

태백제비꽃과 근연분류군의 분류학적 연구

장수길 · 이우철 · 유기역*

(강원대학교 자연과학대학 생명과학부)

태백제비꽃과 근연 분류군인 단풍제비꽃과 남산제비꽃의 종간 유연관계를 알아보기 위하여 극단적인 형태를 보이는 7개 집단에 대해 외부형태학적, 화분학적, 해부학적 형질에 대한 분류학적 연구와, 국내에 분포하는 분류군을 비롯하여 유럽, 중국과 일본에 분포하는 근연 분류군을 포함한 28개 집단에 대한 핵 DNA의 ITS와 *V. pinnata*를 제외한 27집단에 대한 엽록체 DNA의 *trnL-F* 지역에 대한 분자계통학적 연구를 수행하였다. 외부형태학적 형질에서 엽연 거치의 수, 화피의 크기, 주두와 종자의 형질 등은 형태가 유사하거나 중복되는 형질을 갖는 것으로 나타나 구분이 불가능 하였으나 잎의 모양에 의해서는 두 그룹으로 유집되었다. 화분은 단립으로 극면입상은 반각형이었고, 발아구는 3공구형이며, 표면의 돌기는 미립상, 표면무늬는 난선상으로 집단간 유사한 특징을 보였다. 화분입상은 5개 집단이 장구형으로 관찰된 반면 단풍제비꽃 type 1과 남산제비꽃 type 3은 아장구형으로 나타났다. 해부학적 형질에서 엽병, 화경, 뿌리와 주맥의 횡단면을 관찰한 결과는 7개 집단이 유사한 형태로 나타나 차이점을 찾을 수 없었으며, 기공은 모두 잎의 아랫면에만 존재하였고, 단위 면적당 기공의 수는 결각이 심할수록 많은 것으로 나타났다. 핵 DNA의 ITS지역에 대한 염기서열 분석 결과 *V. pinnata*와 *V. dissecta*는 단계통을 형성하였고 근외군으로 부터 가장 먼저 분지되어 독립된 분계조를 형성하면서 나머지 분류군들을 위한 자매군으로 유집되어 태백제비꽃과 근연 분류군을 위한 조상형으로의 가능성을 제시하였다. 그러나 태백제비꽃의 종내분류군과 *V. eizanensis*가 포함된 그룹은 뚜렷한 분계조를 형성하지 않았다. 이러한 결과는 엽록체 DNA의 *trnL-F* 지역에 대한 결과에서도 유사한 경향을 보였다. 이상의 결과에서 잎의 모양을 제외한 나머지 형질들은 태백제비꽃과 근연 분류군들을 구별하는데 유용하지 않은 것으로 확인되어 단풍제비꽃과 남산제비꽃은 태백제비꽃의 종하 분류군으로 취급하는 것이 타당할 것으로 판단된다.

주요어 : 태백제비꽃, 단풍제비꽃, 남산제비꽃, 외부형태형질, 화분학적형질, 해부학적형질, *nrITS*, *trnL-F* region.

*교신저자: 전화 033-250-8531, 전송 033-251-3990, yooko@kangwon.ac.kr

서 론

제비꽃과(Violaceae)는 약 25속으로 구성되어 있으며(Melchior, 1925; Hekking, 1988), 대부분은 초본 또는 소관목으로 전 세계에 900여종이 분포하는 것으로 알려져 있다. 제비꽃속(*Viola*)은 제비꽃과 내에서 가장 많은 분류군이 속해 있으며, 전 세계에 약 525-600종이 북온대지역을 중심으로 널리 분포한다(Clausen, 1964; Ballard, 1996). 제비꽃속 내 분류군들은 근연 종간에 형태적으로 비슷하며, 종간의 교잡이 자유롭게 일어나 매우 다양한 형태의 중간형들이 출현하여 분류학적 취급이 어려운 분류군 중 하나이다(Russell, 1960). 한국산에 관해서는 약 50 종류 이상이 분포하는 것으로 알려져 있지만 종의 한계나 변이폭의 설정은 학자에 따라 많은 견해 차이를 보이고 있다(Chung, 1959; Lee, 1969; 박, 1974; 이, 1996a; 이, 2003). 특히 *V. albida* var. *albida*(태백제비꽃)를 비롯한 근연 분류군, 즉, *V. albida* Palib. var. *chaerophylloides* (Regel) F. Maek.(남산제비꽃), *V. albida* Palib. var. *takahashii* (Makino) Nakai(단풍제비꽃)과는 외부형태적인 변이가 심하고, 다른 분류군들과의 잡종에 의한 중간형들이 존재하여 계통 설정에 있어 이견이 존재하고 있다(Chung, 1959; 박, 1974; Lee, 1980).

이 분류군들에 대한 연구는 Linne(1753)가 유럽 및 시베리아 산 제비꽃속 식물 중 잎이 깊게 심열하며, 세 갈래로 나뉘지는 종을 *V. pinnata* L.로 명명한 것이 최초이고, 그 후 Ledebour(1829)는 잎의 결각정도가 *V. pinnata*보다 깊으며 세 발모양의 잎을 갖는 시베리아산을 *V. dissecta* Ledeb.로 보고하였다. 그리고 Regel(1861)은 *V. pinnata*보다 엽병이 길고 소엽병이 있으며, 세 발모양의 3출엽으로 잎의 거치가 개화기에 날카로워지는 동북아시아산을 *V. pinnata* L. var. *chaerophylloides* Regel로 보고하였으며, Becker(1902)는 이를 종으로 승격시킨바 있다. 그러나 Maximowicz(1877)은 상기 종들을 *V. pinnata*의 종내 분류군으로 취급하여 *V. pinnata* L. var. *dissecta* Maxim., *V. pinnata* L. var. *sieboldiana* Maxim., *V. pinnata* L. var. *chaerophylloides* Maxim.등으로 설정한 바 있으며, Nakai(1918)는 *V. sieboldiana* (Maxim.) Makino var. *chaerophylloides* (Regel) Nakai, Makino(1912)는 *V. dissecta* Ledeb. var. *chaerophylloides* (Regel) Makino로 취급한 바 있고, Maekawa(1954)는 상기 분류군들을 *V. albida*의 종내 분류군으로 취급하여 이들 각각을 *V. albida* var. *albida*, *V. albida* Palib. var. *chaerophylloides* (Regel) F. Maek., *V. albida* Palib. var. *chaerophylloides* (Regel) F. Maek. for. *sieboldiana* (Maxim.) F. Maek.등으로 설정하였다. 반면, Ito(1962)는 일본, 만주와 한국에 분포하는 분류군에 대하여 잎, 주두, 자방과 종자 등의 형태를 검토한 후 *V. eizanensis* (Makino) Makino, *V. sieboldiana* (Maxim.) Makino와 *V. chaerophylloides* W. Becker의 기원에 대해 *V. dissecta* Ledeb.에서 생겨났을 것이라고 주장하며, 이 분류군들을 *V. dissecta* Ledeb. var. *chaerophylloides* (Regel) Makino, *V. dissecta* Ledeb. for. *eizanensis* Makino, *V. dissecta* Ledeb. var. *sieboldiana* (Maxim.) Nakai로 정리한 바 있다.

태백제비꽃에 대해서는 Palibin(1898)이 *V. japonica* Langsd. ex Ging.와 *V. bissetii* Maxim.과 유사하나 꽃의 색이 흰색이며, 측판에 연모가 있고, 잎이 심장형인 특징 등으로 *V.*

albida Palib.을 기재한 것이 최초이며, Makino(1912)는 *V. dissecta* Ledeb. var. *chaerophylloides* (Regel) Makino subvar. *albida* (Palibin) Makino로 취급한 바 있고, 그 후 *V. albida* Palib. var. *typica* Nakai 등 변종 수준으로 취급되기도 하였다(Nakai, 1916). 단풍제비꽃은 Regel(1861)이 *V. pinnata* L. var. *multifida* Regel을 기재한 것이 최초이며, Makino(1912)는 잎이 5부분으로 갈라지고, 전체적으로 도란형의 아심장저이면서 남산제비꽃과 태백제비꽃의 중간형태를 보이는 분류군을 *V. dissecta* Ledeb. var. *chaerophylloides* (Regel) Makino subvar. *multifida* Makino라고 발표하였다. 또한 Nakai(1916)는 *V. dissecta* Ledeb. var. *takahashii* Nakai 로 기재한 후, 기존의 이명 중 *V. pinnata* var. *multifida*를 제외시키며, *V. albida* L. var. *takahashii* (Makino) Nakai로 정리한 바 있고, 최근에는 잡종에서 기원했을 것이라는 가능성이 제기되기도 하였다(Kim *et al.*, 1991).

Becker(1925)는 이 분류군들에 대해 다른 종들과 함께 *Adnatae*아절에 포함시켰으며, Ishidoya(1929)는 *Plagiostigma*절 내에 *V. pinnata* 유형으로 세분하였고, Takenouchi(1955)는 이 종들을 *Nomimum*절 내 *Pinnatae*계열로 분류하였다. 그 후 Maekawa and Hashimoto(1963)는 *Patellares*절 내 *Chinensis*아절의 *Pinnatae*계열로 구분하였으며, Fu and Teng(1977)은 다시 타 무경종들과 같은 아절로 통합하기도 하는 등 대부분의 학자들이 동일절 내의 동일 아절 또는 계열로 분류하고 있다. 한국산에 대하여 김(1986)과 김 등(1987)은 엽맥상의 차이를 근거로 태백제비꽃과 남산제비꽃을 각각 다른 계열로 설정한 바 있으며, Kim *et al.*(1991)은 Maekawa(1954)의 견해를 지지하며, 모종을 태백제비꽃으로 하고 단풍제비꽃과 남산제비꽃을 변종으로 설정한 바 있다. 최근 유 등(2004, 2005)은 분자계통학적 연구를 통해 이 세 종을 독립적인 분류계급으로 취급하거나 태백제비꽃과 단풍제비꽃을 남산제비꽃이 포함되어 있는 *Pinnatae*계열로 이전시키는 의견을 제시한 바 있으며, 박(2005)은 태백제비꽃군의 종분화론적 연구를 통해 세 분류군의 5집단에 대해 *nrITS* 지역을 대상으로 계통분석을 시도하여 높은 유사도에 의거한 한 종으로서의 가능성을 언급하였다.

이와 같이 태백제비꽃과 근연 분류군은 분류학적 위치에 대해 견해 차이가 있으며, 종 내에 잎의 형태 변이가 심하고, 점진적으로 나타나는 변이체들이 많은 변종 및 품종으로 설정되어 분류학적 취급이 어려운 실정이다. 따라서 본 연구에서는 태백제비꽃과 근연 분류군(단풍제비꽃, 남산제비꽃)의 극단적인 형태를 보이는 7개 집단을 대상으로 외부형태학적, 화분학적, 해부학적 형질에 대한 고찰과, 국내외에 분포하는 분류군을 비롯하여 중국, 일본, 미국에 분포하는 근연분류군에 대한 분자계통학적 연구를 통하여 종내/간 유연관계를 알아보고자 한다.

재 료 및 방 법

1. 재료

실험재료는 2003년 3월부터 2005년 10월까지 채집된 개체를 강원대학교 온실에 이식하거나

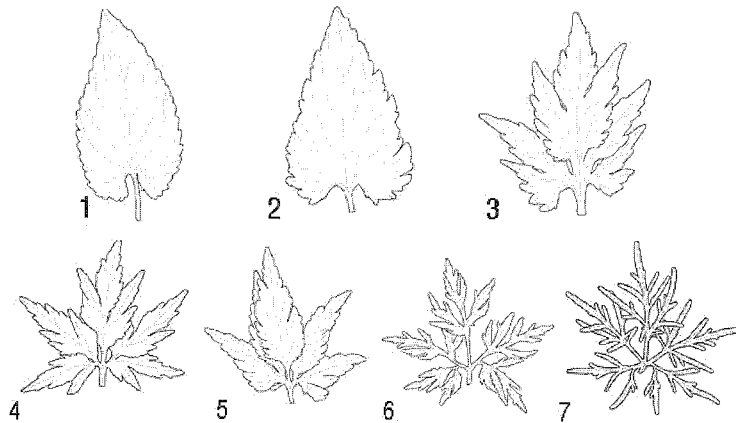


Fig. 1. Leaf blade shapes of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1. *V. albida* var. *albida*, 2-3. *V. albida* var. *takahashii* type 1-2, 4-7. *V. albida* var. *chaerophylloides* type 1-4.

FAA에 고정하여 사용하였으며, 사용된 재료의 증거표본은 강원대학교 생물학과 식물표본실 (KWNU)에 보관하였다. 또한, 정량적형질의 측정은 강원대학교(KWNU), 서울대학교(SNU), 성균관대학교(SKK)와 전북대학교(JNU)의 석엽표본 중 개화기에 채집된 개체를 선별하여 이용하였으며, 잎의 형태적 변이에 따라 태백제비꽃 1집단, 단풍제비꽃 2집단, 남산제비꽃 4집단 등 총 3분류군의 7개 집단으로 구분하였다(Fig. 1).

2. 방법

1) 외부형태학적 형질

외부형태형질은 생체재료와 석엽표본을 중심으로 25개 형질을 관찰 및 측정하였다(Table 1). 양적형질은 각 개체에서 잎과 꽃이 가장 큰 것을 대상으로 측정하였다.

2) 화분학적 형질

화분분석은 성숙한 꽃에서 약을 분리하여 Erdtman(1952)의 방법을 개량한 Livingstone방법 (Kim and Lee, 1978)에 의하여 초산 분해하였다. 광학현미경(Olympus Vanox) 관찰을 위하여 glycerin jelly에 화분을 매몰시켜 영구표본을 만든 뒤 양호한 상태의 화분 20개 이상을 선정하여 외부형태를 관찰 및 측정하였으며, 표피 미세구조를 알아보기 위해 각 시료를 ion sputter로 10 nm(15 mA, 180 sec) 두께로 Au-Pd coating 한 후 저진공주사전자현미경(LVSEM, S-3500N, 한국기초과학연구소 춘천센터)을 사용하여 관찰 및 촬영하였다.

화분형태의 기록에 대한 용어는 Erdtman(1972), Faegri and Iversen(1964), 그리고 우리말

용어는 Lee(1978)를 따랐다.

3) 해부학적 형질

조직의 횡단면은 동일집단내의 완전히 성숙한 개체를 대상으로 주맥, 엽병, 화경, 뿌리의 일정부위를 5 mm 정도 절취하여 FAA에 24시간 이상 고정한 후 30-100% 농도의 EtOH로 단계적인 탈수과정을 거쳐 paraffin에 포매하여 paraffin block을 제작한 뒤 microtome (50301WD)으로 10-20 μ m로 절단한 다음 2% safranin과 0.5% fast green 으로 이중염색한 후 영구 슬라이드를 만들어 광학 현미경(OLYMPUS C-35AD-4) 하에서 20배, 40배로 관찰 및 촬영하였다.

4) 미세구조

잎, 암술, 종자의 표피 미세구조를 알아보기 위해 각 시료를 FAA에 고정한 후 일정부위를 잘라 4% glutaraldehyde solution에서 4시간 전처리 후 0.1M phosphate buffer(pH 6.8)로 2회 세척하고, 50-100% EtOH에 단계적 탈수과정을 거쳐 isoamyl acetate로 2회 치환하였으며, critical point dryer로 건조시킨 후 ion sputter로 10 nm(15 mA, 180 sec) 두께로 Au-Pd coating 한 후 저진공주사전자현미경(LVSEM, Hitachi S-3500N, 한국기초과학지원연구원 춘천센터)을 사용하여 관찰 및 촬영하였다. 미세구조에 대한 용어는 Metcalfe(1979)를 따랐다.

5) nrITS와 trnL-F noncoding region 분석

nrDNA의 ITS지역과 엽록체 DNA의 trnL-F noncoding 지역에 대한 염기서열 분석은 7개 유형을 비롯하여 국내 타 지역 집단과 중국, 만주, 시베리아와 우리나라 북부에 분포하는 것으로 알려진 *V. dissecta*(간도제비꽃), 유럽과 북미에 분포하는 것으로 알려진 *V. pinnata*, 일본에 분포하는 *V. eizanensis*와 *V. chaerophylloides* var. *sieboldiana* 등 국내·외에 분포하는 유사분류군 21집단을 포함하여, ITS는 총 28개 집단, trnL-F는 *V. pinnata*를 제외한 27개 집단을 대상으로 하였다(see Appendix).

실험에 사용한 DNA의 추출은 Doyle and Doyle(1987)의 방법을 따랐으며, 추출한 DNA는 spectrophotometer(Beckman, 640B)로 정량한 후 5ng/ μ l로 희석하여 PCR을 위한 DNA로 사용하였다. DNA 증폭은 DNA Thermal Cycler(Biometra, Whatman Co.)로 수행하였으며 nrITS 지역의 증폭을 위한 primer는 Wen and Zimer(1996)에 의한 N-nc18s10과 C26A를 사용하였고, trnL-F 지역을 증폭하기 위한 primer는 Taberlet *et al.*(1991)에 의한 trnc와 trnf를 사용하였다. PCR조건은 94°C에서 1분, 50°C에서 1분, 72°C에서 2분을 cycle로 하여 35회 반복한 후 72°C에서 10분간 더 유지시켰다. 증폭된 DNA의 정제는 Wizard PCR Preps DNA Purification System(Promega)을 사용하였으며, 염기서열 분석은 ABI prism 377A automated DNA sequencer(Applied Biosystem)을 이용하여 cycling sequencing 방법으로 수행하였다. 염기서열은 Sequencher(Gene codes Corporation, Ann Arbor, Michigan), Clustal X(Gibson *et al.*, 1994)를 이용하여 정렬하였으며, 최종 세부정렬은 수작업을 통해 수행하였

Table 1. Quantitative characters of external morphology of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa

Character	Taxa				
	<i>V. albida</i> var. <i>albida</i>	<i>V. albida</i> var. <i>takahashii</i>	<i>V. albida</i> var. <i>chaerophyllioides</i>		
	1	2	1	2	
Leaf length (L) (mm)*	14.00-46.54-75.45	24.35-39.20-56.35	29.35-40.20-55.50	20.00-46.38-82.05	26.75-41.15-59.00
Leaf width (W) (mm)	9.50-31.06-54.70	26.45-34.43-40.55	11.55-29.71-40.70	38.15-53.15-89.70	37.75-54.60-96.40
L/W	1.28-1.51-2.19	1.26-1.63-2.19	0.87-1.41-2.21	0.56-0.77-0.95	0.81-0.88-0.97
Length of petiole (mm)	30.10-68.82-122.20	76.35-99.29-127.45	38.80-63.95-94.25	21.10-53.20-98.20	33.70-68.47-96.60
Number of leaf tooth (ea)	26.00-40.33-60.00	33.00-38.75-44.00	22.00-36.00-51.00	18.00-30.50-55.00	31.00-44.67-56.00
Length of peduncle (mm)	51.40-85.30-125.00	62.20-72.95-91.75	40.15-78.34-105.65	33.80-61.10-94.00	55.05-82.72-109.65
Length of lip petal (mm)	9.00-13.75-19.20	10.40-13.26-15.05	11.05-13.81-17.65	10.20-13.23-16.40	12.25-15.15-19.35
Width of lip petal (mm)	5.00-7.98-10.50	7.45-7.66-8.10	6.10-7.22-8.50	5.50-6.90-7.80	6.15-7.30-8.85
Length of spur (mm)	5.80-7.44-10.00	6.30-7.55-8.30	5.10-7.22-8.70	5.95-6.69-7.40	6.00-6.66-7.60
Length of lateral petal (mm)	8.70-15.19-19.10	9.55-12.50-13.75	10.85-13.49-18.10	10.15-13.13-18.20	10.90-14.10-16.75
Width of lateral petal (mm)	4.00-7.14-9.60	6.15-7.09-8.80	5.15-6.65-9.00	5.50-6.70-8.60	4.80-6.73-8.00
Length of upper petal (mm)	6.30-14.13-19.90	10.25-12.34-14.50	9.20-13.11-19.90	9.00-13.25-17.90	10.25-13.07-15.45
Width of upper petal (mm)	3.90-7.41-10.50	5.55-7.49-9.30	6.10-7.70-11.55	5.45-7.61-10.00	6.15-7.88-9.50
Length of lower sepal (mm)	7.20-10.75-14.15	10.50-11.38-12.31	5.35-8.68-12.00	6.50-11.34-17.40	7.30-9.93-11.70
Width of lower sepal (mm)	2.00-2.85-3.60	3.00-3.26-3.45	2.00-2.58-3.05	1.70-3.03-3.70	2.35-2.88-3.50
Length of lateral sepal (mm)	4.00-7.55-10.50	7.50-8.28-9.35	4.40-6.78-8.30	4.40-7.71-12.50	5.80-7.16-7.80
Width of lateral sepal (mm)	1.00-1.86-2.50	1.75-2.08-2.45	1.55-1.94-2.40	1.50-2.25-3.10	1.85-2.02-2.35
Length of stipule (mm)	11.40-17.81-23.30	9.90-13.43-16.65	14.35-18.41-22.50	12.45-15.22-19.00	9.30-14.13-19.50
Width of stipule (mm)	2.10-3.39-4.55	1.60-2.04-2.40	2.00-3.80-5.50	1.65-3.87-6.60	1.50-2.82-4.40
Length of style (mm)	2.45-2.52-2.60	2.40-2.86-3.35	2.50-2.76-3.35	2.50-2.89-3.35	2.30-2.51-2.80
Length of ovary (mm)	2.00-2.68-3.25	2.60-2.86-3.05	1.95-2.37-2.85	2.00-2.88-3.50	1.95-2.37-2.70
Length of stigma (mm)	1.45-1.48-1.50	1.25-1.37-1.45	1.05-1.40-1.55	1.50-1.55-1.60	1.15-1.34-1.50
Width of stigma (mm)	1.10-1.18-1.25	1.20-1.23-1.25	1.00-1.08-1.20	1.15-1.23-1.30	0.95-1.09-1.25
Length of seed (mm)	1.70-1.89-2.05	1.85-2.10-2.40	1.85-2.05-2.30	1.75-1.91-2.20	1.80-1.91-2.10
Width of seed (mm)	1.20-1.33-1.50	1.20-1.654-1.67	1.15-1.28-1.40	1.20-1.36-1.45	1.20-1.30-1.45

* : minimum - mean - maximum

다. 정렬된 염기서열은 PAUP 4.02b(Swofford, 1998)을 이용하여 parsimony analysis를 하였으며, 분석방법은 heuristic search를 이용하고, 그에 따른 option으로는 ACCTRAN, MULPARS 그리고 TBR을 이용하였다. 또한 각 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 bootstrap(Felsenstain, 1985)으로 1000회를 반복하여 분석하였으며, 이를 통한 계통수를 찾아내었다. 분석에 사용된 sequence data 중 균외균은 뚜렷한 줄기를 갖는 노랑제비꽃(GenBank accession AY928271)과 콩제비꽃(AY928283)을 사용하였다.

결 과

1. 외부형태학적 형질

잎, 엽병, 탁엽, 화피, 화경, 암술과 종자 등의 외부형태형질을 관찰 및 측정된 결과는 Table 1과 같다.

1) 잎

① 엽신 및 엽병

기존의 분류에 따르면 태백제비꽃과 단풍제비꽃은 거치의 형태와 엽신이 갈라지는 정도에 따라 나뉘지며, 전체적으로는 난형으로 심장저이고, 피침형의 엽정을 갖는데 반해 남산제비꽃은 3개로 갈라지는 새 발모양의 깊게 심열하는 열편을 형성하며, 각 열편은 창형이고, 측면의 열편은 다시 두 개로 갈라지는 차이를 보였다. 그러나 단풍제비꽃 중에서도 열편을 형성하지 않는 개체(단풍제비꽃 type 1)와 엽신의 1/2이상 갈라지면서 여러 개의 열편을 형성하는 개체가 존재하며(단풍제비꽃 type 2), 각각의 개체에서 다시 여러 가지의 변이형들이 나타났다. 남산제비꽃 역시 각 열편이 3열하는 개체(남산제비꽃 type 1), 각 열편이 다시 나뉘지 않는 개체(남산제비꽃 type 2), 각 열편이 다시 3개의 소열편을 형성하는 개체(남산제비꽃 type 3)와 선형의 열편을 가지는 개체(남산제비꽃 type 4) 등 다양하며, 각 집단 모두 많은 변이형들이 존재하였다. 또한, 개화기에 비해 결실기에 잎의 결각 정도가 심해지거나 측열편의 기부부분이 합쳐지는 개체도 확인되었다(Fig. 2). 이와 같은 잎의 변이는 발생 초기에서부터 유지되는 것으로 알려져 있는데(Kim *et al.*, 1991), 연구 결과 태백제비꽃과 단풍제비꽃의 일부 개체에서 발생 초기부터 서로 유사한 형태를 보이는 개체도 확인되었으며, 남산제비꽃의 경우 측맥을 중심으로 뚜렷한 창모양의 열편을 형성하였다(Fig. 3).

이상에서 확인된 다양한 변이형태 중 7개의 극단적인 변이형들을 대상으로 엽신의 양적형질을 측정된 결과 길이는 평균 31.01-54.99 mm로 서로 중복되었으나, 폭은 태백제비꽃과 단풍제비꽃의 유형들이 평균 29.71-34.43 mm를 보인 반면 남산제비꽃의 유형들은 평균 42.64-54.60 mm로 차이를 보였다. 또한 엽신의 길이에 대한 폭의 비율은 태백제비꽃과 단풍제비

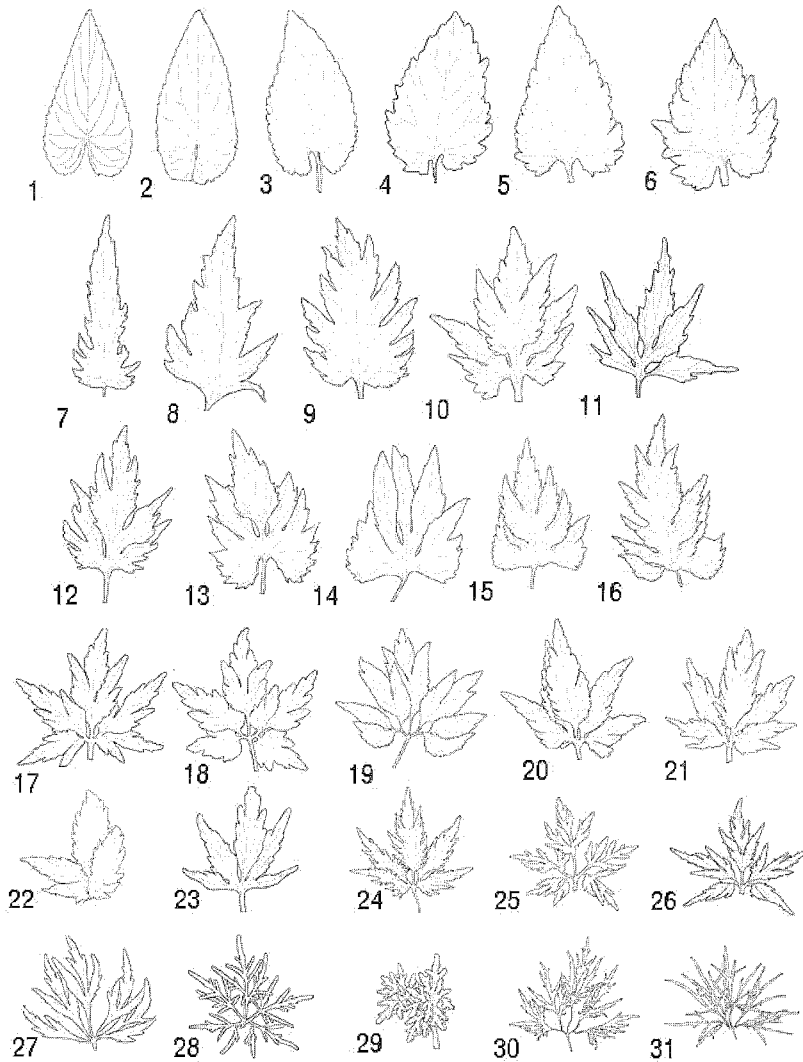


Fig. 2. Leaf variations of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-3. *V. albida* var. *albida*, 4-9. *V. albida* var. *takahashii* type 1(4-7 : leaf shape in the flowering season, 8-9 : leaf shape in the fruiting season), 10-16. *V. albida* var. *takahashii* type 2(10-11 : leaf shape in the flowering season, 12-16 : leaf shape in the fruiting season, 15 : leaf shape of 10 in the fruiting season), 17-31. *V. albida* var. *chaerophylloides* type 1(17-19 : leaf shape in the flowering season, 19 : leaf shape of 17 in the fruiting season), 20-24. *V. albida* var. *chaerophylloides* type 2(20-21, 23-24 : leaf shape in the flowering season, 22 : leaf shape of 21 in the fruiting season), 25-27. *V. albida* var. *chaerophylloides* type 3(25-26 : leaf shape in the flowering season, 27 : leaf shape of 25 in the fruiting season), 28-31. *V. albida* var. *chaerophylloides* type 4(28-29 : leaf shape in the flowering season, 30-31 : leaf shape in the fruiting season).

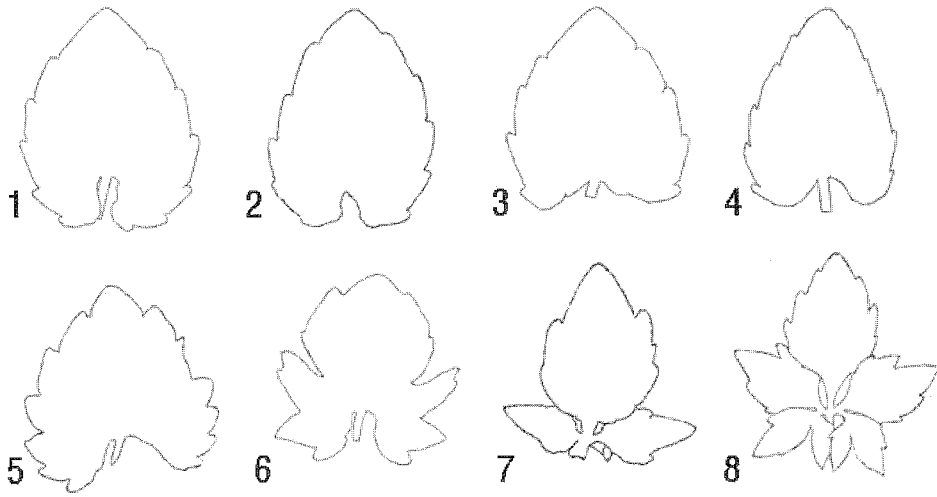


Fig. 3. Juvenile leaf shapes of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-3. *V. albida* var. *albida*, 4-6. *V. albida* var. *takahashii*, 7-8. *V. albida* var. *chaerophylloides*.

꽃의 유형들이 평균 1.41-1.63으로 길이가 폭보다 긴 반면, 남산제비꽃의 유형들은 0.75-0.88로 길이가 폭보다 짧은 것으로 나타났다.

엽병은 세 분류군 모두 날개가 있으며, 길이는 단풍제비꽃 type 1이 평균 99.29 mm로 다른 유형들보다 긴 엽병을 갖는 것으로 나타났고, 그 외 6개 유형들은 평균 53.20-68.82 mm로 서로 중복되어 차이가 없는 것으로 확인되었다.

거치의 수는 태백제비꽃, 단풍제비꽃의 2개 type, 남산제비꽃의 type 1, 2와 3은 평균 30.50-44.67개로 서로 중복되어 차이를 보이지 않았으나 선형의 잎 열편을 가지는 남산제비꽃 type 4는 평균 15.82개로 다른 유형에 비해 적게 나타났다.

② 탁엽

탁엽은 넓은 선형으로 2장이 엽병의 기부에서 1/2 정도 합생한다. 길이는 남산제비꽃 type 4가 평균 13.63 mm로 가장 짧았으며, 태백제비꽃이 평균 17.81 mm로 가장 길었고, 폭은 단풍제비꽃 type 1이 평균 2.04 mm로 가장 좁았으며, 남산제비꽃 type 1이 평균 3.87 mm로 가장 넓었다. 탁엽의 측정형질 역시 7개 유형이 서로 중복되어 나타나 각각의 유형 또는 분류군을 구분해 주지는 못하였다(Table 1).

2) 꽃

① 화피 및 화경

7개 유형의 꽃에 대한 외부형태는 매우 유사하였는데, 화피는 상판 2장, 측판 2장과 순

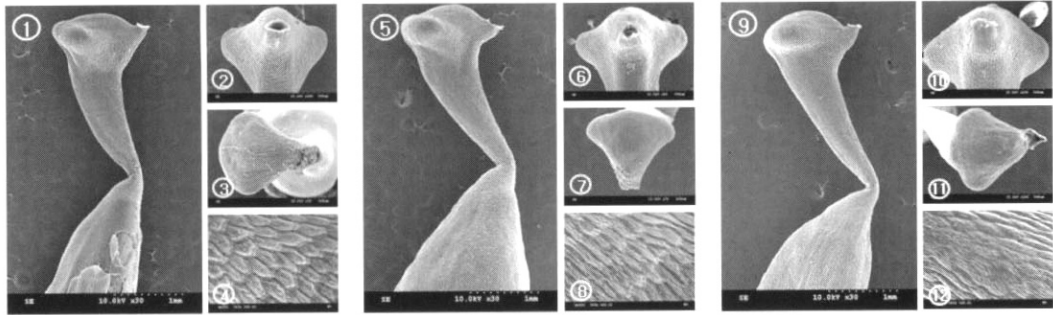


Fig. 4. SEM photographs of pistil of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-4. *V. albida* var. *albida*, 5-8. *V. albida* var. *takahashii*, 9-12. *V. albida* var. *chaerophylloides*.

판 1장, 총 5장으로 구성되며, 모두 도란형이고, 측판에는 연모가 존재한다. 7개의 유형에서 상판의 길이는 평균 12.00-14.13 mm, 폭은 평균 7.04-8.01 mm이고, 측판의 길이는 평균 12.03-15.19 mm, 폭은 평균 6.27-7.14 mm이며, 순판의 길이는 평균 13.23-15.15 mm, 폭은 평균 6.90-8.27 mm로 서로 중복되어 나타났다. 거는 원통형으로 순판의 뒷부분에 위치하며, 털은 없었고, 길이는 평균 6.26-7.55 mm로 차이를 보이지 않았다. 화경에는 선형의 포 2장이 화경의 1/2 이하에 위치하였고, 길이는 평균 61.10-85.30 mm로 나타났다(Table 1).

② 화탁

5장의 화탁은 창모양으로 아래에 위치한 2장의 화탁이 가장 길며, 측면에 위치한 2장은 가장 짧고, 위에 위치한 것은 1장으로 하화탁보다는 짧고 측화탁보다는 길다. 하화탁의 길이는 평균 8.68-11.92 mm, 폭은 평균 2.47-3.26 mm이며, 측화탁의 길이는 평균 6.40-8.99 mm, 폭은 평균 1.86-2.32 mm로 화탁의 측정형질도 7개 유형이 중복되어 나타났다(Table 1).

③ 암술

남산제비꽃, 태백제비꽃과 단풍제비꽃의 7개 유형 모두 윗 부분이 주변부보다 돌출하며, 주변부는 주두의 중간에 시작하여 뒷부분은 감싸는 형태를 하고 있고, 부리는 화주의 가장 좁은 부분과 비슷하거나 짧은 형태를 하고 있었다. 주두의 측면 세포의 미세구조 관찰 결과 모두 표면에 실모양의 각피층이 전체에 존재하였다(Fig. 4). 화주와 자방의 길이는 각각 평균 2.51-2.97 mm, 평균 2.37-2.88 mm의 범위를 보이며 서로 중복되어 나타났고, 주두의 길이와 폭 역시 차이를 보이지 않았다(Table 1).

3) 종자

종자는 전체적으로 옅은 갈색에서 흑갈색을 띠며, 길이는 평균 1.89-2.10 mm, 폭은 평균 1.30-1.54 mm으로 중복되어 나타났고, 길이에 대한 폭의 비율은 평균 1.41-2.05로 타원형 또

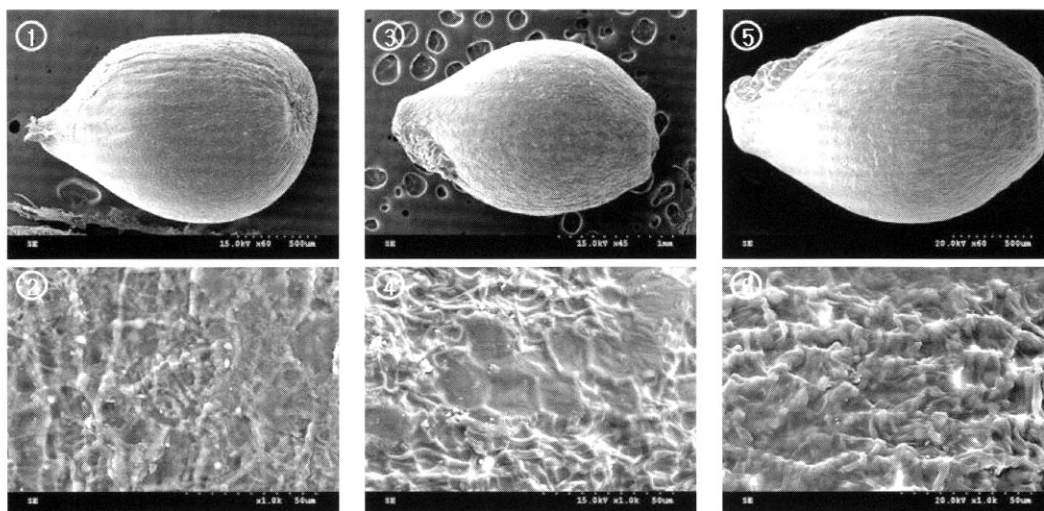


Fig. 5. SEM photographs of seed of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-2. *V. albida* var. *albida*, 3-4. *V. albida* var. *takahashii*, 5-6. *V. albida* var. *chaerophylloides*. (①, ③, ⑤): seed coat, (②, ④, ⑥): pericarp sculpture).

는 장타원형으로 나타났으며, 종피의 미세구조는 불규칙한 형태를 하고 있어 7개 유형에서 뚜렷한 경향성을 찾을 수 없었다(Fig. 5).

2. 화분학적 형질

화분은 모두 단립으로 극면입상은 반각형이며, 발아구는 3공구형으로 관찰되었다. 화분의 길이는 평균 30.71-42.75 μm 이며, 폭은 평균 21.65-28.63 μm 로 7개 유형이 차이를 보이지 않았으나, 극축의 길이에 대한 적도축의 길이 비율 값으로 나타내는 적도면 입상에서는 단풍제비꽃 type 1과 남산제비꽃 type 3이 아장구형을 보인 반면 다른 유형들은 장구형으로 나타났다(Table 2). 화분표면의 미세구조는 7개 유형이 1 μm 미만의 돌기가 존재하는 미립상이었으며, 돌기가 불규칙한 선과 같은 형태를 이루는 난선상을 보이는 동시에 미세한 구멍이 관찰되기도 하였고, 간헐적으로 불규칙한 형태의 구멍이 보이기도 하였다(Fig. 6).

3. 해부학적 형질

1) 주맥, 엽병, 화경과 뿌리의 횡단면

주맥에서는 7개 유형 모두 한 층의 상, 하 표피세포를 확인할 수 있었으며, 위아래로 둥글게 돌출된 형태를 보였고, 엽병은 넓은 U자형태의 유관속을 가지며, 윗면에 3개의 돌출부를 가지는 것으로 나타났다. 화경의 횡단면을 관찰한 결과 유관속은 4개로 같았으며, 위아래로 약간의 돌출부를 형성하였고, 뿌리 횡단면은 원형으로 유관속의 배열형태는 모든 유형들

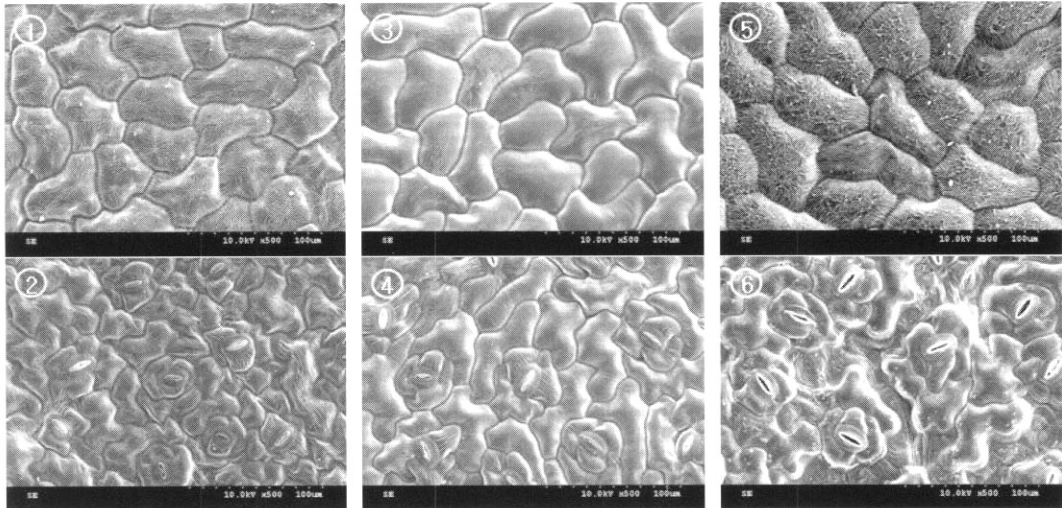


Fig. 6. SEM photographs of pollen of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-2. *V. albida* var. *albida*, 3-4. *V. albida* var. *takahashii*, 5-6. *V. albida* var. *chaerophylloides*. (①, ③, ⑤: pollen grains, ②, ④, ⑥: surface sculpturing).

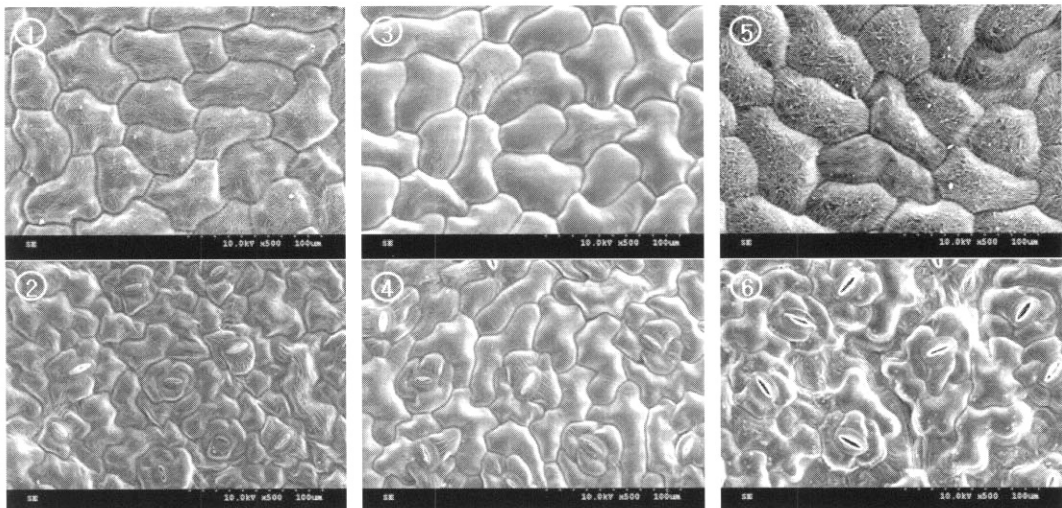


Fig. 7. SEM photographs of leaf surface of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. 1-2. *V. albida* var. *albida*, 3-4. *V. albida* var. *takahashii*, 5-6. *V. albida* var. *chaerophylloides*. (①, ③, ⑤: adaxial surface, ②, ④, ⑥: abaxial surface).

Table 2. Measurements of the pollen features in *Viola albida* var. *albida* and its related taxa

Taxa		Polar length (μm)	Equatorial length (μm)	P/E**	Equatorial view
<i>V. albida</i> var. <i>albida</i>		27.50-31.94-41.25*	17.50-23.34-27.50	1.13-1.39-1.88	Prolate
<i>V. albida</i>	1	26.25-30.71-37.50	20.00-23.28-27.50	1.10-1.33-1.67	Subprolate
var. <i>takahashii</i>	2	30.00-35.18-41.25	18.75-21.65-27.50	1.18-1.63-1.83	Prolate
	1	38.75-41.25-42.50	22.50-24.48-30.00	1.38-1.69-1.89	Prolate
<i>V. albida</i>	2	32.50-42.75-50.00	18.75-25.50-30.00	1.40-1.69-1.95	Prolate
var. <i>chaerophylloides</i>	3	31.25-32.25-33.75	23.75-25.50-27.50	1.14-1.27-1.42	Subprolate
	4	33.75-42.06-50.00	22.50-28.63-32.50	1.23-1.48-1.90	Prolate

*minimum-mean-maximum, **P/E : Polar length / Equatorial length

Table 3. Measurements of the leaf epidermis in *Viola albida* var. *albida* and its related taxa

Taxa	Adaxial		Abaxial		No./mm ²
	Length(μm)	Width(μm)	Length(μm)	Width(μm)	
<i>V. albida</i> var. <i>albida</i>	72.50-123.03-182.50*	40.00-63.42-85.00	27.50-30.83-32.50	20.00-20.79-22.50	84-93.60-100
<i>V. albida</i>	1 72.50-94.61-117.50	32.50-41.18-50.00	27.50-30.59-37.50	17.50-18.55-22.50	118-134.57-151
var. <i>takahashii</i>	2 70.00-100.00-142.50	40.00-54.61-70.00	27.50-27.74-32.50	15.00-18.29-20.00	103-119.80-139
	1 45.00-82.50-120.00	27.50-46.45-67.50	25.00-28.42-32.50	15.00-17.76-20.00	138-147.33-155
<i>V. albida</i>	2 57.50-84.47-112.50	27.50-41.97-75.00	25.00-27.97-30.00	15.00-16.32-17.50	162-175.00-190
var. <i>chaerophylloides</i>	3 52.50-80.39-105.00	35.00-51.45-65.00	25.00-29.13-35.00	17.50-19.87-22.50	246-257.25-275
	4 50.00-76.18-110.00	27.50-40.00-60.00	22.50-27.76-30.00	15.00-18.16-20.00	203-249.00-291

*minimum-mean-maximum.

이 불규칙한 형태를 하고 있었다.

2) 잎 표피

잎의 표면세포와 이면세포는 모두 과상형으로 나타났으며, 이면세포의 굴곡이 상대적으로 심하였다. 표면세포의 길이와 폭은 태백제비꽃이 평균 123.03 μm 와 63.42 μm 로 다른 유형들에 비해 큰 것으로 나타났으나, 이면세포의 길이와 폭은 차이를 보이지 않았다(Table 3). 잎의 미세구조에서는 표면에 실모양의 각피층이 전체에 존재하는 것으로 나타났다(Fig. 7).

Table 4. Characteristics of the ITS and *trnL*-F data for *Viola albida* var. *albida* and its related taxa.

Character	ITS 1	5.8 S	ITS 2	ITS 1+5.8 S+ITS 2	<i>trnL</i> -F
Length of sequence region (bp)	289-290	163	244-255	707-708	950-989
Aligned length	292	163	255	710	1044
No. of variable sites	29	3	20	52	30
No. of informative sites	19	0	13	32	18
GC content (%)	64.38	53.99	60.92	59.76	30.49
Sequence distance (%)					
without outgroup	0-5.06	0-0.6	0-4.50	0-3.25	0-1.30
with outgroup	0-13.37	0-0.8	0-7.85	0-7.68	0-1.74
No. of alignment gaps	3	0	1	4	111

기공은 아랫면에만 분포하였으며, 형태는 부세포 3개가 기공을 둘러싸고 있는 불균등형으로 나타났다. 단위면적당(mm²) 기공의 수는 결각을 형성하지 않으면 단순한 잎을 보이는 태백제비꽃이 평균 93.6개로 가장 적었고, 단풍제비꽃의 두 유형은 평균 134.57개, 119.8개로 확인되었으며, 남산제비꽃은 4개 유형이 평균 147.33-257.25개로 나타나 결각이 심할수록 많은 기공을 가지는 경향을 보였으나 최소값과 최대값이 중복되면서 연속적인 수치를 나타냈다.

4. *nrITS*와 *trnL*-F noncoding region 분석

28개 집단의 *nrITS* 분석에서 ITS 1과 2는 각각 289-290 bp, 255 bp의 범위로 ITS 1이 ITS 2보다 길게 나타났으며, 5.8S는 모두 163 bp로 변이가 없었다(Table 4). 전체적으로는 *V. pinnata*가 708 bp로 나타났고, 나머지 분류군들은 모두 707 bp로 동일하였다. 염기조성 중 G+C의 함량은 ITS 1과 2가 각각 평균 64.38%와 60.92%로 다소 높게 나타났으며, gap은 1-3 bp 였다. 정렬된 총 710 bp 중 626 bp는 변화가 없고, 84 bp가 변화를 가졌으며, 그 중 32 bp는 계통학적으로 유용한 공유파생형질이었다. 27개 집단에 대한 *trnL*-F지역 염기의 길이는 950-989 bp로 나타났는데, 태백제비꽃은 950-961 bp, 단풍제비꽃 type 1은 950 bp, 단풍제비꽃 type 2는 958 bp, 남산제비꽃 type 1은 950-964 bp, 남산제비꽃 type 2는 950 bp, 남산제비꽃 type 3은 950-958 bp, 그리고 남산제비꽃 type 4는 958-970 bp로 변이가 존재하였다. G+C 함량은 평균 30.49%로 낮게 나타났으며, gap은 적게는 1개에서부터 많게는 144-164번 위치에 21 bp, 361-396번 위치에 33 bp, 833-857번 위치에 25 bp의 삽입된 염기가 존재하였다. 정렬된 총 1044 bp 중 996 bp는 변화가 없고, 30 bp가 변화를 가졌으며, 그 중 18 bp는 계통학적으로 유용한 공유파생형질이었다.

조사된 28개 집단의 *nrITS* 지역에 대한 염기변이는 균외군을 포함하여 0-7.68%로 나타났으며, 균외군을 제외한 26개 집단의 염기변이는 0-3.25%로 낮게 나타났다. *Viola pinnata*와

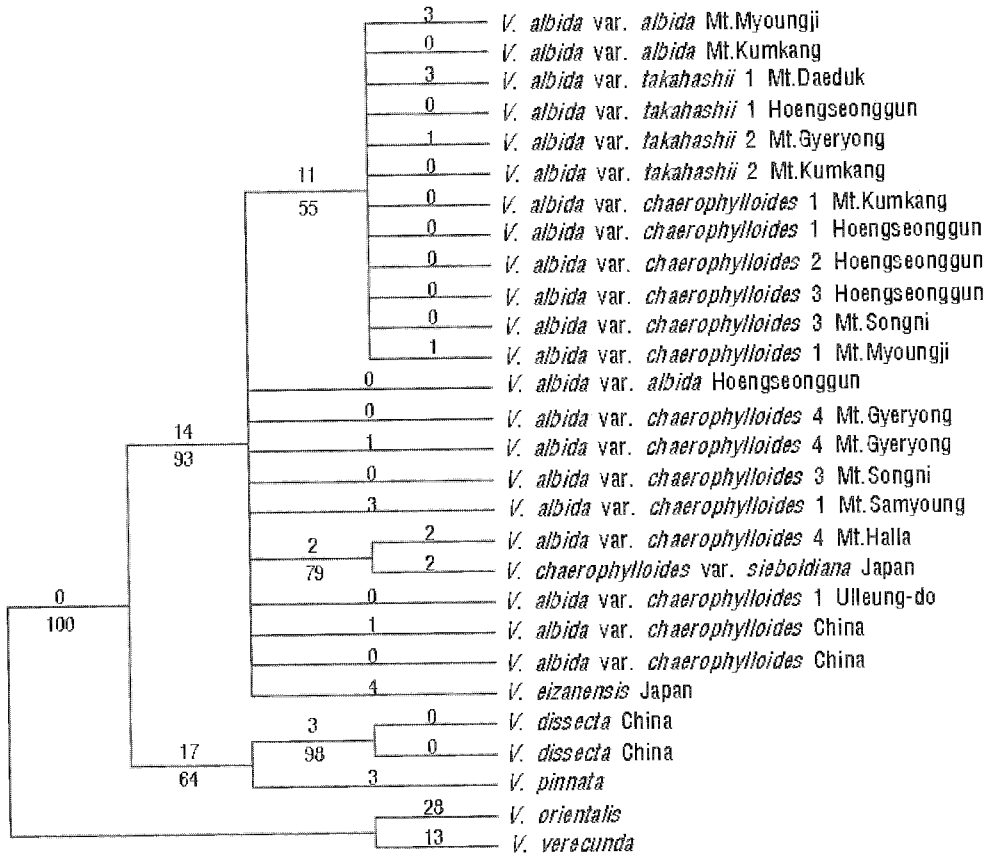


Fig. 8. Strict consensus tree of the 693 equally parsimonious trees (110 steps, CI=0.873, RI=0.857, RC=0.748) based on 32 phylogenetically informative changes in ITS sequences of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. The number of changes is indicated above branches and bootstrap values are found below branches. Number which located after scientific name is type of *V. albida* var. *albida* and its related taxa.

중국 황산의 남산제비꽃은 3.25%의 염기변이를 보여 다른 개체들에 비해 높은 변이를 보였다. *trnL-F* 지역에 대한 염기변이는 근외군을 포함하여 0-1.74%로 낮았으며, 근외군을 제외한 염기변이도 0-1.30%로 나타났다.

근외군을 포함한 28집단의 ITS 염기서열의 최대절약분석 결과, *V. dissecta*와 *V. pinnata*가 17개의 공유파생형질(synapomorphic change)과 64%의 bootstrap 지지도를 가지고 단계통군을 형성하면서 근내군의 다른 분류군들을 위한 자매군을 형성하였으며, 남산제비꽃, 단풍제비꽃과 태백제비꽃은 14개의 공유파생형질과 93%의 bootstrap 지지도를 가지며 분계조를 형성하였으나, 한 종 내에 속하는 집단들이 서로 다른 분계조를 형성하는 등 유집이 불가능하였

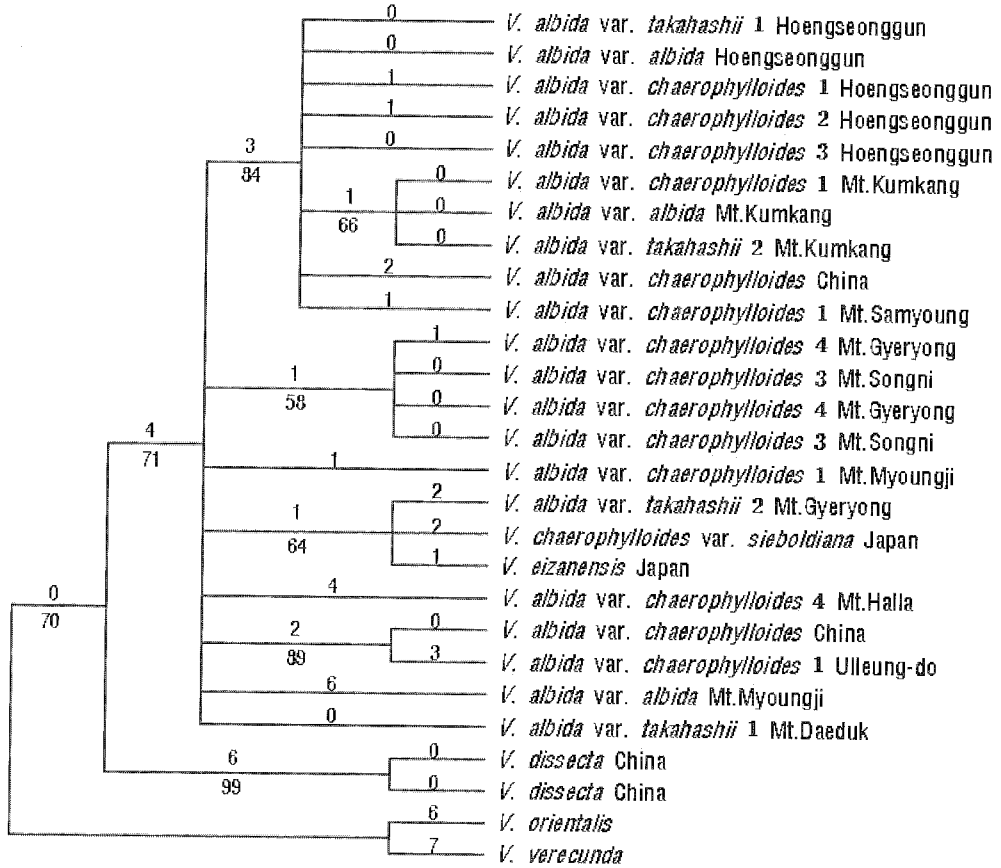


Fig. 9. Strict consensus tree of the 11,439 equally parsimonious trees (54 steps, CI=0.944, RI=0.941, RC=0.889) based on 18 phylogenetically informative changes in *trnL-F* region sequences of *Viola albida* var. *albida* and its related taxa. The number of changes is indicated above branches and bootstrap values are found below branches. Number which located after scientific name is type of *V. albida* var. *albida* and its related taxa.

다(Fig. 8). 한편 27개 집단을 이용한 *trnL-F* 염기서열의 최대절약분석 결과에서는 *V. dissecta*가 6개의 공유파생형질과 99%의 bootstrap 지지도를 가지고 군내군의 가장 기부에 분계조를 형성하였으며, 남산제비꽃, 단풍제비꽃과 태백제비꽃은 4개의 공유파생형질과 71%의 bootstrap 지지도를 가지며 분계조를 형성하여 *nrITS*와 같은 결과를 보였으며, 분류군별로 유집되지 않고, 오히려 일부 동일 지역집단의 분류군들이 서로 분계조를 형성하는 경향을 보였다(Fig. 9).

고 찰

태백제비꽃과 근연 분류군(남산제비꽃, 단풍제비꽃)은 주두를 포함한 꽃의 형태가 거의 비슷하여 잎의 형태를 중심으로 분류되어 왔음에도(Ito, 1962; Hama, 1972) 불구하고, 종내, 종간 다양한 형태적 변이를 보여 분류학적 취급이 어려운 분류군으로 명확한 중간 유연관계를 알아보기 위해 형태학적, 화분학적, 해부학적 연구를 수행한 결과 엽형은 차이를 보였으나 다른 대부분의 형질들에서는 세 분류군에 대해 유사한 형태를 보이거나 중복되는 범위를 보여 명확한 경계를 확인할 수 없었다.

엽신의 형태는 측맥을 중심으로 뚜렷한 열편을 형성하는 남산제비꽃, 측맥을 중심으로 열편을 형성하지 않는 태백제비꽃과 단풍제비꽃으로 구분되었으며, 엽신의 길이에 대한 폭의 비율도 이 두 그룹을 구분하는데 유용하였다. 그러나 전체적으로는 결각을 형성하지 않는 태백제비꽃에서부터 선형의 남산제비꽃까지 다양한 중간형이 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 태백제비꽃과 남산제비꽃의 엽형에 대해서 김(1986)은 남산제비꽃을 장상복엽으로 취급하여 타 종들과 다른 계열로 구별을 한 바 있는데 기존의 문헌(Maximowicz, 1877; Franchet et Savatier, 1879; Palibin, 1898)에 따르면 심열하거나 새발모양으로 깊게 갈라진다고 기재했을 뿐 복엽에 대한 언급은 없었으며, 본 연구에서 관찰한 바에 따르면 각 열편의 기부가 엽저와 연속적인 엽신을 형성하였고, 특히 남산제비꽃 중 선형의 잎을 가지는 개체에서는 기부에서 엽정까지의 엽육 부분이 거의 같은 넓이를 가지고 있어 소엽병을 구분하는 것은 불가능하였다. 따라서 남산제비꽃은 장상복엽으로 보는 견해 보다 심열하는 단엽으로 보는 견해가 타당할 것으로 판단된다. 이와 같은 종내에 존재하는 다양한 변이형은 빛, 습도에 따라 매우 광범위하게 나타나는 것으로 알려져 있는데(Smith and Smith, 2001), 본 집단에서 나타나는 잎의 다형현상에 대해 Kim *et al.*(1991)은 집단 내에서 일어나는 다형현상의 유지에는 특별한 기작이 필요하다고 지적하면서, 왕성한 폐쇄화 생성 능력과 지하경에 의한 영양번식에 의한 것으로 추정한 바 있어 이 분류군들의 다양한 변이형태는 환경적인 요인을 비롯하여 개방화와 폐쇄화의 두 종류 꽃을 형성하면서 타가수정과 자가수정을 동시에 하는 생식기작과 자유로운 교잡에서 기인했을 것으로 생각된다.

기공의 수는 학자에 따라서 엽정 부분에 가장 많은 기공이 분포하고, 엽저 부분이 가장 적은 수를 보이며, 엽맥 부근일수록 적은 수를 보인다는 의견이 있는(Yapp, 1912; Timmerman, 1927; Salisbury, 1927) 반면 엽저 부분과 엽맥 부근에 많은 기공이 분포한다는(Eckerson, 1908; Skene, 1924; Odell, 1932) 상반되는 주장도 있다. 또한, Sharma and Dunn(1968, 1969)은 기공의 수는 잎의 크기에 따라 차이가 존재하며, 쉽게 변하기도 한다고 하였고, Salisbury(1927)는 건조한 환경에서 자라는 개체일수록, 잎의 면적이 적을수록 많은 기공을 갖게 된다고 주장하였다. 본 연구에서 태백제비꽃과 근연 분류군들의 기공의 수는 단순한 엽형을 가지는 개체에서부터 심열하는 개체까지 연속적으로 증가하는 경향이 확인되었고, 특히 가장 큰 변이 폭을 보이는 남산제비꽃의 경우 종 내에서 심열 정도가 심할수록 열편의 폭이

좁아지는 것으로 확인되었다. 따라서 기공의 수가 잎의 크기와 환경에 따라 가변적이라고 할 때 이와 같이 심열하면서 열편의 폭이 좁은 개체일수록 많은 기공이 존재하는 것은 엽신의 개체변이에 따른 생태적 형질로 보는 것이 타당할 것으로 사료된다.

태백제비꽃과 근연 분류군의 분자계통학적 유연관계 분석에서는 한 종 내에 속하는 집단들이 서로 다른 분계조를 형성하여 분류군 별로 유집은 불가능하였으나 *V. pinnata*와 *V. dissecta*와 단계통을 형성하면서 나머지 집단을 위한 자매군을 형성하였으므로 태백제비꽃의 기원에 대한 추정이 가능하였다. Maximowicz(1877)는 *V. pinnata*가 *V. dissecta*와 남산제비꽃의 원형일 것이라고 하였으며, Ito(1962)는 *V. pinnata*는 유럽에 분포하는 종으로 지역적 차이가 심하여 *V. dissecta*에서 남산제비꽃이 분화되었을 것이라고 주장한 바 있다. 본 연구 결과에서도 *V. dissecta*와 *V. pinnata* 모두 세 분류군과 자매군을 형성하여 원형으로서의 가능성을 제시하였는데, *V. dissecta*, 남산제비꽃, 단풍제비꽃과 태백제비꽃의 염색체 수는 $2n=24$ (Miyaji, 1929; Lee, 1967; Ge *et al.*, 1987; Wang, 1991)인데 반해 *V. pinnata*는 염색체 수가 $2n=48$ (Clausen, 1927; Gershoy, 1928)로 확인되어 Ito(1962)의 주장을 뒷받침해 주었다. 그러나 본 연구 결과 이들 내에서의 분화 방향에 대해 *nrITS*와 *trnL-F* noncoding region 분석으로는 단계통을 보이지 않아 판단이 불가능하였다. Takhtajan(1980)은 피자식물의 형태 중에서 전연이고, 단엽인 상태가 가장 원시적인 것이라고 언급하면서, 엽맥의 분화에 따라 잎이 갈라지며 복엽으로 변화했을 것이라고 추정된 바 있어 잎이 심열하지 않는 태백제비꽃에서 남산제비꽃으로의 분화 방향을 생각할 수 있는 반면, Bessy(1915)는 진화의 일반적인 경향을 제시하면서 일반적으로 동질적 구조가 원시적이고 이질적인 구조가 고등하지만, 반드시 기관이 복잡해지는 방향으로 진행되는 않으며, 때로는 단일화의 양상을 가지기도 한다고 언급한 바 있고, 진화는 식물의 모든 기관이 어느 특정한 시기에 일어나지는 않으며, 다른 기관이 퇴보하는 동안 어떤 기관은 진보하게 될 것이라고 주장하였다. 따라서 태백제비꽃과 근연 분류군들은 *V. dissecta*에서 각 분류군으로 분화 중이거나 *V. dissecta*에서 남산제비꽃을 거쳐 잎이 합쳐지는 방향으로 분화가 진행 중일 가능성을 고려해 볼 수 있다.

최근 세 분류군의 분류학적 연구에 있어서 박(2005)은 세 분류군이 동일 장소에서 확인되는 경우가 있을 정도로 생육장소가 유사하며, 엽기변이가 거의 없는 것 등을 이유로 한 종일 가능성을 제기하였고, Kim *et al.*(1991)은 엽형의 차이가 존재함에도 불구하고 유전적으로 동일한 것과 잎의 발생 초기의 형태가 성숙한 후에도 그대로 유지되는 것으로 볼 때 이 분류군들은 유전적인 분화가 일어나기 전에 잎의 형태적인 분화가 일어난 것으로 추정하면서 이러한 잎의 형태적 다양성은 종의 한계를 설정하는 기준이 되기보다는 종내 집단의 다형현상으로 보는 것이 타당할 것이라고 언급한 바 있다. 본 연구에서도 동일 장소에서 서식하는 집단들을 확인 할 수 있었으며, 형태학적 연구를 비롯하여 해부학적, 화학적, 분자계통학적 연구 결과도 매우 유사한 것으로 나타나 박(2005)과 Kim *et al.*(1991)의 의견과 일치하지만, 종자 발아 시 측맥을 중심으로 한 열편의 형성에는 분류군 간에 다소 차이를 보였다. 이와 같이 태백제비꽃과 근연 분류군이 엽형을 제외한 형질들에서 매우 유사한 특징을 보이며, 엽형의 변이가 다양한 이유는 잎의 형태적인 분화가 진행 중 이거나(Kim *et al.*, 1991), 잡종형성

에 의한 방사진화 때문인 것으로 추정된다. 본 연구 결과 태백제비꽃과 근연분류군의 잎의 변이 형태는 크게 두 가지 유형으로 분류된다. 즉, 중앙맥과 측맥을 중심으로 뚜렷한 열편을 형성하면서, 측열편이 다시 두 개의 열편으로 갈라져 엽신의 폭이 엽신의 길이보다 긴 개체를 남산제비꽃으로 설정하는 것이 타당할 것이며, 결각이나 열편을 형성하지 않는 단순한 잎을 가지는 개체에서부터 깊게 갈라져 열편을 형성하지만 측맥을 중심으로 뚜렷하게 열편을 형성하지 않고, 엽신의 폭보다 엽신의 길이가 짧은 개체까지의 연속적인 변이를 태백제비꽃으로 취급하면서 단풍제비꽃은 태백제비꽃에 포함시키는 것이 타당할 것으로 판단된다. 또한, 태백제비꽃과 근연 분류군들의 분류학적 위치에 대해서 김(1986)과 김 등(1987)은 엽맥상의 차이를 근거로 태백제비꽃과 남산제비꽃을 각각 다른 계열로 설정한 바 있으며, Kim *et al.*(1991)은 Maekawa(1954)의 견해를 지지하면서 모종을 태백제비꽃으로 하고 단풍제비꽃과 남산제비꽃을 변종으로 설정한 바 있고, 최근 유 등(2004, 2005)은 분자계통학적 연구를 통해서 종을 독립적인 분류계급으로 취급하거나 태백제비꽃과 단풍제비꽃을 남산제비꽃이 포함되어 있는 *Pinnatae* 계열로 이전시키는 의견을 제시한 바 있다. 본 연구 결과 잎의 형태를 제외한 형질들이 매우 유사하게 나타나 해당 분류군들의 유연관계가 높은 것으로 판단되어 남산제비꽃을 태백제비꽃의 변종으로 설정한 Maekawa(1954)와 Kim *et al.*(1991)의 견해를 지지하여 남산제비꽃을 태백제비꽃의 종하 분류군으로 취급하는 것이 타당할 것으로 사료된다.

한편 일본에 분포하는 분류군 중 남산제비꽃과 주두, 꽃, 종자와 생육환경 등에서는 차이를 보이지 않지만 잎의 열편이나 결각의 정도에 따라 다르게 분류되고 있는 *V. eizanensis*와 *V. chaerophylloides* var. *sieboldiana*, 불규칙한 엽연을 보이거나 때때로 열편을 형성하는 *V. eizanensis* var. *simplicifolia* 등에 대해서도 종합적인 연구가 수행된다면 태백제비꽃과 근연분류군의 분류학적 유연관계 파악에 유용할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2006년 강원대학교 부속 환경연구소의 지원으로 수행되었습니다. 논문의 체계를 잡아주신 편집위원장님과 익명의 두 분 심사위원님께 깊이 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Fu, P. Y. and Y. C. Teng. 1977. Flora Plantarum Herbacearum Chinae Boreali-Orientalis. Tomus. Sci. Publ. Pp. 79-129.
- Ballard, H. E., Jr. 1996. Phylogenetic relationships and infrageneric groups in *Viola* (Violaceae) based on morphology, chromosome number, natural hybridization and internal transcribed spacer (ITS) sequences. Ph.D. dissertation. Univ. of Wisconsin, Madison.
- Becker, W. 1902. Violaceae. Bull. Herb. Boiss. ser. II 2: 856.
- _____. 1925. *Viola*. In Engler, A. and K. Prantl, 2nd eds., 21 Bd. Die Natürlichen Pflanzenfamilien, Pp. 363-377.
- Bessy, C. E. 1915. The phylogenetic taxonomy of flowering plant. Ann. Missouri Bot. Gard. 2: 109-164.
- Chung, T. H. 1959. A key of the species of Violaceae from Korea. J. Plant Biol. 2: 25-26.
- Clausen, J. 1927. Chromosome number and the relationship of species in the genus *Viola*. Ann. Bot. 4: 677-714.
- Clausen, T. H. 1964. Cytotaxonomy and distributional ecology of western North American violets. Madrono 17: 173-204.
- Doyle J. J. and J. S. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.
- Eckerson, S. H. 1908. The number and size of the stomata. Bot. Gaz. 46: 221-224.
- Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. Hafner Publ. Company. New York p. 533.
- _____. 1972. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Hafner publishing Company New York. Pp. 90-94.
- Faegri, K. and J. Iversen. 1964. Textbook of pollen analysis. Munksgard. Copenhagen. p. 237.
- Felsenstain, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 789-791.
- Franchet, A. and L. Savatier. 1879. Enumeratio Plantarum Japonicum. p. 646.
- Ge, C. -J, Y. -K. Li, Y. Zhou and P. -S. Hsu. 1987. Observations on the chromosome numbers of medicinal plants of Shandong Province(III). Acta Botanica Yunnanica 9: 333-338.
- Gershoy, A. 1928. Studies in North American violets. I. General considerations. Vermont Agri.l Exp. Sta. Bull. 279. p. 18.

- Gibson, T., D. Higgins and J. Thompson. 1994. Clustal X Program. EMBL, Heidelberg, Germany.
- Hama, E. 1972. A study of *Viola chaerophylloides* W. Becker. "By collecting those of Tsushima Island", Bull. Bot. Soc. Nagano 5: 15-19.
- Hekking, W. H. A. 1988. Violaceae Part I - *Rinorea* and *Rinoreocarpus*. Flora Neotropica Monograph 46.
- Ito, E. 1962. Observations on the variations of the *Chaerophylloides*-Group of *Viola* in Japan. Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo 6: 192-203.
- Ishidoya, T. 1929. Review of *Viola* from Korean and Manshuria. Jour. Chosen Nat. Hist. Soc. 8: 15-17.
- Kim, K. H. and S. Lee. 1978. Contribution to the pollen morphology and taxonomy of Korean Gymnosperms on the generic level. Jour. Kor. Fores. Soc. 40: 35-42.
- Kim, K. S., B. Y. Sun, S. S. Whang and G. H. Chung. 1991. Biosystematic study on the genus *Viola* in Korea - Comparative morphology of the *Viola albida* complex. Korean J. Bot. 34: 229-238.
- Ledebour, C. F. 1829. Flora Altaica I. Berlin. p. 225.
- Lee, T. B. 1969. Plant resources on Korea. Bull. Seoul Nat. Univ. (Biol. Agr.) 20: 158-159.
- Lee, Y. N. 1967. Chromosome number of flowering plants in Korea(1). J. Kor. Res. Inst. 11: 455-478.
- Lee, S. T. 1978. Phylogenetic significance of pollen morphology. Korean J. Pl. Taxon. 8: 59-68.
- Lee, T. B. 1980. Illustrated flora in Korea. Hyangmoonsa. Seoul.
- Linne, C. 1753. Species Plantarum. II. p. 936.
- Makino, T. 1912. Observations on the Flora of Japan. Bot. Mag. (Tokyo) 26: 153-155.
- Maximowicz, C. J. 1877. Diagnoses plantarum novarum asiaticarum. Bull. Acad. Imp. Sci. Saint-Petersbourg 23: 312-314.
- Maekawa, F. 1954. Violaceae. In Enumeratio Spermatophytarum Japonicum. III. Hara, H. (ed.), Iwanami, Tokyo. Pp. 194-227.
- _____ and T. Hashimoto. 1963. Violets of Japan 2. Shibundo-shinko-sha, Tokyo, Pp. 1-9.
- Melchior, H. 1925. Die Phylogenetische Entwicklung der Violaceen und die Natürlichen verwandtschaftsverhältnisse ihrer gattungen. In Repertorium specierum novarum regni vegetabilis. Beitrage Zur systematik und pflanzengeographie, vol. 2, Repertorium, Fedde, F. (ed), Dahlem, Berlin. Pp. 83-125.

- Metcalf, C. R. 1979. Anatomy of the dicotyledons. vol 1. Oxford Univ. Pp. 158-162.
- Miyaji, Y. 1929. Studien über die Zahlen Verhältnisse der Chromosomen bei der Gattung *Viola*. Cytologia 1: 28-58.
- Nakai, T. 1916. *Viola coreanae*. Bot. Mag. (Tokyo) 30: 276-289.
- _____. 1918. Notulae ad plantas Japoniae et Koreae XVIII. Bot. Mag. (Tokyo) 32: 226
- Odell, M. E. 1932. The determination of fossil angiosperms by the characteristics of their vegetative organs. Ann. Bot. 46: 941-963.
- Palibin, J. 1898. Conspectus Florae Koreae I. Acta Horti. Petrop. 17: 30-36.
- Regel, E. 1861. Violaceae. Pl. Radd. 1: 222.
- Russell, N. H. 1960. Studies in the photoperiodic responses of violets (*Viola*). The Southwestern Naturalist 5: 177-186.
- Salisbury, E. J. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. Phil. Trans. R. Soc. 216B, 1-65.
- Shama, G. K. and D. B. Dunn. 1968. Effect of environment on the cuticular features in *Kalanchoe fedtschenkoi*. Bull. Torrey Bot. Cl. 95: 464-473.
- _____ and _____. 1969. Environmental modifications of leaf surface traits in *Datura stramonium*. Canad. J. Bot. 47: 1211-1216.
- Skene, M. 1924. The biology of flowering plants. Sidgwick and Jackson, London.
- Smith, R. L. and T. M. Smith. 2001. Ecology and field biology sixth edition. AWL, California.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods. Version 4.02b Sinauer Asso. Inc., Massachusetts, USA.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molec. Biol. 17: 1105-1109.
- Takenouchi, M. 1955. Brief notes on the taxonomy, ecology and geographic distribution of species of *Viola* indigenous to Manchuria and Inner-Mongolia. Sci. Contr. Tung-pei Teach. Univ. 5: 65-95.
- Takhtajan, A. L. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). Bot. Rev. 46: 225-359.
- Timmerman, H. A. 1927. Stomatal numbers; their value for distinguishing species. Pharm. J. 118: 241-243.
- Wang, C. 1991. Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Science Press, 51: 1-148.
- Webb, A. and S. Carlquist. 1964. Leaf anatomy as an indicator of *Salvia apianamellifera* introgression. Aliso 5: 437-449.

- Wen, J. and E. A. Zimmer. 1996. Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the Ginseng genus, Araliaceae): inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 6: 166-177.
- Yapp, R. H. 1912. *Spiraea ulmaria* and its bearing on the problem of xeromorphy in marsh plants. *Ann. Bot.* 26: 815-870.
- 김경식. 1986. 한국산 제비꽃속 식물의 비교형태학적 연구. 성균관대학교 박사학위 논문. 수원.
- _____, 이재두. 1987. 한국산 제비꽃속 식물의 엽맥상에 관한 연구. *식물분류학회지* 18: 173-189.
- 박만규. 1974. 한국쌍자엽식물지. 정음사, 서울. Pp. 272-279.
- 박소연. 2005. 태백제비꽃군의 종분화론적 연구. 전북대학교 교육학석사학위논문. 전주.
- 유기억, 이우철, 권오근. 2004. RAPD, ISSR과 PCR-RFLP를 이용한 한국산 제비꽃속(*Viola*)의 종간 유연관계. *식물분류학회지* 34: 43-61.
- _____, 장수길, 이우철. 2005. ITS 염기서열에 의한 한국산 제비꽃속(*Viola*)의 계통 유연관계. *식물분류학회지* 35: 7-23.
- 이우철. 1996. 한국식물명고. 아카데미서적, 서울.
- 이창복. 2003. 원색대한식물도감. 향문사, 서울.
- 황성수, 김경식. 1985. 제비꽃속 화분의 형태학적 연구. 전북대 기초과학연구소 논문집 8: 53-59.

<Appendix> The list and GenBank accession number of 28 populations for molecular phylogenetic analysis used in this study.

Taxa	Voucher	Source	GenBank accession		
			ITS	<i>trnL</i> -F	
<i>V. albida</i> var. <i>albida</i>	KWNU57210	Korea, Hoengseonggun	DQ787754	DQ787732	
	KWNU57332	Korea, Mt. Kumkang	DQ787755	DQ787743	
	Yoo796(KWNU)	Korea, Mt. Myoungji	AY928292	DQ085904	
<i>V. albida</i> var. <i>takahashii</i>	KWNU57108	Korea, Mt. Kumkang	DQ787757	DQ787734	
	KWNU57103	Korea, Hoengseonggun	DQ787756	DQ787735	
	KWNU56515	Korea, Mt. Gyeryong	DQ787758	DQ787736	
	Yoo030520(KWNU)	Korea, Mt. Daedeok	AY928293	DQ085905	
<i>V. albida</i> var. <i>chaerophylloides</i>	KWNU57065	Korea, Mt. Kumkang	DQ787769	DQ787737	
	KWNU56517	China, Kailua Ihejiang	DQ787770	DQ787738	
	KWNU56520	China Mt. Hwangsan	DQ787771	DQ787739	
	KWNU53620	Korea, Ulleung-do	DQ787768	DQ787740	
	KWNU57092	Korea, Hoengseonggun	DQ787759	DQ787741	
	KWNU56516	Korea, Mt. Myoungji	DQ787766	DQ787742	
	KWNU57090	Korea, Hoengseonggun	DQ787760	DQ787743	
	KWNU57064	Korea, Mt. Sokni	DQ787764	DQ787744	
	KWNU57063	Korea, Mt. Sokni	DQ787765	DQ787745	
	KWNU57091	Korea, Hoengseonggun	DQ787761	DQ787746	
	KWNU57083	Korea, Mt. Halla	DQ787767	DQ787747	
	KWNU57081	Korea, Mt. Gyeryong	DQ787762	DQ787748	
	KWNU57080	Korea, Mt. Gyeryong	DQ787763	DQ787749	
	Yoo 823(KWNU)	Korea, Mt. Samyoung	AY928290	DQ085902	
	<i>V. chaerophylloides</i> var. <i>sieboldiana</i>	KWNU56521	Japan, Kumamoto	DQ787772	DQ787750
	<i>V. dissecta</i>	KWNU56518	China, Beijing, Yanging	DQ787774	DQ787752
	<i>V. dissecta</i>	KWNU56519	China, Mt. Daepo	DQ787775	DQ787753
<i>V. eizanensis</i>	KWNU56523	Japan, Kumamoto	DQ787773	DQ787751	
<i>V. orientalis</i>	Yoo924(KWNU)	Korea, Mt. Samyoung	AY928271	DQ085929	
<i>V. verecunda</i>	Yoo975(KWNU)	Korea, Ulleung-do	AY928283	DQ085896	
<i>V. pinnata</i>	Ballard s.n.(WIS)	USA	AF097240	AF097286	

Taxonomic study on *Viola albida* var. *albida* and its related taxa

Jang, Su-Kil, Woo-Tchul Lee and Ki-Oug Yoo*

(Division of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)

Taxonomic studies were conducted to evaluate the interspecific relationships in *Viola albida* var. *albida* and its related taxa using seven populations for morphology, palynology and anatomy. Molecular phylogenetic studies were also examined in 28 populations including 19 Korean, four Chinese, two Japanese, one American population and two outgroups using *nrITS*, and 27 populations except *V. pinnata* for *trnL-F* region of chloroplast DNA. Morphological differences was observed among seven populations of three species in leaf shape, but characters such as serrate number of leaf margins, petal size, pistil shape were showed overlap between populations. Pollen shape of seven populations was monad and grain shape on the polar axis was semi-angular. Morphology of aperture was tri-colporate, and the surface sculpturing was scabrate in rugulate. The grain shape of equatorial view of five populations was prolate whereas *V. albida* var. *takahashii* type 1 and *V. albida* var. *chaerophylloides* type 3 were subprolate. The anatomical characters of midvein of leaf, petiole, peduncle, root were also described for the species. The stomatal apparatus of the leaves was observed only in abaxial surface, and the number of stoma per unit (mm^2) were abundant in incised than lobate or cleft margin of the leaves. The *nrITS* analysis shows that *V. pinnata* and *V. dissecta* was monophyletic and occupied a basal position in the *V. albida* var. *albida* and its related taxa. The other clade including infraspecific populations of *V. albida*, and *V. eizanensis* was paraphyletic. The *trnL-F* noncoding region analysis was similar to the ITS tree. According to the above observations in morphology, palynology, anatomy, and molecular phylogenetic analysis, the significant differences were not found except for leaf shape in *Viola albida* var. *albida* and its related taxa, therefore *V. albida* var. *takahashii* and *V. albida* var. *chaerophylloides* were considered to be an infraspecific taxa of *V. albida* var. *albida* rather than an independent species, subvariety or variety of *V. pinnata* and *V. dissecta*.

Key words : *V. albida* var. *albida*, *V. albida* var. *chaerophylloides*, *V. albida* var. *takahashii*, morphology, palynology, anatomy, *nrITS*, *trnL-F* region.

*Corresponding author: Phone +82-33-250-8531, Fax +82-33-251-3990, yooko@kangwon.ac.kr