

형태 및 유전적 변이에 기초한 나래완두의 분류학적 연구

권순교 · 최병희*

(인하대학교 이과대학 생물학과)

한국 남부지방 특산인 나래완두와 가는갈퀴나물은 외부형태적으로 유사하여 두 종간 차이점이 뚜렷하지 않고, 연리갈퀴(*V. venosa*) 식물군과의 분류학적 한계도 명확하지 않다. 따라서, 본 연구에서는 이들 두 종의 분류적 한계 및 위치를 알아보기 위하여 형태적, 유전적 변이를 조사하였다. 두 종의 집단 간 유전적 변이를 알아보기 위해 14개의 지역에서 채집된 개체들을 대상으로 RAPD 분석이 수행되었다. 14개 primer에서 168개의 유용한 polymorphic band를 얻을 수 있었으며, 집단 간 유전적 변이는 0.25-0.81로 나타났다. 두 특산종 집단들은 유전적으로 뚜렷이 구분되지는 않았으며, 두 종간의 식별형질이었던 소엽의 모양, 식물의 크기, 꽃의 수에서도 연속적 변이를 보여, 하나의 종으로 통합되었다. 또한 이 특산종은 연리갈퀴식물군의 하나인 광릉갈퀴와는 잎의 모양, 화기, 지리적 분포에서 뚜렷한 차이를 보였으며, 유전적으로도 연리갈퀴보다는 일본 특산인 *V. fauriei*와 가깝게 나타났다.

주요어 : 가는갈퀴나물, 계통분류, 나래완두, 연리갈퀴, 형태적 변이, RAPD

나비나물속(*Vicia* L.) 식물은 약 140종으로 대부분이 북반구와 남미의 온대지역에 분포하고 있다(Kupicha, 1976). Kupicha(1976)의 속내 분류체계에 따르면 한국산 종들은 대부분 *Vicilla*아속 *Vicilla*절에 속한다(Endo & Ohashi, 1996). *Vicilla*절 내의 종들 중 연리갈퀴 [*V. venosa* (Willd. et Link) Maxim.], 노랑갈퀴(*V. chosenensis* Ohwi), *V. fauriei* Franchet는 소엽이 2쌍 이상이고, 직립하며 덩굴손이 퇴화된 점에서 공통점을 가진다.

나래완두(*V. hirticalycina* Nakai)와 가는갈퀴나물(*V. angustipinnata* Nakai)은 한국 남부지방의 특산종으로 속내의 위치는 결정된 바 없으나, 연리갈퀴와 형태적으로 매우 유사하다. 연리갈퀴는 시베리아, 아무르, 사할린, 몽고, 만주 등을 포함한 동아시아에 널리

*교신저자 : 전화 (032) 860-7695, 전송 (032) 874-6737, 전자우편 : bhchoi@inha.ac.kr

분포하며(Fedtschenko, 1948), 형태적 변이가 심하여 많은 변종들이 기재되어 왔는데, 일본에서는 5개의 변종이 기재된 바 있다(Endo & Ohashi, 1986). 한반도에서는 현재 연리갈퀴와 광릉갈퀴(*V. venosa* var. *cuspidata* Maxim.)가 보고되어 있다(이, 1969 & 1980; 이, 1996).

나래완두는 부산 범어사에서 채집된 표본에 근거하여 *Lathyrus fauriei* H. Lév.(1909)로 처음 기재되었으나, Nakai(1914)가 이 종을 *Vicia*속으로 이전하면서 이미 *V. fauriei* Franchet가 존재하기 때문에 *V. hirticalycina*로 학명을 변경하였다. 동일한 논문에서 Nakai(1914)는 백양산에서 채집된 식물을 기초로 가는갈퀴나물(*V. angustipinnata*)을 기재하였는데, 기재문에 의하면 나래완두에 비해 식물체의 키가 크고, 잎이 가늘고 긴 것이 특징으로 보인다.

이(1969)는 나래완두(*V. hirticalycina*)를 가는갈퀴나물(*V. angustipinnata*)의 이명으로 처리하기도 했으나 나중의 도감(1980)에서는 별개의 종으로 취급하고 있다. 이에 비해 이(1996)는 나래완두를 갈퀴나물의 변종(*V. angustipinnata* var. *hirticalycina*)으로 처리하고 있다. 하지만 나래완두(*V. hirticalycina*)는 1909년 Léveillé의 기재에 기반하고 있기 때문에, 1914년에 기재된 가는갈퀴나물(*V. angustipinnata*)보다 앞서, 이들의 분류학적 처리는 합법적이지 못하다. 이처럼 이들 두 종에 대한 국내 학자들의 인식은 여전히 모호한 상태이다. 나래완두와 가는갈퀴나물의 실체 및 분류학적 위치에 대한 현대분류학적 해석이 절실히 요구된다.

DNA 전체로부터 짧은 길이의 인위적 oligonucleotides를 이용하여 얻는 genetic marker를 비교하는 random amplified polymorphic DNA(RAPD) 분석법은 집단간 유전적 변이를 연구하는데 유용한 것으로 알려졌다(Williams *et al.*, 1990). RAPD법은 계통분류학에도 최근 자주 이용되고 있는데, 특히 종내변이 및 근연 종간의 유연 관계 연구(Campos *et al.*, 1994; Comincini *et al.*, 1995; Anzizar, 1998; Kim *et al.*, 1998; Jang and Kim, 1998; Seok and Choi, 1998; Watanabe *et al.*, 1999; Fishcher *et al.*, 2000; Kim & Kim, 2000)에 유용하게 이용되고 있다. 동아시아 콩과식물에서도 최근 타이완산 *Astragalus* 속내의 종간 또는 종내 집단간 유전적 변이 연구(Luo *et al.*, 2000), *Glycine* 속내의 종 간 유연관계 연구(Thseng *et al.*, 2000)에 이용되었다. 콩과식물의 나비나물속(*Vicia*)에서도 *Vicilla*아속에 속하는 나비나물과 근연종의 유연관계(Seok and Choi, 1998)연구 또는 *Vicia*아속내 종간 관계(Potokina *et al.*, 1999)를 밝히기 위하여 RAPD 방법이 이용된 바 있다.

본 연구에서는 한국 남부지방 특산종인 나래완두와 가는갈퀴나물의 형태적, 유전적 변이를 조사하여, 분류군의 한계 및 분류학적 위치를 결정하고 근연인 연리갈퀴와의 관계도 정립해 보고자 한다.

재료 및 방법

외부형태변이조사

본 연구는 나래완두의 기준표본 채집지인 부산 금정산 범어사와 가는갈퀴나물의 기준표본채집지인 전남 백양산을 포함한 한반도 남부지역의 자생 집단이 조사되었다(Fig. 1). 이와 함께 인하대학교 생물학과 식물표본실(IUI)에 보관된 표본과 성균관대학교 생물학과 식물표본실(SKK), 서울대학교 농업생명과학대학 관악수목원 식물표본실(SNUA), 전남대학교 식물표본실에 소장된 표본을 대여하여 관찰하였다. 기준표본은 동경대학 식물표본관(TI)에 보존된 것을 관찰하였다. 잎의 크기는 완전히 성숙한 꽃이 핀 개체를 대상으로 측정하였다.

RAPD 분석

1) 재료

RAPD분석에 사용된 재료는 한국남부지방에 서식하는 나래완두와 가는갈퀴나물의 기준표본 채집지를 중심으로 하여 자생집단별 한 개체씩을 채집하였다. 두 종을 정확히 구별 할 수 없었으므로 재료의 종명은 결정하지 않았다(Table 1). 근연종으로는 일본에 서식하는 *V. fauriei*와 동아시아에 널리 분포하는 광릉갈퀴(*V. venosa* var. *cuspidata*)를 함께 조사하였으며, 비교군으로는 형태적으로 유사하나 탁엽이 일찍 탈락하고 황색꽃이 피는 특징을 지닌 노랑갈퀴(*V. chosonensis*)를 포함하였다. 이번 연구에 사용된 분류군은 모두 다섯 분류군으로 각 지역별로 17개체가 선정되었다(Table 1). 실험에 사용된 증거표본은 인하대학교 생물학과 식물표본실(IUI)에 보관하였다.

2) 방법

DNA 추출 : DNA의 추출은 잎을 사용하였는데, 야외에서 채취한 잎은 건조제(blue silicagel)와 함께 또는 아이스박스(ice box)에 넣어 실험실로 운반하거나, 교내의 온실로 이식 재배한 식물체로부터 실험하기 직전에 채취하여 사용하였다. Total DNA는 Doyle & Doyle(1987)의 변형된 방법에 의해 추출되었다. 잎은 주맥을 제거하고 액체질소 속에서 막자사발을 이용하여 파쇄한 다음, 7ml의 2×CTAB extraction buffer (50mM Tris-HCl, pH: 8.0; 10mM EDTA, pH 8.0; 2% CTAB; 0.2% 2-mercaptoethanol)을 넣고 63°C에서 30분 동안 incubation하였다. 그리고 나서 동량의 sevac solution (chloroform/isoamylalcohol(24:1))을 첨가하여 잘 흔들어 섞어준 후, 원심 분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮기고 isopropanol로 DNA 침전을 유도하였다. 침전 후 원심 분리하여 얻은 DNA pellet에 wash buffer(76% Et-OH; 10mM ammonium acetate)를 첨가하여 천천히 흔들면서 20분 동안 세척하고 실온 건조하여 resuspension buffer(10mM

Table 1. Populations of *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* complex serving as sources of RAPD analysis.

| Locality | Taxon | Voucher |
|--|--|-------------------------------|
| 1. Prov. Kyeongnam, Isl. Namhae, Mt. Mangun | | Kwon <i>et al.</i> 2045 (IUI) |
| 2. Prov. Kyeongnam, Isl. Namhae, Mt. Gumsan | | Kwon <i>et al.</i> 2051 (IUI) |
| 3. Prov. Kyeongnam, Isl. Geoje, Mt. Gara | | Kwon 2087 (IUI) |
| 4. Prov. Kyeongnam, Busan, Mt. Geumjeong (type locality) | <i>Vicia hirticalycina</i> | Kwon & Kim 2001 (IUI) |
| 5. Prov. Joennam, Haenam, Mt. Duryun | | Kwon <i>et al.</i> 2003 (IUI) |
| 6. Prov. Joennam, Yeongam, Mt. Wolchul | | Kwon & Chung 9914 (IUI) |
| 7. Prov. Joennam, Gure, Mt. Jiri. (Nogodan) | | Kwon & Kim 9924 (IUI) |
| 8. Prov. Joennam, Gure, Mt. Jiri. (Whaeum) | | Kwon & Kim 2062 (IUI) |
| 9. Prov. Joennam, Gwangyang, Mt. Baekun | | Kwon <i>et al.</i> 2033 (IUI) |
| 10. Prov. Joennam, Suncheon, Mt. Jogae | | Kwon <i>et al.</i> 2154 (IUI) |
| 11. Prov. Joenbuk, Mt. Byeonsan, (Naesosa) | | Kwon <i>et al.</i> 2127 (IUI) |
| 12. Prov. Joenbuk, Jeonju, Mt. Moak | | Kwon & Chung 2083 (IUI) |
| 13. Prov. Joenbuk, Jeongeup, Mt. Beakyang (type locality) | <i>V. angustipinnata</i> | Kwon 9901 (IUI) |
| 14. Prov. Kyeongbuk, Goryeong, Mt. Gaya | | Kwon 9925 (IUI) |
| 15. Japan, Pref. Akita. Yokota-shi, Miroku | <i>V. fauriei</i> | K. Ohno <i>et al.</i> (CBM) |
| 16. Prov. Chungbuk, Boeun, Mt. Sokri | <i>V. venosa</i> var. <i>cuspidata</i> | Kwon 2144 (IUI) |
| 17. Prov. Kyeongbuk, Cheongsong, Mt. Juwang | <i>V. chosensis</i> | Kwon 9926 (IUI) |

Tris-Cl, pH 8.0; 0.25mM EDTA, pH 8.0) 90 μ l 에 녹였다. 여기에 두 배의 7.5M ammonium acetate 을 첨가하고 99% ethanol로 DNA 침전을 유도하여 70% ethanol로 세척한 다음 다시 실온 건조하였다. 그리고 건조된 DNA pellet을 TE buffer 100 μ l 로 녹인 다음, 사용할 때까지 -20 $^{\circ}$ C 에 보관하였다. DNA는 λ DNA/HindIII markers (Promega)와 형광의 밝기를 상대 비교하여 그 농도를 확인하였다. 그리고 일정한 DNA 농도를 결정하기 위하여 spectrophotometer로 정량 한 후 DNA가 2-5ng/ μ l 가 되도록 일정하게 희석하였다.

DNA 증폭 : 인위적으로 제작된 decamer oligonucleotides(The University of British Columbia, Nucleic Acid-Protein Service Unit)가 DNA를 증폭하는데 사용되었다. 전체 반응액을 25 μ l 로 하여 2-5ng total genomic DNA, 1 \times PCR reaction buffer(10mM Tris-HCl, 1.5mM KCl(pH 8.3)), 100 μ M dNTPs, 0.5 μ M primer, 1.0U Taq polymerase (TaKaRa Biomedicals)를 사용하여 PCR (Polymerase Chain Reaction)을 수행하였다. 반응은 Thermal cycler (Perkin Elmer 9600)에서 94 $^{\circ}$ C에서 1분 (denaturation),

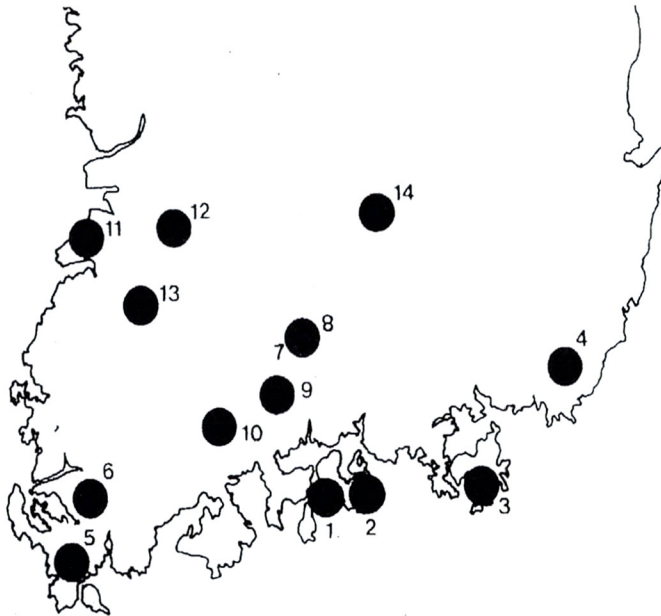


Fig. 1. Collection sites of *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* complex for RAPD analysis in southern Korea. Population numbers refer to Table 1.

37°C에서 1분(annealing), 72°C에서 2분(polymerization)을 45회 반복하고, 최종적으로 72°C에서 10분 동안 extension반응시킨 후 전기 영동 할 때까지 4°C에 보관하였다.

전기영동 : 증폭된 DNA 5 μ l를 취하여 1 μ l의 gel loading buffer(BIO 101)와 함께 TAE buffer(40mM Tris-acetate, 1mM EDTA)를 사용한 1.5% agarose gels(70mV)에서 4시간 30분 동안 전기영동 되었다. 전기 영동후 ethidium bromide(0.5 μ g/ml)에서 30분 동안 염색한 후 UV (Dual-intensity trans-illuminator)하에 밴드를 확인하고 Image analyser (Pharmacia Biotech)로 분석하였으며, 일부는 Polaroid camera(Polaroid DS-34; Polaroid 667 film) 촬영하였다. Molecular standard markers로는 100bp DNA Ladder(Gibco BRL)와 λ DNA/HindIII markers (Promega), 일부 1kb DNA Ladder (Promega)를 사용하였다.

자료분석 : 17개의 집단에서 비교된 RAPD markers는 band의 존재 유무에 따라 각각 1과 0으로 score되었다. 각 개체간에 뚜렷한 변이가 없거나, 차이를 명확히 판단할 수 없는 band는 제외되었다. DNA band 비교에 의한 data로부터 genetic similarity

matrix를 작성하였다(Table 3). Genetic similarity coefficient (GS)는 Nei & Li (1979)에 보고된 것과 같은 DICE(1945) coefficient의 방법에 의해 다음과 같은 식에 의해 계산되었다.

$$GS_{xy} = \frac{2N_{xy}}{N_x + N_y}$$

여기서 N_x 와 N_y 는 x 와 y 개체의 총 절편 수이고, N_{xy} 는 이들의 공통 절편 수이다. DICE matrices는 NTSYS computer programs (Version 1.70, Rohlf, 1992)을 사용하여 계산되었다. 이 자료를 기본으로 NTSYS-PC package의 SAHN clustering program을 사용하여 UPGMA방법에 의해 phenogram이 작성되었다.

결과 및 고찰

1. 외부형태

소엽 크기의 변이 : 원기재문에 의하면 나래완두와 가는갈퀴나물 사이의 큰 차이점은 소엽의 크기에 있다. 즉 나래완두는 길이가 2.5-4.5cm, 폭이 2-5mm인(Léveillé, 1909) 작은 소엽을 가진 반면, 가는갈퀴나물은 길이가 7.3-7.5cm, 폭 2.5-6mm이다(Nakai, 1914). 남부 지역 자생지 집단에서의 소엽 크기의 변이를 살펴본 결과, 두 종의 집단간에 뚜렷한 차이 없이 연속적인 변이를 보이고 있음을 확인 할 수 있었다(Fig. 2). 또한 그림 2에서 보듯이 나래완두와 가는갈퀴나물의 기준표본의 소엽 크기가 변이의 양극단에 존재하며 그 사이에 개체들이 연속적으로 분포하고 있음을 확인할 수 있었다. 이것이 Nakai(1914)가 나래완두와 별개로 가는갈퀴나물을 종으로 기재하게 된 이유로 보인다.

식물체의 크기와 꽃 수의 변이 : 나래완두는 식물체의 크기가 20-40cm, 꽃의 수는 화서 당 3-5개(Léveillé, 1909)인데 반해, 가는갈퀴나물은 개체의 크기가 70-80cm이고 꽃이 밀생(Nakai, 1914), 또는 꽃의 수는 2-7개(정, 1957)로 나래완두에 비해 개체의 크기가 크고 꽃의 수가 많은 것이 차이점으로 보인다. 남부지역 자생지 집단에서 이들 형질을 관찰한 결과 식물체의 크기는 20-70cm로 연속적 변이를 보였고, 화서 당 꽃의 수도 3-12개로 소엽의 크기와 상관관계가 없었으며, 지리적 변이도 관찰되지 않았다.

따라서 이들 두 종간에 소엽형태, 식물체크기 및 꽃의수등을 포함하여 뚜렷한 형태적인 불연속적 변이는 관찰할 수 없었으므로 하나의 종 나래완두로 통합하는 것이 타당하다.

형태적 특징 : 다년생 초본으로 높이는 20-70cm이며, 줄기는 곧게 자라고 능선이 있으며 털이 없고, 때로는 기부에서 가지가 많이 갈라지기도 한다. 잎은 호생하고, 우수우상복엽으로, 소엽은 3-6쌍이며 덩굴손은 퇴화한다. 줄기 아래쪽의 소엽은 선상피침형이며, 길이 15-70mm, 폭 2-7mm로 폭이 매우 좁다. 윗쪽의 소엽은 선상피침형인 것도 있지만 대부분 난상피침형 또는선상타원형으로 크기는 길이 25-75mm, 폭 2-15mm 이다. 탁엽은 대부분 반

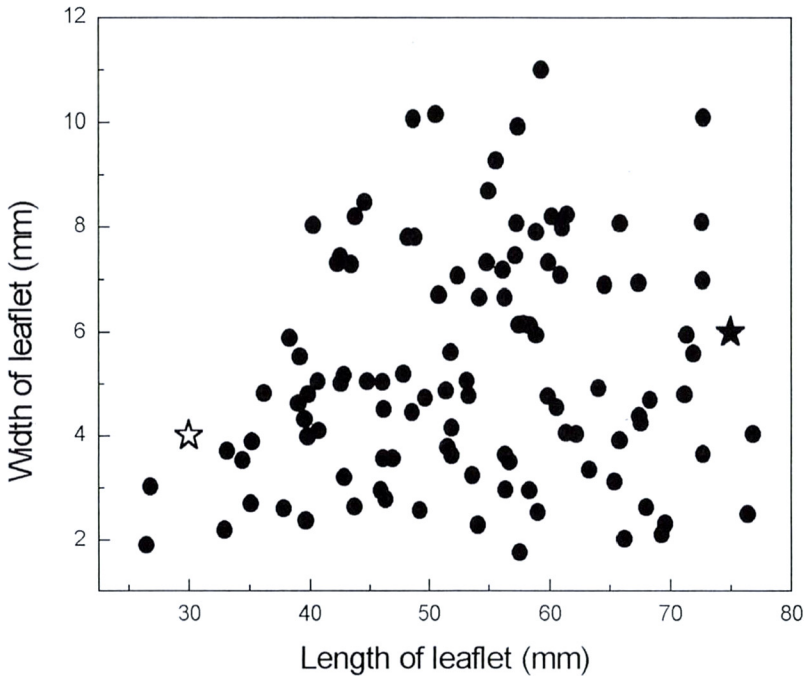


Fig. 2. Variation of leaflet-size in *V. hirticalycina* and *V. angustipinnata* complex in southern Korea. White asterisk: The type specimen of *V. hirticalycina* (Busan, Beomeosa, 18 May 1906, *Faurie 454*(TI)), Black asterisk: The type specimen of *V. angustipinnata* [Prov. Joenbuk, Mt. Baekyang, 4 May 1913, *T. Nakai s. n.* (TI)].

화살촉 모양으로 거치가 발달되나, 거치가 없이 선형인 것도 있으며, 크기는 길이 4-12mm, 폭 0.5-5mm 이다. 화서는 총상화서로 잎의 기부에 액생하며 길이가 매우 짧고, 3-12개의 꽃이 달리며, 주로 4월말과 5월초에 개화한다. 꽃받침은 종형으로 털이 밀생하며 5개로 깊이 갈라지고, 꽃받침열편 중 하부의 두 개는 길이가 길며, 꽃받침의 길이는 8-12mm 정도이다. 꽃잎의 길이는 15-19mm이며, 꽃색은 연한 보라색이다. 열매는 길이 30-42mm 정도이고 털은 없으며 열매자루는 짧다.

2. RAPD 분석

실험에 사용된 총 50개의 random primers로부터 개체간에 band의 차이가 없는 것과 band가 뚜렷하지 않아 비교가 어려운 primer 등을 제외한 14개의 primer가 RAPD

Table 2. Sequences of 14 decamer primers gained scorable RAPD markers and number of amplification fragments detected.

| Primer No. | Primer sequences(5' to3') | No. of amplified fragments | No. of polymorphic fragments |
|------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 2 | CCTGGGCTTG | 12 | 12 |
| 13 | CCTGGGTGGA | 6 | 6 |
| 23 | CCCGCCTTCC | 14 | 14 |
| 25 | ACAGGGCTCA | 14 | 13 |
| 30 | CCGGCCTTAG | 14 | 14 |
| 33 | CCGGCTGGAA | 14 | 13 |
| 42 | TTAACCCGGC | 18 | 18 |
| 50 | TTCCCCGCGC | 15 | 15 |
| 52 | TTCCCGGAGC | 9 | 9 |
| 63 | TTCCCCGCC | 14 | 13 |
| 78 | GAGCACTAGC | 8 | 7 |
| 79 | GAGCTCGTGT | 14 | 14 |
| 84 | GGGCGCGAGT | 13 | 12 |
| 97 | ATCTGCGAGC | 3 | 3 |

분석에 이용되었다. 이들 14개의 primer의 G+C content는 60-80%이고 염기서열은 표 2와 같다. RAPD marker의 수는 각 primer마다 3-18개로 다양하게 나타났으며 증폭된 DNA fragment의 크기는 300-2500bp범위로 나타났다(Table 2, Figs. 3 & 4). 14개의 primer로부터 뚜렷하지 않거나 재연성이 없는 band를 제외한 168개의 scorable RAPD markers가 최종분석에 이용되었다. 공유절편수에 기초한 개체간의 유사도는 DICE-Nei & Li matrices(Dice, 1945; Nei & Li, 1979)에 의해 계산되었고(Table 3), 이를 기초로 한 UPGMA phenogram이 얻어졌다(Fig. 5).

조사된 개체간의 유사도지수는 0.25-0.81의 범위로 나타났으며, 근연종을 제외한 남부지역 두 종의 집단간에는 0.54-0.81이었는데, 이는 같은 절에 속하는 동아시아산 나비나물의 집단간 변이0.83-1.00(Seok & Choi, 1998)보다 낮은 것으로 이 식물이 유전적으로 더 분화되어 있음을 말해준다. 나래완두와 가는갈퀴나물 개체들은 크게 두 그룹으로 구분되었다(Fig. 5). 첫 번째 그룹은 한반도 남동부의 집단으로 개체간 유사도 지수는 0.62-0.77이었고, 다른 한 그룹은 남서부 집단으로 유사도 지수는 0.54-0.81로 나타났다. 이들은 지리적으로 가까운 것끼리 우선적으로 묶이고 있어 지리적인 유전적 분화가 일어나고 있음을 확인할 수 있었으나, 해남 두륜산 개체가 이들 그룹들의 기저를 이루고 있어 확실히 나뉘

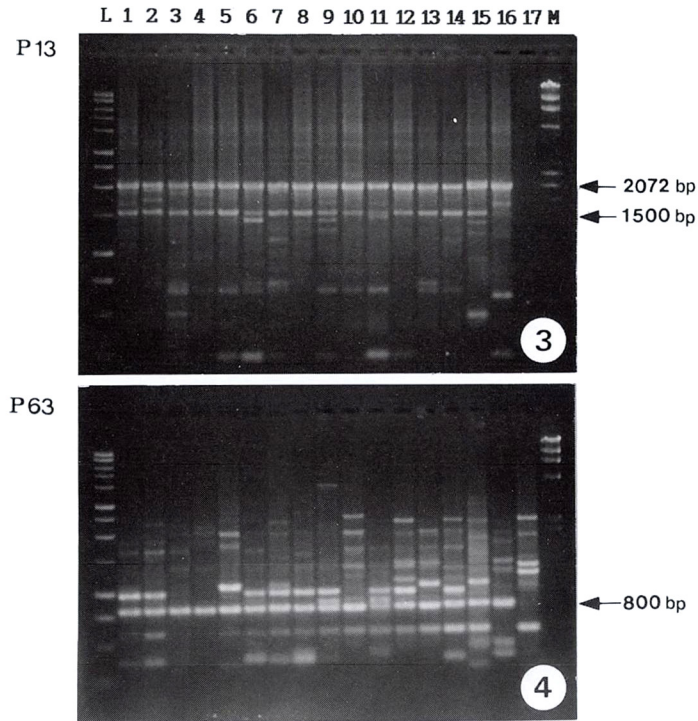
Table 3. The similarities among the populations of the *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* complex based on the RAPD markers. The similarity was calculated with Dice(1945)-Nei & Li (1979) coefficient.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----|
| 1 | — | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0.7736 | — | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0.6857 | 0.7207 | — | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0.6195 | 0.6555 | 0.7288 | — | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0.5172 | 0.5410 | 0.5950 | 0.5891 | — | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0.7200 | 0.6981 | 0.6667 | 0.6196 | 0.5517 | — | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0.6207 | 0.6721 | 0.6612 | 0.6667 | 0.5909 | 0.7069 | — | | | | | | | | | | |
| 8 | 0.6602 | 0.6606 | 0.7037 | 0.6207 | 0.5378 | 0.7573 | 0.7059 | — | | | | | | | | | |
| 9 | 0.6667 | 0.6667 | 0.6549 | 0.6777 | 0.5645 | 0.7407 | 0.6935 | 0.7928 | — | | | | | | | | |
| 10 | 0.6182 | 0.6552 | 0.6435 | 0.6179 | 0.5397 | 0.6545 | 0.6508 | 0.7611 | 0.7288 | — | | | | | | | |
| 11 | 0.6486 | 0.5983 | 0.6206 | 0.5806 | 0.5669 | 0.6846 | 0.6142 | 0.7368 | 0.7395 | 0.7107 | — | | | | | | |
| 12 | 0.6667 | 0.6825 | 0.6720 | 0.6466 | 0.5882 | 0.6833 | 0.6912 | 0.7154 | 0.7344 | 0.7692 | 0.7481 | — | | | | | |
| 13 | 0.7130 | 0.6446 | 0.7000 | 0.6406 | 0.5802 | 0.6783 | 0.6565 | 0.7627 | 0.7480 | 0.7200 | 0.8095 | 0.7852 | — | | | | |
| 14 | 0.6606 | 0.6782 | 0.6140 | 0.6229 | 0.5440 | 0.6789 | 0.7040 | 0.7857 | 0.7350 | 0.7395 | 0.7000 | 0.7752 | 0.7419 | — | | | |
| 15 | 0.5455 | 0.5333 | 0.5577 | 0.5893 | 0.5043 | 0.5455 | 0.5913 | 0.6471 | 0.6355 | 0.6422 | 0.6000 | 0.6218 | 0.6491 | 0.6852 | — | | |
| 16 | 0.4600 | 0.4339 | 0.4381 | 0.3894 | 0.4828 | 0.4400 | 0.4655 | 0.5437 | 0.5000 | 0.4545 | 0.5225 | 0.4833 | 0.5043 | 0.5321 | 0.5455 | — | |
| 17 | 0.2526 | 0.2574 | 0.3600 | 0.3148 | 0.3243 | 0.2947 | 0.2883 | 0.3460 | 0.3301 | 0.4000 | 0.3962 | 0.4522 | 0.3635 | 0.3462 | 0.4255 | 0.4000 | — |

어지지는 않았다. 이는 국내외집단간에 지리적인 유전적 분화를 볼 수 없었던 나비나물 (Seok & Choi, 1998)과는 대조적이다. Nakai(1914)는 가는갈퀴나물의 원기재 논문에서 함께 병기한 나래완두의 증거표본으로 부산과 함께 지리산, 완도 산을 함께 들고 있어, 두 종이 지리적으로는 나누어지지는 않았음을 알 수 있는데, 이는 Nakai(1914)의 두 종의 차이에 대한 인식이 RAPD에서 나타난 지리적인 유전적 차이(Fig. 5)와는 상관관계가 없음을 말해 주고 있다.

조사된 분류군 중 노랑갈퀴(*V. chosensis*)가 가장 먼저 나뉘어졌다. 특히, 13번 primer(p13)의 2072bp (Fig. 3)와 63번 primer(p63)의 800bp (Fig. 4)의 밴드는 비교종인 노랑갈퀴에는 나타나지 않으나 남부 특산종과 광릉갈퀴(*V. venosa* var. *cuspidata*), *V. fauriei*등 나머지 종들에서 모두 증폭되어, 노랑갈퀴로부터 이들 식물군을 특징짓는 marker로 생각할 수 있다. 한국 특산인 노랑갈퀴는 탁엽이 일찍 탈락하고 황색의 꽃을 특징을 지니고 있다.

나래완두 및 가는갈퀴나물은 동아시아에 널리 분포하는 연리갈퀴(*V. venosa*)와 형태적으로 유사하다. 나래완두 및 가는갈퀴나물의 속내 위치나 중간 유연관계에 대해 연구된 바는 없으나, 동아시아산 연리갈퀴 식물군을 연구한(Endo & Ohashi, 1986) 학자들의



Figs. 3 & 4. RAPD markers of *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* generated by primer P13(Fig. 3), P63(Fig. 4). Each population number is correspond to that of Table 1. L=1kb DNA Ladder (Promega), M= λ DNA/HindIII marker.

개인적 견해에 의하면 두 특산종은 연리갈퀴식물군의 일부로 생각되어 왔다. 하지만 본 RAPD분석에서 한반도 특산 두 종은 연리갈퀴식물군 내의 광릉갈퀴(*V. venosa* var. *cupidata*) 보다는 일본산 *V. fauriei*와 먼저 유집되어(Fig. 5) 연리갈퀴식물과는 뚜렷이 다른 종임을 확인해 주었다. 특히, 13번 primer(p13)의 1500bp (Fig. 3)에서 나래완두와 가는갈퀴나물 개체들에서 밴드가 확인되었는데 반하여 광릉갈퀴는 밴드가 증폭되지 않아 이들을 구분할 수 있는 유용한 유전적 marker임을 확인 할 수 있었다.

연리갈퀴는 나래완두 및 가는갈퀴나물과는 지리적분포로도 확연히 구분이 된다. 나래완두와 가는갈퀴나물은 한반도의 전라남·북도과 경상남도 그리고 경상북도 일부지역을 포함한 남부지방에 한정적으로 분포하고 있는데 반해, 극동지역에 널리 분포하는 연리갈퀴의 한 변종인 광릉갈퀴의 경우 주로 중부 이북지방에서 흔히 발견된다. 화기의 경우도 연리갈퀴가 6월(Maximowicz, 1873; Fedtschenko, 1948), 광릉갈퀴가 7-8월인데 반하여

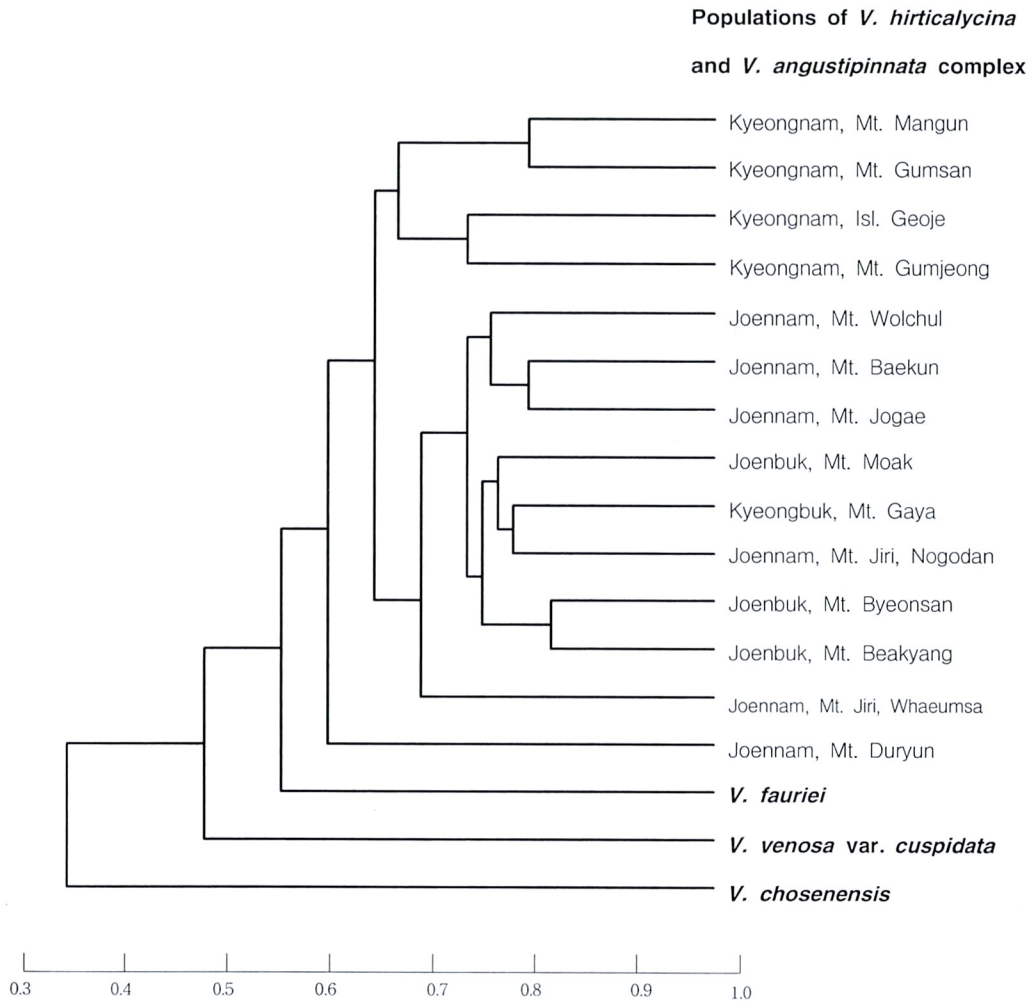


Fig. 5. A UPGMA phenogram showing the relationships among the population of *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* complex and its related species based on DICE similarity from RAPD analysis.

나래완두와 가는갈퀴나물은 4월말에서 5월초에 꽃이 피기 시작하여 중순이 지나면 대부분 꽃이 지고 열매를 맺기 시작하여 뚜렷한 차이가 있다. 하지만 연리갈퀴는 그 분포지역이 매우 넓고 그 변종도 매우 다양하여(Endo & Ohashi, 1986 & 1996) 이 연리갈퀴군에 관한 연구가 더 필요하다.

결론적으로 나래완두와 가는갈퀴나물은 한반도 남부에서 연속적인 형태적 변이를 보이는

개체들 중에서 양극단 집단이 별개의 종으로 기재(Nakai, 1914)된 것으로 보인다. 지리적으로 동서집단간에 유전적 차이를 보였으나(Fig. 5), 이 차이는 Nakai(1914)의 종구분이나 형태적 변이와는 상관관계가 없었다. 한편, 이 특산 식물은 광릉갈퀴와 지리적 분포, 화기 및 RAPD marker등에서 뚜렷한 차이를 보이나, 광릉갈퀴, *V. fauriei*와 함께 subgen. *Vicilla*의 sect. *Vicilla* (Kuphicha, 1976; Endo & Ohashi, 1996)에 분류된다.

Taxonomic treatments

Vicia hirticalycina Nakai in Bot. Mag. (Tokyo) 28:329 (1914), & Bull. National. Sci. Mus. 31:66. (1952); T.H. Chung, Kor. Fl.:362 (1957); T.B. Lee in Bull. Seoul Nat. Univ. Forest 6:48 (1969), & Illus. Fl. Kor.:481 (1980); Y.N. Lee, Fl. Kor.:389 (1996) = *Lathyrus fauriei* H. Lév. in Fedde. Rep. 22:230 (1909); Nakai in J. Coll. Sci. Imp. Univ. (Tokyo) 31:470 (1911) = *V. angustipinnata* var. *hirticalycina* (Nakai) W. T. Lee, Lineam. Fl. Kor.:601 (1996), & Col. Stand. Illus. Kor. Pl.:199 (1996), **nom. illeg.** Type specimen:Korea, Busan, Beomeosa, 18 May 1906, *Faurie* 454 (TI !).

= *V. angustipinnata* Nakai in Bot. Mag. (Tokyo) 28:329 (1914); T.H. Chung, Kor. Fl.:860 (1957); T.B. Lee in Bull. Seoul Nat. Univ. Forest 6:47 (1969), & Illus. Fl. Kor.:481 (1980); Y.N. Lee, Fl. Kor.:385 (1996); W. T. Lee, Col. Stand. Illus. Kor. Pl.:198 (1996), **syn. nov.** Type specimen:Korea, Prov. Joenbuk. Mt. Baekyang, 4 May 1913, *T. Nakai* s.n. (TI !).

Korean Name:나래완두 (Naraewandu)

Distribution: Southern parts of Korea: Provs. Joennam, Joenbuk, Kyeongnam and Kyeongbuk.

Taxonomic note: This species was described as *Lathyrus fauriei* (Léveillé, 1909) first based on the specimen collected from Busan (Fusan) in southeast Korea. However, since *V. fauriei* Franchet had been already recorded for the other taxon, Nakai(1914) assigned the new name, *V. hirticalycina* for this species. In the same article, he also described the other new species, *V. angustipinnata* (as *V. anguste-pinnata*) in the southern Korea. According to Nakai's description (1914), this species differed from *V. hirticalycina* primarily in the shape of leaflets, plant height and inflorescence features. However, these morphological characters were variable and differentiated very little among the populations of

two species. Furthermore, two species were not genetically (RAPD markers) distinct. These results suggested that *V. angustipinnata* should be synonymized as *V. hirticalycina*. *V. hirticalycina* was previously treated as a synonym of *V. angustipinnata* (Lee, 1969) or a variety of *V. angustipinnata* (Lee, 1996). However, these taxonomic treatments were illegitimate, because *V. hirticalycina* based on the *Lathyrus fauriei* H. Lév. in 1909 was prior to the name, *V. angustipinnata* Nakai in 1914. In conclusion, *V. hirticalycina* Nakai is correct name for this species.

Specimens examined for morphological variation

Korea, Jeonnam Prov.: Mt. Duryun, 7 May 2000, S.G. Kwon, 2002-2013 (IUI); Mt. Baekun, 11 May 2000, S.G. Kwon *et al.*, 2033-2035, 2037-2042, 2044 (IUI); Mt. Baekun, 14 May 1999, HUIKIM 384 (SNUA); Mt. Jogae, 11 May 2000, S.G. Kwon *et al.*, 2014-2027, 2029-2032 (IUI); Mt. Jiri, Temp. Whaeom, 21 May 2000, S.G. Kwon & J.A. Kim, 2063, 2064, 2066-2069, 2071-2076, 2081, 2082 (IUI); Mt. Jiri, Temp. Whaeom, 2 May 1965, T.B. Lee, 5806 (SNUA); Mt. Jiri, Manbok, 27 May 1997, Choi *et al.*, 9734-9737 (IUI); Mt. Jiri, Manbok, 23 May 1964, T.B. Lee, 359 (SNUA); Mt. Jiri, Banya, 7 Jun. 1962, T.B. Lee, 1834 (SNUA); Byeonsan, Temp. Naesosa, 6 May 1989, collector unknown, 21 (SKK); Byeonsan, Temp. Naesosa, collector unknown, 8 May 1989, 5, 12, 13, 16, 23, 25, 34, 40, 47 (SKK); Byeonsan, Temp. Naesosa, 8 May 1989, J.G. Lee *s.n.* (SKK); Byeonsan, Temp. Naesosa, 27 May 1989, 36 (SKK); Mt. Beakyang, 27 May 1999, S.G. Kwon, 9902-9907 (IUI); Mt. Byeakyang, 28 May 1999, S. G. Kwon, 9901 (IUI); Hwasung-gun, Mt. Mohu, 27 May 1993, H.T. Im 1921, 33829 (Herbarium, Chunnam Univ.); Mt. Baekyang, 4 May 1913 Nakai *s.n.* (TI, Type specimen of *V. angustipinnata*); Mt. Geumjeong, Temp. Beomeosa, 19 May 1965, T.B. Lee *et al.*, *s.n.* (SNUA); Mt. Mangun, 12 May 2000, S.G. Kwon *et al.*, 2045-2049, 2101 (IUI); Mt. Mangun, 15 May 1988, collector unknown *s.n.* (SKK); Mt. Geumsan, 13 May 2000, S.G. Kwon, 2051-2053, 2055, 2057-2060 (IUI); Isl. Namhae, Mt. Geumsan, 12 May 1991 (SKK); Isl. Namhae, Mt. Geumsan, J.S. Ryu *et al.*, 24-25 (SKK); Mt. Geumsan, 12 May 1991, H.J. Lee *et al.*, *s.n.* (SKK); Busan, Pomosa, 18 May 1906, Faurie, 454 (TI, Type specimen of *V. hirticalycina*).

사 사

본 연구에 사용된 식물표본을 대여 또는 관찰을 허용해 주신 식물표본관 관리자분들께 감사드리며, 특히 채집표본을 직접 제공해 주신 전남대 임형탁 박사님과 기준표본의 관찰에 도움을 준 東京大 大學院의 석동임양에게 감사를 드립니다. 본 연구는 1999-2000년 인하대학교 학술연구조성비와 과학기술부, 한국과학재단지정 서해연안 환경연구센터의 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Anzizar, I., M. Herrera, W. Rohde, A. Santos, J. L. Dowe, P. Goikoetxea and E. Ritter. 1998. Studies on the suitability of RAPD and ISTR for identification of plam species(Arecaceae). *Taxon* 47:635-645.
- Campos, L. P., J. V. Raeson and W. F. Grant. 1994. Genome relationships among *Lotus* species based on random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Theor. Appl. Genet.* 88:417-422.
- Comincini, S., M. Sironi, C. Bandi, C. Giunta, M. Rubini and F. Fontana. 1996. RAPD analysis of systematic relationships among the Cervidae. *Heredity* 76:215-221.
- Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology* 26:295-302.
- 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.
- Endo, Y. and H. Ohashi. 1986. Variation and infraspecific diversity of *Vicia venosa* (Leguminosae) in Japan. *Sci. Rep. Tohoku Univ.* 4th. ser. (Biology) 39:121-141.
- _____. 1996. The infragenetic positions of East Asian species of *Vicia* (Leguminosae). *J. Jap. Bot.* 71:254-262
- Fedchenko, B. A. 1948. *Vicia*. In V. I. Komarov (eds), *Flora SSSR*. Moscow and Leningrad. 13:425.
- Fischer, M., R. Husi, D. Prati, M. Pointinger, M. Kleunen and B. Schmid. 2000. RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *Amer. J. Bot.* 87:1128-1137.
- Jang, C. G. and Y. S. Kim. 1998. Taxonomic relationships of the Korean *Polygonatum* (Liliaceae) using the RAPD analysis. *Kor. J. Plant Tax.* 28:

371-384 (in Korean).

- Kim, H., M. J. Song, K. J. Kim, C. W. Lee, W. G. Chang and K. H. Kang. 1998. Genetic variation analysis of Korean Lotus (*Nelumbo nucifera*) using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Kor. J. Plant Tax.* 28:343-355.
- Kim, Y. D. and S. H. Kim. 2000. Interspecific relationship of *Weigela* based on RAPD analysis. *Kor. J. Plant Tax.* 30:17-33 (in Korean).
- Kupicha, F. K. 1976. The infrageneric structure of *Vicia*. *Not. Roy. Bot. Gard., Edinburgh* 34:287-326.
- Luo, M. C., K. K. Hwu and T. C. Huang. 2000. Taxonomic study of Taiwan *Astragalus* based on genetic variation. *Taxon* 49:35-46.
- Léveillé, H. 1909. *Decades Plantarum Novarum*. Fedde. *Repert.* 22:230.
- Maximowicz, C. J. 1873. *Diagnoses plantarum novarum Japoniae et Manshuriae* 14. *Bull. Acad. Imp. Sci. St. Pétersbourg.* 18:395.
- Nakai, T. 1914. *Plant Nov Japonic ae et Koreae* III. *Bot. Mag.* 28:329.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restrictions endonuclease. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 76:5269-5279
- Potokina, E., N. Tomooka, D. A. Vaughan, T. Alexandrova and R.-Q. Xu. 1999. Phylogeny of *Vicia* subgenus *Vicia* (Fabaceae) based on analysis of RAPDs and RFLP of PCR-amplified chloroplast genes. *Gen. Res. Crop Evol.* 46:149-161
- Rohlf, J. F. 1992. *NTsys-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.70*. Appl. Biostatistics Inc., Setauket, New York.
- Seok, D. I. & B. H. Choi. 1997. Taxonomic study on *Vicia unijuga* using principal components analysis. *Kor. J. Plant Tax.* 27:359-368 (in Korean).
- _____. 1998. Taxonomic relationships in East Asian *Vicia* species with unijugate leaves based on random amplified polymorphic DNA markers. *J. Plant Biol.* 41:201-207.
- Thseng, F. S., T. K. Lin and S. T. Wu. 2000. Relations of genus *Glycine* subgenus *Soja* and *Glycine formosana* Hosok. collected from Taiwan: Revealed by RAPD analysis. *J. Jap. Bot.* 75:270-279.
- Watanabe, I., M. Sawamoto, A. Nakagawa, Y. Koyama, T. Suzuki. 1999. Diversity of *Azolla japonica* in Japan, analyzed by random amplified polymorphic DNA. *J. Jap. Bot.* 74:142-149.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey.

1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18:6531-6535.

이우철. 1996. 한국식물명고. Pp. 198-201. 아카데미서적, 서울.

이창복. 1969. 녹지조성자원으로서의 콩과식물의 활용. 서울농대 연습림 보고서 6:47-48

_____. 1980. 대한식물도감. Pp. 479-481. 향문사, 서울.

정태현. 1957. 한국식물도감. Pp. 360-370. 신지사, 서울.

Taxonomy of Korean endemic species of *Vicia hirticalycina* based on morphological and genetic variations

Kwon, Sun-Gyo and Byoung-Hee Choi*

Department of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea

Abstract

Two endemic species with *Vicia hirticalycina* and *V. angustipinnata* have been a source of confusion and controversy in Korea and also their systematic relationships with *V. venosa* have not been clearly resolved yet. In this study the morphological and genetic variations were examined to clarify the taxonomic delimitations and positions of the species. Random amplified polymorphic DNA(RAPD) markers were investigated to assess the genetic diversity among the 14 populations of the species. The 168 scorable RAPD markers were generated from the 14 decamer primers and the genetic similarities among the populations ranged from 0.25 to 0.81. Two endemic species were not separated by the genetic markers, furthermore showed continuous variations in the diagnostic characters such as leaflet shapes, inflorescence features and plant heights. This results suggested that *V. angustipinnata* did not deserve an independent species and should be treated synonymously as *V. hirticalycina*. On the other hand, *V. hirticalycina* differed from *V. venosa* var. *cuspidata* primarily in the shape of leaflets, flowering season, and geographical distributions. Additionally the endemic species turned out to be more related to Japanese one of *V. fauriei* than the latter in the current genetic markers.

Key words : Morphological variation, RAPD, taxonomy, *Vicia angustipinnata*, *V. hirticalycina*, *V. venosa*.

*Corresponding author : Phone : +82-32-860-7695, Fax : +82-32-874-6737,
e-mail : bhchoi@inha.ac.kr