채집하고 해조류 분류학에 대해 많은 의견을 나누며 함께 소중한 추억을 쌓으며 저를 격려해 주고 외롭지 않게 물심양면으로 많은 도움을 주신 강정찬 선배님, 김병석 선배님, 이종철 선배님, 양미연 선배님, 그리고 고영호에게 감사를 드립니다. 지금의 인연이 계속되어 우리나라를 비롯하여 세계의 해조류 분류학을 선도하는 연구자가 되기를 기도합니다. 그리고 스쿠버 다이빙을 통해 제주도 조하대를 세세하게 탐색할 수 있도록 다이빙 기술과 제주도 해조상 분포를 가르쳐 주신 고용덕 선배님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 학위과정을 이수하는데 필요한 작은 것부터 하나하나 도움을 주신 생물학과 사무실의 김현수 조교님과 신혜선 박사님께도 감사의 마음을 전합니다. 그리고 생물학과

의 많은 선배님들과 후배님들 특히 08학번 동기들에게 감사의 마음을 전합니다.

그리고 낯선 제주도에서 잘 생활할 수 있도록 도와주신 김형찬 선배님, 인천을 비롯하여 전국에서 늦게 다시 공부를 시작한 저를 격려해 주신 인하대학교 비룡 야구동아리 선배님과 후배님들께 감사를 전합니다. 지금까지 이 자리를 지킬 수 있도록 항상 어려운 부탁을 마다하지 않고 도와준 친구 이명규, 정말 특별한 감사의 말을 전하고 싶습니다. 멀리 인천에서 항상 격려해 준 친구 김경태와 이윤호 선배님을 비롯한 주안8동 성당가족들 모두 감사합니다. 또한 뜨거운 열기에 함께 땀을 흘려준 제주대학교 야구동아리 소나이즈의 선배님과 후배님들께도 감사를 전합니다.

마지막으로 저의 버팀목 아버지, 어머니, 동생 이진우와 이동우, 그리고 동생 이진우의 처이자 저의 제수씨 이수연, 그리고 두 명의 사랑스런 축복인 이한결과 이한울, 정말 감사합니다. 서로 멀리 떨어져 있어도 항상 마음 만든 함께 하고 있습니다. 지금 걷고 있는 이 길 끝에 우리 가족의 행복이 있으리라 믿고 있습니다. 항상 죄스럽고 미안한 마음 가득하지만, 사랑합니다.

저를 아껴주시는 모든 분들께 다시 한 번 감사를 드리며, 더욱 발전하는 생물학도가 되도록 노력하겠습니다.