

Variations of Seed Hardness in Local Populations of *Pisum sativum*

Chang Ho Kim*

Department of Biological Science, Silla University, Busan 617-736, Korea

Received May 31, 2011 / Accepted June 10, 2011

In order to investigate the variations on the seed hardness of *Pisum sativum* distributed in southern area of Korean peninsula, 10 local strains (Choonseong, Ganghwa, Pocheon, Hadong, Haman, Geumneung, Yeongyang, Boseong, Gochang, Namweon), which located from 34°26"N to 38°11"N, were selected according to their latitudes and geographical distances. The seeds of these strains were collected and their contents of mannose and galactose were analyzed. Mannose contents in the seeds were variable in the range between the highest 10.351 mg/g (Ganghwa) and the lowest 5.962 mg/g (Yeongyang). The contents of galactose were also represented remarkable differences from 7.050 mg/g (Yeongyang) to 19.314 mg/g (Hadong). The local strains were classified into 3 variation types such as the south central type (Namweon, Yeongyang, Geumneung, Gochang), the central type (Choonseong, Ganghwa, Pocheon) and the southern type (Haman, Hadong) and 1 strange strains (Boseong) according to the geographical climatic type, isopleth of warmth index and the ratio of mannose to galactose, which indicate the hardness of seeds in Leguminosae, ranged from 0.46 to 0.94. The variation types are very significant genealogically as an evidence for microevolution related to natural and artificial selection in cultivated plants.

Key words : Galactose, mannose, microevolution, *Pisum sativum*, variation types

서론

일반적으로 재배식물의 형질분화는 주로 인간의 이용을 전제로 다수확이나 내병성 또는 특정 환경에 대한 내성 등과 같은 육종목적에 적합한 방향으로 진행되고 있으나, 각 재배지의 물리적 환경에 대한 식물자체의 적응여부에 따른 자연도태에 의해서도 지역품종들 간에 뚜렷한 형질의 차이가 나타날 수 있다.

완두(*Pisum sativum*)는 콩과에 속하는 1년생 작물로서 우리나라 전역에서 재배 분포되고 있으며, 재배역사 또한 길어서 우리나라는 물론 전 세계적으로 다양한 재배품종들이 존재하고 있다[2,14]. 그러나 이러한 폭넓은 다양성에도 불구하고 완두에 관한 연구는 실용 위주의 농학 관련 내용들이 주류를 이루고 있어 지역에 따른 특유의 재배지 환경에 대한 식물의 적응과 관련한 생태학적 접근은 거의 전무한 상태라 할 수 있다.

대체로 분포역이 넓은 식물종에 있어서는 지역에 따라 독특하고 물리적으로 가혹한 환경조건 하에서도 지속적인 생활사가 유지될 수 있는 즉, 서로 다른 서식지의 자연환경과 조화를 이루어 나갈 수 있는 적응 형질의 축적이 이루어지게 되는데, 이로 인해 서식지가 다른 지역개체군들 사이에서는 형질변이의 폭이 상대적으로 커지게 된다[7,13].

종자식물에 있어서 이와 같은 지역개체군 또는 종 수준의 적응적인 생활사 전략 관련 정보들은 모두가 분류군의 연속성을 도모하기 위하여 종자 내에 담겨 다음 세대로 이어지게 되는데, 이에 따라 동일 종이라 하더라도 종자에서 나타나는 지역개체군들 사이의 다양한 형질의 차이를 구명해 나가는 작업은 종생태학적으로 매우 중요한 의미가 있다고 할 수 있다[7,13].

우리나라는 좁은 국토면적에도 불구하고 자연환경, 특히 기후환경의 다양성이 두드러져 종생태학 연구를 수행하는데 매우 유리한 여건을 지니고 있다고 할 수 있다. 즉 북반구 중위도 지역에 남북으로 길게 위치하고 있는 지리적 특성으로 인해 Köppen의 기후구분상 온난습윤기후(Cf)와 한랭동계소우기후(Dw)의 접이 지역에 걸쳐있는 한편, 비교적 지형이 복잡하여, 많은 미기후적 구분이 가능하여[8]. 지역간 생태 환경적 차이가 비교적 폭넓게 나타나고 있다[4]. 이러한 지리적 및 기후적 특성에 따라, 전국 각지에서 재배되고 있는 완두 역시 인위적 및 자연적으로 다양한 재배환경에 노출되어 있고, 세대가 짧은 특성으로 인해 각각의 재배지 환경에 적응적인 다양한 생태형적 변이의 축적이 예상되고 있다.

많은 콩과식물에서 폭넓게 나타나고 있는 경피 종자(hard seed)는 종자 내 mannose의 성질에 따라 좌우되는데, mannose는 세포벽 구성 물질의 하나인 hemicellulose의 주성분으로서, 측쇄로 galactose가 연결된 형태인 galactomannan의 형태를 취하고 있다[1]. 이러한 galactomannan의 성질은 galactose의 비율에 따라 점액성으로부터 아주 딱딱한 형태에 이

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5474, Fax : +82-51-999-5474
E-mail : kch@silla.ac.kr

Table 1. Description on the seed collection of 10 local strains in the *Pisum sativum*

IT No.	Year	Collection site	Province
100954	1985	Choonseong	Gangwondo
175976	1992	Ganghwa	Incheonshi
102657	1985	Pocheon	Gyeongido
103257	1985	Hadong	Gyeongsangnamdo
102862	1985	Haman	Gyeongsangnamdo
103003	1985	Geumneung	Gyeongsangbukdo
104319	1985	Yeongyang	Gyeongsangbukdo
100820	1985	Boseong	Cheollanamdo
181881	1993	Gochang	Cheollabukdo
101240	1985	Namweon	Cheollabukdo

IT No. means registration number of National Gene Bank.

온량지수의 경우, 대상지역 가운데 북쪽 지역에 위치한 강화에서 가장 낮은 93.5의 수치를 보였고, 인접한 마산의 기후를 참조한 함안 지역이 가장 높은 111.8의 값을 나타내, 김[9]을 비롯한 몇 가지 온량지수 등치선들의 수치와는 부분적으로 다소의 차이를 보였다(Fig. 1). 한편, Köppen의 기후구분과 함께 지리적 차이를 고려한 우리나라의 기후형[8]을 기준으로 채종지의 분포를 살펴보면 중북부 지방에 위치해 있는 포천과 춘성 2개 지역이 중부내륙형에 포함되어 있는 것을 비롯해 지역에 따라 모두 6개의 기후형에 포함되어 있다(Fig. 1).

Mannose와 galactose의 함량분석

완두와 같은 콩과식물 종자에 있어 경실도의 지표가 되는 mannose와 galactose의 함량비[1]를 산출하기 위하여 thin layer chromatography법[20]을 이용, 3회 반복 실험하여 지역별 함량의 평균값을 구하였다.

Mannose와 galactose의 정량분석을 위하여, 각 지역별로 종자 500 mg씩을 증류수 5 ml 와 함께 4°C로 유지된 mortar에서 균질화 시켰고 이를 3,000× g로 10분간 원심분리 하였다. 이 때 분리한 상층액에 소량의 7% trichloroacetic acid를 첨가한 후 잘 혼합하였고, 이를 다시 9,000× g로 원심분리 시켜

은 상층액을 시료로 사용하였다.

Mannose와 galactose를 분리하기 위하여, 각 지역별 시료와 함께 표준물질(Sigma, USA) 용액을 50 μ l 씩 20×20 cm² TLC plate (silica gel:증류수=1:2, g/v) 에 각각 점적한 후, butanol, pyridine, 0.1 M HCl (50:30:20, v/v) 혼합액을 사용하여 상승법으로 약 4시간 30분간 1차 전개하였다. plate는 건조 후 diphenylamine, aniline, phosphoric acid (10:10:2, v/v) 혼합액을 발색시약으로 하여 120°C에서 20분간 가열, 발색시켜 Rf치를 구한 다음, 표준물질의 Rf치와 비교, 동정하였다. 동정된 각각의 발색부위는 densitometer (TotalLab, UK)에 의한 비색 분석으로 표준물질과 비교하여 정량하였다.

결과 및 고찰

Mannose와 galactose의 함량

Standard와 지역시료들 간 순도 차이를 비롯한 몇 가지 요인들의 영향으로 chromatogram 상의 Rf치에 다소의 차이를 보였지만 Thin layer chromatography법[19]에 의하여 17개 지역개체군의 팔 종자에 함유된 mannose와 galactose를 분리, 동정하여 정량 분석한 결과, 지역에 따라 다양한 함량의 차이를 보였다(Fig. 2, Table 3).

각 지역별 mannose 함량은 강화가 10.351 mg/g으로 가장 높은 수치를 보였고 영양이 5.962 mg/g의 값으로 가장 낮은 수치를 나타내 두 지역 간에는 2 배 가까운 현저한 함량의 차이를 보였으며, 특히, 강화, 춘성, 포천 등 고위도 지역에서 상대적으로 높은 함량을 보였다. 이러한 경향은, 고위도로 갈수록 mannose 함량이 각각 증가하거나, 감소하는 경향을 보인 아까시나무[5] 및 돌콩[6]의 결과들과 일치하는 결과로 mannose 함량이 강풍에 노출되어 있는 해안지역이나 저온 지역에서 종자와 유식물 보호를 위한 적응전략의 하나로써 경피 종자(hard seed)를 형성하는데 기여하는 것으로 해석된다.

Galactose에 있어서도 영양이 7.050 mg/g으로 가장 낮은

Table 2. Locations and climatic conditions of seed collection sites [10-12]

Locality	Latitude (° N)	Nearest meteorological station	Precipitation (mm)	Air emperature (°C)			W.I.	Relative humidity (%)	Annual day length (hr)
				Mean	Min.	Max.			
Choonseong	38.11	Chuncheon	1065.1	10.9	5.7	17.0	94.6	72.3	2193.6
Ganghwa	37.42	Ganghwa	1316.7	10.9	6.0	16.1	93.5	71.6	2510.2
Pocheon	38.11	Chuncheon	1065.1	10.9	5.7	17.0	94.6	72.3	2193.6
Hadong	35.15	Namhae	1638.2	13.7	9.0	18.8	111.7	68.0	2640.5
Haman	35.15	Masan	1503.7	14.0	9.5	19.1	111.8	65/2	2145.8
Geumneung	36.08	Gumi	1013.9	12.2	6.7	18.4	103.5	68.5	2328.2
Yeongyang	36.40	Uljin	1102.4	12.5	8.3	17.0	95.6	68.7	2494.4
Boseong	34.46	Yeosu	1407.6	14.1	11.0	17.9	106.4	68.3	2423.4
Gochang	35.25	Jeongeup	1286.2	12.8	7.7	18.5	113.0	74.2	2398.7
Namweon	34.26	Namweon	1789.5	10.8	5.1	17.5	112.3	75.4	2532.7

W.I.: Warmth index

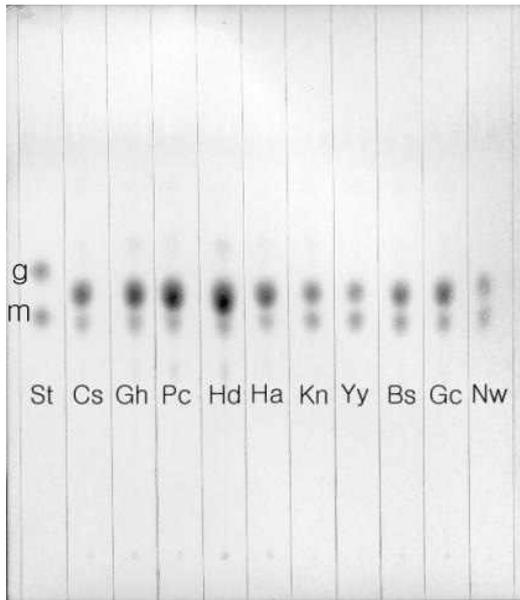


Fig. 2. Thin layer chromatogram of mannose and galactose in 10 local strains of the *Pisum sativum* seeds. Abbreviations on the each lane are the same as Fig. 1. st: standard, m: mannose, g: galactose.

Table 3. Contents of mannose and galactose in 10 local strains of the *Pisum sativum* seeds

Locality	Contents (mg/g)	
	Mannose	Galactose
Choonseong	9.409±0.028	14.217±0.058
Ganghwa	10.351±0.053	16.943±0.041
Pocheon	9.353±0.038	18.471±0.039
Hadong	8.953±0.072	19.314±0.028
Haman	6.492±0.055	12.993±0.041
Geumneung	6.836±0.029	9.529±0.026
Yeongyang	5.962±0.040	7.050±0.035
Boseong	8.416±0.052	11.950±0.066
Gochang	8.882±0.061	12.843±0.047
Namweon	8.619±0.034	9.163±0.053

함량을 보였고, 19.314 mg/g의 수치를 보인 하동이 가장 높았다. 특히, 영양을 비롯 남원, 금릉의 세 지역은 다른 지역들에 비해 특이적으로 낮은 수치를 보였다. 이와 같이, galactose의 지역별 함량의 차이는 부분적으로 크게 나타났으나, 전반적으로 위도에 따른 다양한 기후요인의 차이를 반영한 지리적 경향성은 식별되지 않았다. 이는 아까시나무[5] 및 돌콩[6] 등 선행연구의 결과와는 상치하는 것으로서, 진화적 배경이 다른 야생식물과 재배식물이라는 특성의 차이에서 기인하는 현상의 하나가 아닌가 생각된다. 이에 대한 보다 명확한 해석을 위해서는 무엇보다도 지속적인 후속 연구들이 이어져, 다양한 비교와 검토가 가능할 만큼 충분한 양의 종별자료의 집적이 요구된다.

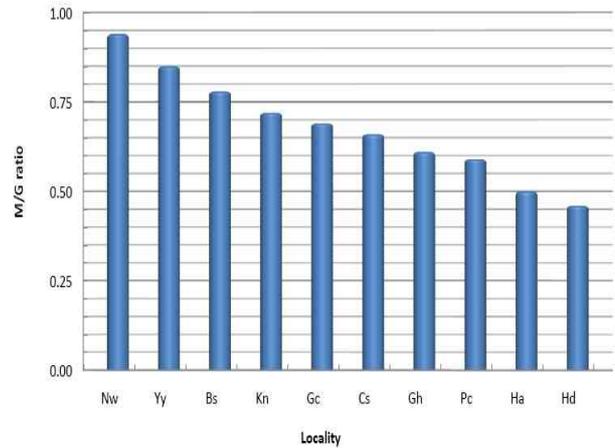


Fig. 3. Mannose/galactose ratio of the *Pisum sativum* seeds in 10 local strains. Abbreviations of locality are the same as Fig. 1. M: mannose, G: galactose.

Mannose와 galactose의 함량비

경피 종자(hard seeds)는 종피가 불투과성을 나타내 배와 배유가 팽윤하지 않음으로써 발아하지 않는 종자를 말한다. 경피 종자는 발아 후 유식물 보호를 위한 적응적 형질로써 콩과식물에 가장 많이 생기며, 콩과 중에서도 종자 크기가 작은 것일수록 경피 종자가 많아지는 경향을 나타내고 있다[19]. 전술한 바와 같이, 완두와 같은 콩과식물의 경피 종자는, 종자 내에 함유된 mannose와 galactose의 함량비에 따라 점액성으로부터 아주 딱딱한 형태에 이르기까지 다양한 형태로 존재하고 있으며, 이에 따라 mannose와 galactose의 함량비가 높아질수록 종자 경질도(seed hardness)가 커지게 된다. 이와 관련하여 콩과식물 종자에 있어 mannose와 galactose의 함량비는 분류학적인 중요성을 갖는다[15-18,21,22].

서식지가 다른 개체군은 동일 종이라 하더라도 발아시기와 관련하여 서로 다른 선택전략을 가지게 된다[3]. 완두에 있어서도 경질도 지표로서 발아시기의 선택성과 밀접한 연관이 있는 mannose와 galactose의 함량비가 동일종임에도 지역에 따라 0.46(하동)에서 0.94(남원)에 이르기까지 매우 다양하게 나타났다(Fig. 3). 이러한 결과는, 각각 0.41에서 1.73과 0.43에서 1.41까지의 범위를 보인 돌콩[6]과 아까시나무[5] 등에 비해 상대적으로 변이의 폭이 크지는 않았으나, 완두가 재배지의 환경적응과 관련하여 보편적인 자연선택과 함께 인위적인 도태압에 빈도 높게 노출되어온 재배식물이라는 점을 고려할 때, 가혹한 자연환경에 대한 적응성과 밀접하게 연관된 mannose와 galactose 함량비의 이 같은 다양성은 식물의 미진화 현상과 관련하여 종생태학적으로 그 의미가 매우 크다고 할 수 있다.

종자경질도의 변이유형

종자에 함유된 mannose와 galactose의 함량비에 기초하여

Table 4. Variation types according to m/g ratio and climatic type in the 10 local strains of *Pisum sativum*

Order (M/G)	Locality	Range of W.I. [9]	Climatic type [8]	Variation type
1	Namweon	100~110	southern inland	south central
2	Yeongyang	100~110	southern east coastal	south central
3	Geumneung	100~110	southern inland	south central
4	Boseong	100~110	south coastal	strange
5	Gochang	100~110	southern west coastal	south central
6	Choonseong	90~100	middle inland	central
7	Ganghwa	90~100	middle west coastal	central
8	Pocheon	90~100	middle inland	central
9	Haman	110~120	southern inland	southern
10	Hadong	110~120	south coastal	southern

W.I.: Warmth index, M: mannose, G: galactose.

완두의 종자 경실도와 관련한 지리적인 경향성을 분석하기 위하여, 각 지역의 함량비 서열(Fig. 3)과 지리적 기후형[8]을 대응시켜 본 결과, 완두의 10개 지역개체군들 가운데, 서열범위 내에서 다른 지역들에 비해 이질적이었던 보성을 제외하면 대체로 기후형과 연관성을 가지면서 중남부형(남원, 영양, 금릉, 고창), 중부형(춘성, 강화, 포천) 및 남부형(함안, 하동) 등 3개의 변이유형으로 식별되었다(Table 4). 이 같은 변이유형은 다양한 기후지표들 가운데 온량지수 등치선[9](Fig. 1)을 기준으로 구분했을 때, 지역별 함량비 서열과 완벽하게 일치하고 있어 mannose와 galactose의 함량비가 기후요인 가운데, 주로 온도요인에 의해 크게 영향을 받고 있음을 강력하게 시사하고 있으며, 이는 완두 종자에 있어 지역개체군 간 형질 분화에 대한 구체적인 증거로서 종생태학적인 의미가 크다고 할 수 있다.

한편, 종자 경실도의 정도를 나타내는 mannose와 galactose의 함량비 서열의 방향성에 있어서는 지리적인 위치나 온도범위가 중부형과 남부형 사이에 있는 중남부형에서 가장 높고, 이어서 서식지나 재배지에서 각각 저온과 강한 해풍 및 건조 환경에 노출될 수 있는 중부형과 남부형의 순으로 나타나, 선행 연구된 돌콩[5], 아까시나무[6] 등의 야생종과 비교하여 역의 방향성을 보이고 있다. 이는, 야생식물의 경우 지속적으로 생존을 위협하고 있는 가혹한 서식지의 자연환경을 극복하기 위한 보편적인 적응전략의 일환으로서 경피를 형성하는 반면, 완두와 같은 재배식물에 있어서는 재배지 자연환경 조건에 대한 적응에 더하여, 이와는 구별되는 다른 요인, 즉, 선발과 같은 인위적인 도태압에 지속적으로 노출되어온 때문이 아닌가 생각된다. 덧붙여, 이에 대한 보다 구체적인 의미 있는 해석을 추가하기 위해서는 다양한 각도에서의 지속적인 후속 연구들이 이어져야 할 것이다.

References

- Bewley, J. D. and M. Black. 1986. Seeds (Physiology of development and germination). pp. 13-15, Plenum. New York.
- Chung, T. H. 1956. Korean Flora. Shinjisa. Korea.
- Inoue, K. and I. Washitani 1989. Geographical variation in thermal germination Responses in *Campanula punctata* Lam. *Plant Species Biol.* **4**, 69-74.
- Kim, C. H. 1991. Comparative studies on the ecotypic variation of the *Robinia pseudo-acacia* L. seeds in local populations. Ph. D, thesis. Kon-Kuk Univ.
- Kim, C. H. 2000. Variation of galactomannan in the seeds of *Robinia pseudo-acacia*. *J. Natural Science* Silla Univ. **8**, 19-28.
- Kim, C. H. 2005. Geographical variation of galactomannan composition in the seeds of *Glycine soja*. *Korean J. Ecol.* **28**, 157-161.
- Kim, C. H., H. J. Lee, and Y. O. Kim. 1993. Electrophoretic variation of seed proteins in *Robinia pseudo-acacia*. *Korean J. Ecol.* **16**, 515-526.
- Kim, K. S. 1973. The climates of Korea. Iljisa, Korea.
- Kim, Y. O. 1966. Arid and humid intensity of Korea. *Thesis of Ewha Womans Univ.* **8**, 107-123.
- Korea Meteorological Administration 2001. Climatological normals of Korea (1971~2000). Seoul. Korea
- Korea Meteorological Seervice. 1985. Climatic summary of Korea. Seoul. Korea.
- Korea Meteorological Seervice. 1985-2003. Annual climatological report. Seoul. Korea.
- Lee, H. J. and C. H. Kim. 1993. Sees germination and thermal adaptation of seedlings in *Robinia pseudo-acacia*. *Korean J. Ecol.* **16**, 501-514.
- Lee, T. B. 1980. Illustrated Flora of Korea, Hyangmunsa. Korea.
- McCleary, B. V. and N. K. Matheson. 1974. α -D-galactosidase activity and galactomannan and galactosylsucrose oligosaccharide depletion in germinating legume seeds. *Phytochem* **13**, 1747-1757.
- McCleary, B. V. and N. K. Matheson. 1975. Galactomannan structure and β -mannosidase activity in germinating legume seeds. *Phytochem* **14**, 1187-1194.
- McCleary, B. V. and N. K. Matheson. 1976. Galactomannan utilization in germinating legume seeds. *Phytochem* **15**, 43-47.

18. Murray, D. R. 1984. Seed physiology. Vol. 1, Academic press, Sydney.
19. Nakayama, K. 1976. Physiology of seed germination. Uchida Rokakuho. Tokyo.
20. Randerath, K. 1963. Thin layer chromatography. pp. 277-302, Academic Press. New York.
21. Reid, J. S. G. and H. Meier. 1970. Formation of reserve galactomannan in the seeds of *Trigonella foenum graecum* *Phytochem* **9**, 513-520.
22. Smith, F. and R. Montgomery. 1959. The chemistry of plant gums and mucilages. pp. 324-325, Reinhold, New York.

초록 : 완두(*Pisum sativum*)의 지역개체군 간 종자경실도 변이

김창호*

(신라대학교 의생명과학대학 생물과학과)

완두(*Pisum sativum*)의 종자 경실도(硬實度, seed hardness)와 관련된 지리적 경향성을 조사하기 위하여, 한반도 남부의 북위 34° 26'~38° 11' 사이에 위치한 10개 지역(춘성, 강화, 포천, 하동, 함안, 금릉, 영양, 보성, 고창, 남원)에서 수집된 지역개체군들을 대상으로 종자 내에 함유된 mannose와 galactose의 정량분석을 실시하였다. 각 지역별 mannose의 함량은 최저 5.962 mg/g (영양)에서 최고 10.351 mg/g (강화)의 범위 내에서 다양하게 나타났다. Galactose의 지역별 함량 역시, 최고 19.314 mg/g (하동)에서 최저 7.050 mg/g (영양)에 이르는 다양한 수치를 보였다. 환경적응과 관련한 생태지표로서 종자의 경실도를 반영하고 있는 mannose와 galactose의 함량비를 산출한 결과, 지역에 따라 0.66~0.94의 값을 나타내었다. Mannose와 galactose의 함량비 서열과 함께 기후형 및 온량지수 등치선 등과 같은 지리적 기후구분에 대응하여 완두의 지역개체군들은 크게 중남부형(남원, 영양, 금릉, 고창), 중부형(춘성, 강화, 포천), 그리고 남부형(함안, 하동) 등 3가지 변이유형으로 구분되었고 이질적인 1개 지역개체군(보성)은 이 같은 유형구분에서 배제하였다. Mannose와 galactose의 함량비에 관한 서열에 있어서는, 선행 연구된 야생종들과 비교하여 역의 방향성을 나타내고 있는데, 이는 재배지역의 자연환경에 더하여, 재배 식물로서 지속적으로 노출되어 있는 선발 등 인위적 도태압 또한 완두의 형질분화에 중요하게 작용하고 있는 것으로 판단된다. 이상의 결과들은 완두의 지역개체군들 간에 기후형과 연관된 뚜렷한 형질 분화가 이루어졌음을 시사하고 있으며, 이는 식물의 미진화 현상과 관련한 구체적인 증거의 하나로서, 종생태학적인 의의가 큰 것으로 판단된다.