



## A systematic study of the *Polygonum amphibium* L. complex (Polygonaceae) based on chloroplast DNA sequences

Gao Yaqian, Gauri Shankar Bhandari, Jin Hee Park<sup>1</sup> and Chong-Wook Park\*

*School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea*

<sup>1</sup>*Department of Biological Education, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea*

(Received 28 January 2013; Revised 2 March 2013; Accepted 11 March 2013)

## 엽록체 DNA 염기서열에 근거한 물여뀌 종집단(마디풀과)의 분류학적 연구

Gao Yaqian · Gauri Shankar Bhandari · 박진희<sup>1</sup> · 박종욱\*

서울대학교 생명과학부, <sup>1</sup>서원대학교 생물교육과

**ABSTRACT:** The *Polygonum amphibium* complex (Polygonaceae) is a highly polymorphic taxon that can grow in aquatic environments as well as in moist terrestrial habitats. Aquatic and terrestrial plants of the *P. amphibium* complex vary significantly in morphology and exhibit very complicated patterns of morphological variation, resulting in the description of numerous infra-specific taxa. Principal components analysis of 107 individuals of the *P. amphibium* complex from Asia and North America using 11 morphological characters showed that the aquatic plants can be discerned from the terrestrial plants by leaf size, shape, and petiole length. In contrast, both aquatic and terrestrial plants collected from the same population or locality shared identical sequences in the *matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcL-accD* IGS and *trnL-trnF* regions of the chloroplast DNA (cpDNA), suggesting that aquatic and terrestrial forms of the *P. amphibium* complex are not genetically diverged; morphological differences between the two forms are probably due to the differences in environmental conditions of the habitats. In addition, results from the morphological analysis and the maximum parsimony analysis of the cpDNA data set revealed that the plants from Asia including Korea, Japan, China, Mongolia and Russia Far East are diverged from those in North America and Europe, suggesting that the Asian populations should be recognized as a distinct variety, *P. amphibium* var. *amurense* Korsh.

**Keywords:** *Polygonum amphibium* complex, Polygonaceae, chloroplast DNA sequences, principal components analysis, phylogenetic analysis

**적 요:** 마디풀과의 물여뀌 종집단(*Polygonum amphibium* L. complex)은 육상 및 수중 환경 모두에 서식할 수 있는 분류군으로, 서식 환경에 따라 다양한 형태 변이를 나타내어 현재까지 많은 분류군들이 기재되어 왔다. 아시아 및 북미산 107개체로부터 측정된 11개 형태형질을 사용하여 주성분분석을 수행한 결과, 본 종집단에서 존재하는 수생형 및 육생형 개체들은 모든 지역집단에서 잎의 형태 및 크기, 엽병의 길이 등에 의해 서로 구분되는 것으로 나타났다. 그러나, 동일 개체군 또는 동일 지역내에서 채집된 수생형과 육생형 개체들은 엽록체 DNA 4개 구간(*matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcL-accD* IGS, *trnL-trnF*)에서 완전히 동일한 염기서열을 공유하는 것으로 밝혀져 유전적으로는 분기되지 않은 것으로 추정되며, 따라서 본 종집단에서 나타나는 생육형간

\*Author for correspondence: parkc@snu.ac.kr

의 형태적 차이는 서식지 환경에 따른 개체 변이인 것으로 판단된다. 형태분석 및 엽록체 4구간 염기서열 유합자료의 계통분석 결과, 한국, 일본, 중국, 몽골, 극동 러시아 지역 등에 분포하는 아시아산 개체들은 북미 지역집단 개체들 및 유럽의 영국산 개체와 형태적, 유전적으로 뚜렷이 구분되는 것으로 밝혀졌으며, 따라서 한반도산 개체들을 포함하는 아시아 지역집단 개체들은 *P. amphibium*의 하나의 변종(*P. amphibium* var. *amurense* Korsh.)으로 인식하는 것이 타당한 것으로 판단된다.

**주요어:** 물여뀌 종집단, 마디풀과, 엽록체 DNA 염기서열, 주성분분석, 계통분석

물여뀌(*Polygonum amphibium* L.)는 마디풀속 여뀌절 [*Polygonum* L. sect. *Persicaria* (Mill.) Meisn.]에 속하는 분류군으로 북미, 동아시아, 유럽 등 북반구의 온대에서 아한대 지방에 주로 분포하며, 남미, 멕시코 및 남아프리카 등지에도 일부 유입되어 자라고 있는 것으로 알려져 있다 (Maire, 1961; Mitchell and Dean, 1978; Webb, 1993; Partridge, 2001; Li et al., 2003). 본 종은 주로 늪, 호수, 연못가, 강가, 습지 등 습기가 많은 곳에 서식하며, 한반도의 경우 주로 낙동강 수계를 중심으로 하는 경상도 지역의 강가, 배후 습지 또는 저수지와 북한의 일부 지역에 제한적으로 분포하는 것으로 보고되어 있다(W. T. Lee, 1996; Y. J. Lee, 1996; Lee, 2006; Park and Hong, 2007).

본 종은 유럽에서 채집된 식물을 근거로 Linnaeus (1753)에 의해 최초로 기재되었으며, 다년생 초본으로 수생 또는 육생하는 습성, 옆으로 기거나 물속에 발달하는 지하경, 선단부에 강모가 발달하지 않는 탁엽(ocrea), 비교적 짧고 직립하는 수상화서 모양의 화서, 2열하는 화주 그리고 잎, 탁엽, 포 및 화피의 표면에 epidermal cavity가 분포하지 않는 특징 등에 의해 여뀌절 내 다른 분류군들과 구분된다 (Kwak, 2001; Li et al., 2003; Hinds and Freeman, 2005).

물여뀌는 서식지에 따라 매우 복잡한 양상의 형태 변이를 나타내는 것으로 알려져 있다(Mitchell, 1968, 1971a, b, 1976; Mitchell and Dean, 1978; Partridge, 2001). 식물체의 대부분이 물속에 잠겨서 생육하는 수생형(aquatic form)은 식물체 전체가 거의 무모이고, 잎이 좁은 장타원형 내지 장타원형이며, 엽선은 약한 예두 또는 둔두 내지 원두이고, 엽저는 약한 심장저이며, 엽병이 길게 발달하는 특징을 나타낸다. 반면, 물가의 물 또는 양지바른 땅에서 생육하는 육생형(terrestrial form)은 식물체에 털이 많고, 잎이 선형, 피침형 또는 타원형 내지 좁은 난형이며, 엽선은 예두 또는 점첨두이고, 엽저는 예저, 둔저 또는 원저이며, 엽병이 짧은 특징을 갖는다(Standford, 1925a; Mitchell, 1968; Mitchell and Dean 1978; Partridge, 2001). 또한 육지와 수환경의 경계가 되는 물가와 같은 지역에서 생육하거나 육상 환경과 수환경이 번갈아가며 바뀌는 장소에서 생육하는 개체들의 경우, 두 성장형의 중간적 특성을 간혹 나타내기도 한다(Partridge, 2001).

한편, 물여뀌 종집단(*P. amphibium* complex)에 속하는 분류군들은 상기한 생육형들에서 나타나는 형태 변이에 근거하여 기재되어 왔다(Standford, 1925a, b; Mitchell and

Dean, 1978). 예를 들어 유럽산 *P. amphibium* 식물의 경우 Moench (1777)는 잎에 털이 있고, 엽병이 거의 없으며, 화서의 형태가 타원형인 육생형 개체들을 *P. amphibium* var. *terrestre* Moench로, 잎에 털이 없고, 엽병이 길며, 화서의 형태가 아원형인 수생형 개체들을 *P. amphibium* var. *natans* Moench로 기재한 바 있다(Table 1). 또한, 북미 대륙에 생육하는 본 종집단에 속하는 식물의 경우 Michaux (1803)는 잎이 난상 피침형이고, 화서의 형태가 장타원형인 육생형 식물을 *P. amphibium* var. *emersum* Michx.로, 잎이 난상 타원형이고 화서의 형태가 난형인 수생형 식물을 *P. amphibium* var. *natans* Michx. (non Moench, 1777)로 인식하였다(Table 1).

Willdenow (1809)는 북미에 분포하는 본 종집단에 속하는 식물을 유럽의 *P. amphibium*과 구분하여 새로운 종인 *P. coccineum* Muhl. ex Willd.로 명명하고, 북미에 분포하는 수생형을 *P. coccineum* var. *aquaticum* Willd.로, 육생형을 *P. coccineum* var. *terrestre* Willd.로 처리하였다(Table 1). 이 후 줄기, 잎, 탁엽 및 화서의 형태, 엽병의 길이, 털의 분포 양상 등에 따라 *P. hartwrightii* A. Gray, *P. amphibium* var. *stipulaceum* N. Coleman 등 본 종집단에 속하는 많은 분류군들이 북미에서 기재되었다(Gray, 1873; Coleman, 1874, Standford, 1925a, b). 한편, Mitchell and Dean (1978)은 북미산 본 종집단 식물의 성장상 실험 결과(Mitchell, 1968, 1971a, b, 1976)를 근거로, 북미 동부에 분포하는 본 종집단 식물을 *P. amphibium* var. *amphibium*, var. *stipulaceum*, var. *emersum*의 3변종으로 처리하면서, 북미에 *P. amphibium* var. *amphibium*이 생육하는 것으로 인식하였다(Table 1).

아시아에 분포하는 본 종집단 식물의 경우, Forbes and Hemsley (1891)는 줄기와 잎에 털이 많고, 화서가 짧은 특징을 갖는 중국 산둥에서 채집한 육생형 개체를 *P. amphibium* var. *vestitum* Hemsl.로 기재한 바 있으나, W. T. Lee (1996)와 Li et al. (2003)은 본 분류군을 *P. amphibium*의 이명으로 처리하였다(Table 1). 또한, Korshinsky (1892)는 러시아 아무르에서 채집한 잎이 타원형이고, 엽저가 깊은 심장저이며, 화피가 붉은 빛이 도는 흰색인 특징을 갖는 수생형 개체에 근거하여 *P. amphibium* var. *amurense* Korsh.를 기재하였다. Nieuwland (1912)는 *P. amphibium* var. *amurense*가 길고 두꺼운 잎, 깊은 심장저 내지 약한 이저인 엽저를 갖는 특징에 있어 유럽 및 미국에 분포하는 *P. amphibium*과 뚜렷이 구분된다고 판단하여, 본 분류군을 독립된 종

**Table 1.** Taxa of the *Polygonum amphibium* complex recognized in Europe, Asia, and North America by various authors.

Linnaeus (1753)	Moench (1777)	Michaux (1803)	Willdenow (1809)	Forbes and Hemsley (1891)	Korshinsky (1892)	Nieuwland (1912)	Hara (1952)	Mitchell and Dean (1978)	Komarov (1936), W. T. Lee (1996), Li et al. (2003), Yonekura (2006)	Region
<i>P. amphibium</i>	-	-	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>amphibium</i>	<i>P. amphibium</i> var. <i>amphibium</i>	<i>Persicaria</i> <i>amphibia</i>	<i>Persicaria</i> <i>amphibia</i> var. <i>amphibia</i>	<i>P. amphibium</i> var. <i>amphibium</i>	<i>P. amphibium</i> / <i>Persicaria</i> <i>amphibia</i>	Europe
	<i>P. amphibium</i> var. <i>natans</i>	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>aquaticum</i>							
	<i>P. amphibium</i> var. <i>terrestre</i>	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>terrestre</i>							
	-	-	-		<i>P. amphibium</i> var. <i>amurense</i>	<i>Persicaria</i> <i>amurenensis</i>	<i>Persicaria</i> <i>amphibia</i> var. <i>amurenensis</i>			Asia
	-	-	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>vestitum</i>	-	-				
	-	-	-					<i>P. amphibium</i> var. <i>amphibium</i>		
	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>natans</i>	<i>P. coccineum</i> var. <i>aquaticum</i>	-	-	-	-			North America
	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>emersum</i>	<i>P. coccineum</i> var. <i>terrestre</i>	-	-	-	-	<i>P. amphibium</i> var. <i>stipulaceum</i>		
								<i>P. amphibium</i> var. <i>emersum</i>		

[*Persicaria amurenensis* (Korsh.) Nieuwl.]으로 인식하였다 (Table 1). 그러나 본 분류군은 학자에 따라 Nieuwland (1912)의 견해대로 독립된 종으로 보거나 (Voroshilov, 1966), *Polygonum amphibium* 또는 *Persicaria amphibia* (L.) A. Gray의 변종 (Hara, 1952) 혹은 아종으로 인식하기도 한다 (Hultén, 1971; Soják, 1974). 한편, 일부 학자들 (Komarov, 1936; W. T. Lee, 1996; Li et al., 2003; Yonekura, 2006)은 본 분류군의 형태 변이가 *P. amphibium*의 변이 폭에 포함된다고 판단하여 이를 *P. amphibium* 또는 *Persicaria amphibia*의 이명으로 처리한 바 있어, 본 분류군의 분류학적 타당성 뿐만 아니라 한반도를 포함한 아시아산 물여뀌 종집단 식물의 분류학적 실체가 불분명한 실정이다 (Table 1).

이러한 물여뀌 종집단에 누적되어 있는 분류학적 문제점을 해결하기 위해서는 형태형질의 한계성을 보완할 수 있는 독립적인 진화 정보를 가진 분자계통학적 형질 (DNA 염기서열 자료) 등을 적용하여, 본 종집단 각 분류군 및 생육형의 실체, 분류학적 위치와 유전적 분기 정도를 정확히 밝히는 것이 필요하다. 한편, Kwak (2001) 및 Kim and Donoghue (2008a, b)는 마디풀속 여뀌절에 대한 분자계통학적 연구를 수행하여 물여뀌는 여뀌절의 다른 분류군들과 완전히 분기되어 독립적인 계통적 위치를 갖는 것을 일부 밝힌 바 있으나, 본 종집단에 대한 개체군 수준에서의 상세한 분자계통학적 연구는 아직 이루어진 바 없다.

따라서, 본 연구에서는 한반도를 포함한 아시아, 북미, 유럽 등 다양한 지역에 분포하는 물여뀌 종집단 개체군을

대상으로 엽록체 DNA (cpDNA) *matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcL-accD* IGS 및 *trnL-trnF* 구간의 염기서열 분석을 수행하여, 본 종집단에서 나타나는 육생형과 수생형 간의 유전적 변이 양상을 파악하고, 지역집단 간의 형태적, 유전적 분기 정도를 밝히며, 이를 근거로 한반도에 분포하는 본 종집단 개체들의 분류학적 실체를 파악하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**재료:** 본 연구에서는 1998년부터 2011년 사이에 전국 각지 및 러시아(우수리), 일본, 몽골, 미국 등지에서 채집한 개체들 (Table 2)과 서울대학교 생명과학부 식물표본관 (SNU)에 소장되어 있는 표본, 그리고 아주대학교 표본관 (AJU), 난대·아열대산림연구소 표본관 (WTFRC), 중국과학원 북경식물연구소 표본관 (PE)으로부터 대여받은 표본 등을 재료로 사용하였다. 본 연구 기간 중에 채집된 개체는 석엽표본으로 제작하여 서울대학교 생명과학부 식물표본관 (SNU)에 확정표본으로 소장하였다.

DNA 분석은 상기 기간 중 전국 각지에서 채집한 12개체군 33개체 (수생형 18개체, 육생형 15개체), 일본산 2개체군 3개체 (수생형 2개체, 육생형 1개체), 중국산 1개체 (수생형), 몽골산 1개체군 2개체 (수생형 1개체, 육생형 1개체), 러시아산 1개체군 2개체 (수생형 1개체, 육생형 1개체), 북미산 8개체군 13개체 (수생형 1개체, 육생형 12개체)와 영국 Kew 식물원 (K)을 통해 확보한 영국산 1개체 (육생형)의

**Table 2.** Collection data for 26 populations of the *Polygonum amphibium* complex and two outgroup species used in this study.

Accession no.	Voucher information
<b><i>P. amphibium</i> complex</b>	
<b>Asia</b>	
KOR01	Korea. Gyeongnam, Gumi-shi, Changlim-ri, 23 Dec 2004, <i>Kim 1000</i> (A) (SNU).
KOR02-05	Korea. Gyeongnam, Changnyeong-gun, Sibiriji, 13 Oct 2010, <i>Gao &amp; Park 2101</i> (A), <i>2102</i> (A), <i>2202</i> (T), <i>2204</i> (A) (SNU).
KOR06-09	Korea. Gyeongnam, Changnyeong-gun, Jangcheokji, 15 Aug 2010, <i>Park &amp; Shankar 121</i> (T), <i>128</i> (A), <i>132</i> (A), <i>136</i> (A) (SNU).
KOR10	Korea. Gyeongnam, Changnyeong-gun, Upo Swamp, 13 Aug 1999, <i>Kwak 314</i> (A) (SNU).
KOR11, 12	Korea. Gyeongnam, Changnyeong-gun, Upo Swamp, 25 Jun 2009, <i>Gao &amp; Jeon 201-1</i> (T), <i>201-4</i> (T) (SNU).
KOR13-15	Korea. Gyeongbuk, Yeongcheon-gun, Bonchonji, 13 Oct 2010, <i>Gao &amp; Park 3101</i> (A), <i>3202</i> (A), <i>3301</i> (A) (SNU).
KOR16-18	Korea. Gyeongbuk, Yeongcheon-gun, Yusangji, 21 Sep 2008, <i>Gao 7105</i> (A), <i>7116</i> (A), <i>7120</i> (T) (SNU).
KOR19-24	Korea. Gyeongbuk, Chilgok-gun, Namgyeji, 13 Oct 2010, <i>Gao &amp; Park 4102</i> (A), <i>4107</i> (A), <i>4208</i> (T), <i>4210</i> (T), <i>4302</i> (T), <i>4304</i> (T) (SNU).
KOR25-29	Korea. Gyeongbuk, Yeongdeok-gun, Daepo Swamp, 17 Jun 2009, <i>Gao &amp; Jeon 201-205</i> (T) (SNU).
KOR30, 31	Korea. Daegu. Dong-gu, Gasanji, 14 Aug 2010, <i>Park &amp; Shankar 101</i> (A), <i>104</i> (T) (SNU).
KOR32	Korea. Daegu. Dalseong-gun, Songsan Bridge, 15 Oct 2009, <i>Lee 1305</i> (A) (NIBR).
KOR33	Korea. Incheon-shi, Ganghwa-gun, Giljeong-cheon, 24 Jul 2007, <i>Ryu 0806048</i> (A) (AJU).
MON01, 02	Mongolia. Dornod, 31 May 2009, <i>Kim et al. 27874</i> (T), <i>27945</i> (A) (WTFRC).
JAP01	Japan. Hokkaido, Nemuro-shi, 15 Sep 2007, <i>Na J2007-73-1</i> (A) (AJU).
JAP02, 03	Japan. Hokkaido, Toyotomi-cho, 9 Aug 2011, <i>Park et al. 2011-1</i> (T), <i>2011-2</i> (A) (SNU).
CHN01	China. Jilin, 28 Jul 2007, <i>Choi 40980</i> (A) (AJU).
RUS01, 02	Russia. Primorsky, Aleksey-Nikolshoye Village, 28 Aug 2011, <i>Gorovoy &amp; Doudkin 1</i> (A), <i>2</i> (T) (SNU).
<b>North America</b>	
USA01, 02	U.S.A. New York, Tompkins Co., Jennings Pond, 14 Aug 2010, <i>Oh 5392</i> (T), <i>5393</i> (T) (SNU).
USA03	U.S.A. New York, Tompkins Co., Jennings Pond, 12 Aug 1998, <i>Park s. n.</i> (T) (SNU).
USA04, 05	U.S.A. New York, Tompkins Co., Ithaca, 19 Aug 2003, <i>Park et al. 030819-12</i> (T), <i>13</i> (T) (SNU).
USA06, 07	U.S.A. California, Lassen Co., Honey Lake, 12 Aug 2000, <i>Park et al. 2000-08-143</i> (T), <i>153</i> (T) (SNU).
USA08, 09	U.S.A. California, Solano Co., Lake Herman, 3 Jul 2010, <i>Park &amp; Park LH6</i> (T), <i>LH7</i> (T) (SNU).
USA10, 11	U.S.A. California, San Luis Obispo Co., Arroyo Grande Creek, 9 Aug 2000, <i>Park et al. 2000-08-026</i> (T), <i>027</i> (T) (SNU).
USA12	U.S.A. California, Alameda Co., UC Botanical Garden at Berkeley, 7 Aug 2000, <i>Park et al. 2000-08-053</i> (accession no. 83.0113) (T) (SNU).
USA13	U.S.A. California, Mono Co., Bridgeport, 11 Aug 2000, <i>Park et al. 2000-08-019</i> (A) (SNU).
<b>Europe</b>	
ENG01	U.K. England, Somerset Co., King's Sedgemoor near Moorlinch, 21 Jun 2000, <i>Gowing 017</i> (Kew reference no. 10803) (T) (K).
<b>Outgroup</b>	
<i>P. lapathifolium</i>	
OUT1	Korea. Gyeonggi, Gapyeong-gun, Seolak-myeon, 1 Jul 1999, <i>Kwak 99140</i> (SNU).
<i>P. hydropper</i>	
OUT2	Korea. Incheon-shi, Ganghwa-gun, Kukhwa-ri, 30 Sep 1999, <i>Kwak 99278</i> (SNU).

(A): aquatic form, (T): terrestrial form.

DNA 시료 등 총 26개체군 55개체(수생형 총 24개체, 육생형 총 31개체)의 물여뀌 종집단 개체를 대상으로 수행하였으며(Table 2), cpDNA *matK* 유전자 일부 구간, *psbA-trnH* IGS, *rbcL-accD* IGS 및 *trnL-trnF* 구간 등 총 4개 구간의 염기서열을 분석하였다. 외군(outgroup)으로는 물여뀌 종집단과 유연관계가 깊은 것으로 알려진 여뀌질(*P. hydropper* L.(여뀌) 및 *P. lapathifolium* L.(흰여뀌))을 선정하

였다(Kwak, 2001; Kim and Donoghue, 2008a, b) (Table 2).

**형태 분석:** 물여뀌 종집단의 주요 형태형질의 관찰은 연구기간 중 채집한 개체들과 상기한 표본관에 소장되어 있는 표본을 사용하여 수행하였으며, 이들로부터 잎의 크기 및 형태, 엽선 및 엽저의 형태, 엽병의 길이, 탁엽의 형태 및 크기, 화서의 크기, 꽃 색 등 주요 형태형질을 일차적

**Table 3.** Characters used in morphological analyses of the *Polygonum amphibium* complex.

Character (unit)
1. Leaf blade length (cm)
2. Leaf blade maximum width (cm)
3. Distance from leaf base to the widest leaf point (cm)
4. Leaf width at 1/5 point of the blade (cm)
5. Leaf width at 1/2 point of the blade (cm)
6. Leaf width at 4/5 point of the blade (cm)
7. Character 2/ Character 1
8. Character 4/ Character 5
9. Character 6/ Character 5
10. Character 3/ Character 1
11. Petiole length (cm)

으로 관찰하였다. 한편, 잎의 크기 및 형태, 엽병의 길이 등은 물여뀌 종집단의 지역별 개체군간, 생육형간에 변이가 나타나는 중요한 형질로 인식되어 왔으므로, 본 연구에서는 지역별, 생육형별로 본 종집단의 형태 변이 폭을 잘 반영할 수 있도록 선정한 아시아산 수생형 38점(한국산 26점, 중국산 4점, 일본산 3점, 몽골산 2점, 러시아 3점) 및 육생형 38점(한국산 23점, 중국산 4점, 일본산 2점, 몽골산 4점, 러시아 5점)과 북미산 수생형 6점 및 육생형 25점 등 총 107점의 표본을 대상으로 잎의 크기 및 형태에 관한 11개의 형질(Table 3)을 측정하여 주성분분석(principal components analysis)을 수행하였다. 주성분분석은 PC용 SAS program (SAS Institute, 2011; Release 9.3)을 사용하였고, 자료행렬로부터 correlation coefficient를 계산하여 분석을 수행하였다.

**DNA 염기서열 결정:** 본 연구에서는 상기한 물여뀌 종집단 26개체군 55개체 및 외군 2개체군 2개체(Table 2)를 대상으로 cpDNA 4개 구간(*matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcl-*

*accD* IGS 및 *trnL-trnF*)의 염기서열을 결정하였다. DNA 추출을 위한 재료로는 야외에서 채집하여 silica-gel로 급속 건조시킨 잎 또는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 냉동, 보관한 잎을 사용하였다. DNA의 추출은 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany)을 사용하였으며, 모든 처리과정은 공급자의 manual (DNeasy Plant Handbook, 2012; QIAGEN, Germany)을 따라 수행하였다. 상기 방법으로 추출한 DNA를 주형으로 double strand PCR (Polymerase Chain Reaction)을 이용하여 cpDNA 4개 구간(*matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcl-accD* IGS 및 *trnL-trnF*)을 증폭시켰으며, 각 cpDNA 구간의 증폭에 사용된 PCR primer와 PCR 조건은 Table 4에 제시하였다. PCR 반응은 0.6 mL microcentrifuge tube에 정제된 template DNA 10-50 ng, 10X PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 15 mM  $\text{MgCl}_2$ , 500 mM KCl, pH 8.3) 5  $\mu\text{L}$ , 2 mM dNTP 5  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{M}$  forward primer 1  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{M}$  reverse primer 1  $\mu\text{L}$ , *Taq* DNA polymerase (Super-Therm DNA polymerase, Germany) 1 unit를 첨가한 다음 증류수로 총 부피를 50  $\mu\text{L}$ 로 맞추어 수행하였으며, PE 2400 Thermal Cycler (Applied Biosystems, U.S.A.)를 사용하였다. 증폭된 각 구간의 DNA는 exonuclease I 5 units과 shrimp alkaline phosphatase 2 units을 첨가하여 정제한 후 (Werle et al., 1994), BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, U.S.A.)을 사용하여 cyclic sequencing 반응을 수행하였으며, primer는 PCR에 사용한 primer를 그대로 사용하였다(Table 4). Sequencing 반응을 위한 모든 처리과정은 공급자의 manual (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol, 2010; Applied Biosystems, U.S.A.)을 따라 수행하였으며, 그 결과 얻어진 산물은 ethanol/sodium acetate 침전방법을 이용하여 정제한 후, ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, U.S.A.)를 이용하여 분석하였다.

**염기서열 정렬 및 자료분석:** 상기한 cpDNA 4개 구간의 sequencing 결과로부터 Sequencher program (ver. 4.10.1;

**Table 4.** PCR and sequencing primers and PCR cycling conditions for four cpDNA regions examined. Stars (\*) represent primers used only for sequencing.

Region	Primer	Pre-denaturation		Denaturation		Annealing		Extension		Final extension	
		Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (min)	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (min)	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (sec)	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (sec)	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (min)
<i>matK</i>	trnK_670F										
	matK_193F*	95	3	95	1	53	30	72	50	72	7
	matK_479R*										
	matK_1246R										
<i>psbA-trnH</i> IGS	psbA_F	95	3	95	1	53	30	72	50	72	7
	trnH_R										
<i>rbcl-accD</i> IGS	rbcl_50F	95	3	95	1	53	30	72	45	72	7
	accD_79R										
<i>trnL-trnF</i>	c	95	3	95	1	53	30	72	45	72	7
	f										

Gene Codes Corporation, U.S.A.)을 사용하여 각 염기서열을 결정하였으며, 각 구간의 염기서열은 Clustal X program (Thompson et al., 1997)을 이용하여 정렬 한 후, 육안으로 최종 조절하였다. 정렬된 cpDNA 4개 구간의 염기서열 자료를 각각 독립적으로 일차 계통분석한 결과, 각 구간의 가변영역의 수(number of variable sites)가 적어 충분한 해상도를 얻지 못하였으며, 따라서 이들 자료를 하나로 유합하여 분석하였다. cpDNA 4개 구간 염기서열 유합자료로부터 PAUP\* program (ver. 4.01b 10; Swofford, 2003)을 사용하여 최대절약계통수(maximum parsimony tree)를 산출하였으며, 'heuristic search', 'TBR' branch swapping, 'SIMPLE' addition, 'hold = 10', 'steepest descent', 'collapse of zero branch lengths', 'MULPARS', 'equal weighting of all characters' 및 'ACCTRAN' option을 적용하였다. 한편, *matK*구간의 37-45번째 염기 사이에 존재하는 9 bp 길이의 indel 및 637-660번째 염기 사이에 존재하는 24 bp 길이의 indel, 그리고 *trnL-trnF* 구간의 163-167번째 염기 사이에 존재하는 5 bp 길이의 indel은 simple gap coding 방법 (Simmons and Ochoterena, 2000)으로 coding하여 분석하였고, 이외의 indel은 모두 결여형질상태(missing character state)로 처리하였다. Bootstrap 분석(Felsenstein, 1985)은 상기 계통분석에서 사용한 조건을 그대로 적용하여 heuristic search를 1,000번 반복하여 수행하였다. cpDNA 4개 구간 유합자료의 염기변이(nucleotide divergence)는 PAUP\* program의 'distance matrix' option을 이용하여 산출하였으며, transition:transversion 비율을 2:1로 가정하여 two-parameter method (Kimura, 1980)로 계산하였다.

## 결 과

### 1. 잎의 형태 변이

물여뀌 종집단에 속하는 식물의 대표적인 잎의 형태는 Figs. 1, 2에 제시하였다. 본 종집단에 속하는 식물의 잎은 단엽으로 줄기의 마디에 호생한다. 엽신의 길이(형질 1)는 수생형은 6.2-13.4 cm, 육생형은 4.9-19.5 cm로, 수생형에 비해 육생형이 상대적으로 큰 폭의 변이를 나타내었다 (Fig. 3). 엽신의 폭(형질 2, 4-6)의 경우에도 육생형 개체들이 수생형 개체들에 비해 상대적으로 큰 폭의 변이를 나타내었으며, 또한 아시아에 분포하는 육생형 개체들은 엽신의 최대폭(형질 2)이 평균 1.4 cm로서, 최대폭이 평균 4.2 cm인 북미 육생형 개체들에 비해 좁은 경향이 있는 것으로 밝혀졌다(Fig. 3). 엽신의 길이에 대한 폭의 비율(형질 7)의 경우, 아시아 육생형 개체들은 0.1-0.2의 낮은 값을 가지면서 북미 육생형 개체들과 뚜렷이 구분되었다 (Fig. 3). 한편, 수생형 개체들은 주로 장타원형의 엽신을 가지며, 육생형 개체들과는 달리 엽신의 형태 및 크기에 있어 뚜렷한 지역간 변이가 나타나지 않는 것으로 조사되었다(Fig. 3). 육생형과 수생형은 엽신의 형태에 있어서도

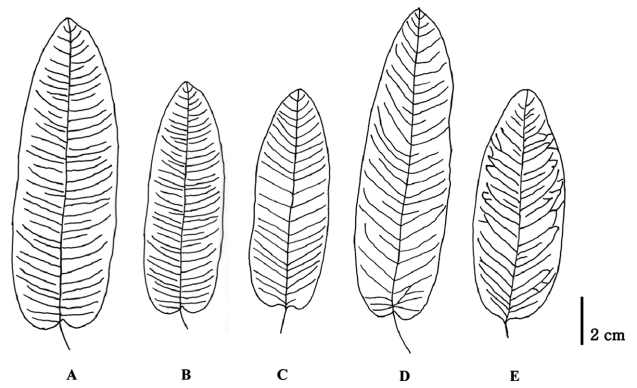


Fig. 1. Representative leaves of the aquatic form of the *Polygonum amphibium* complex in Asia (A-D) and North America (E). A: Korea (Choi et al. 35320); B: Mongolia (Kim et al. 27495); C: Russia (Gorovoy & Doudkin 6); D: Japan (Park et al. 2011-8); E: U.S.A. (Park et al. 2000-08-023).

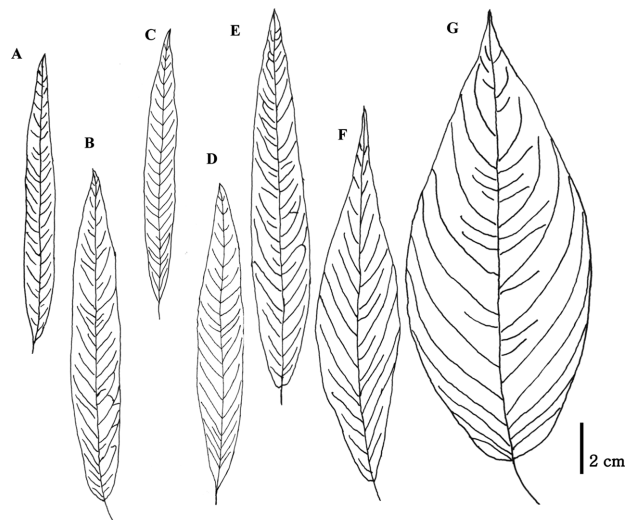
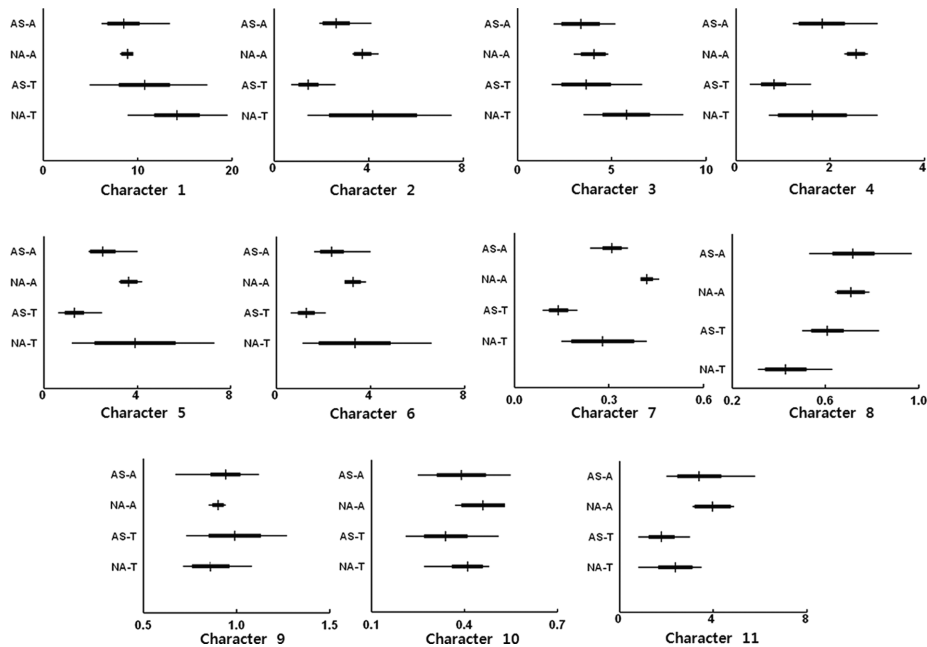


Fig. 2. Representative leaves of the terrestrial form of the *Polygonum amphibium* complex in Asia (A-D) and North America (E-G). A: Korea (Gao & Jeon 205); B: Mongolia (Kim et al. 27874); C: Russia (Gorovoy & Doudkin 8); D: Japan (Park et al. 2011-1); E: U.S.A. (Park et al. 030820-3); F: U.S.A. (Park & Park LH03); G: U.S.A. (Park et al. 2000-08-025).

차이를 나타내며, 육생형의 엽선은 주로 날카로운 예두 또는 점첨두이고(Fig. 2), 수생형의 엽선은 둔두 내지 원두이다(Fig. 1). 한편, 엽병의 길이(형질 11)는 0.8-5.8 cm로 개체간, 지역간, 생육형간 변이 폭이 크며, 수생형이 육생형에 비해 긴 것으로 나타났고, 지역적으로는 북미 개체군들이 아시아 개체군들보다 긴 경향이 있는 것으로 나타났다(Fig. 3).

### 2. 주성분분석

본 연구에서는 물여뀌 종집단에서 나타나는 형태 변이 양상을 정확히 파악하기 위해 아시아와 북미에서 채집된



**Fig. 3.** Ranges, means and standard deviations for 11 morphological characters measured from 107 individuals of the *Polygonum amphibium* complex. Means are indicated by vertical lines. Character numbers correspond to those in Table 3. AS-A: aquatic individuals from Asia; NA-A: aquatic individuals from North America; AS-T: terrestrial individuals from Asia; NA-T: terrestrial individuals from North America.

수생형과 육생형 107개체를 대상으로 상기 외부형태 분석에서 얻어진 11개 형질(Table 3) 값을 사용하여 주성분 분석을 수행하였다.

그 결과, 처음 3개의 주성분(PC 1, 2, 3)이 전체 분산의 87.1%를 설명하는 것으로 나타났으며, 나머지 주성분들은 그 기여율이 각각 5.4% 이하였다(Table 5). 주성분 1(PC1)은 전체 분산의 54.1%를 설명하며, 엽신의 최대폭(형질 2), 엽선으로부터 1/5, 1/2, 4/5 지점에서의 엽신 폭(형질 4-6), 엽신 길이에 대한 최대폭의 비율(형질 7) 등 주로 엽신의 폭 및 전체 형태와 관련된 형질이 비교적 높은 기여율을 나타내었다(Table 5). 한편, 주성분 2(PC2)는 전체 분산의 20.8%를 설명하며, 엽신 길이(형질 1)가 높은 negative vector값을, 엽신 상부폭의 비율(형질 8) 및 엽병의 길이(형질 11) 등이 높은 positive vector값을 나타내었다. 주성분 3(PC3)은 전체 분산의 12.2%를 설명하며, 엽신 하부폭의 비율(형질 9)과 엽신 최대폭의 위치를 나타내는 형질 10이 높은 기여율을 나타내었다(Table 5).

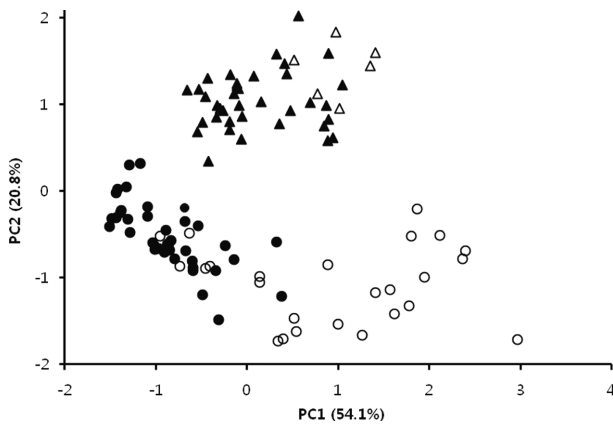
이중 주성분분석에서 기여율이 가장 높은 주성분 1과 2를 축으로 하여 각 개체들을 배열한 결과, 본 종집단의 아시아 및 북미산 수생형 개체들은 주성분 2에 있어 비교적 높은 값을 가지면서 육생형 개체들과 완전히 분리되었으며(Fig. 4), 이는 수생형 개체들이 육생형 개체들 보다 엽신 길이가 상대적으로 짧고, 엽선 상부가 완만하게 줄어들며, 엽병의 길이가 긴 경향이 있음을 의미한다(Table 5). 한편, 아시아 및 북미산 수생형 개체들은 하나의 집단을 형성하였으며, 이들은 집단내에서 서로 구분되지 않는 것으로

**Table 5.** Loadings of the first three principal components for 11 morphological characters from the analysis of 107 individuals of the *Polygonum amphibium* complex. Character numbers correspond to those in Table 3.

Character no.	PC		
	1	2	3
C1	0.2239	-0.4763	0.0871
C2	0.3930	-0.0524	0.2168
C3	0.3054	-0.3576	-0.2332
C4	0.3422	0.3080	0.0696
C5	0.3984	-0.0268	0.1687
C6	0.3819	0.0006	0.2946
C7	0.3256	0.3299	0.1533
C8	-0.1170	0.5276	-0.1009
C9	-0.2194	0.0610	0.5998
C10	0.2365	0.0706	-0.6063
C11	0.2380	0.3886	-0.0999
Eigenvalue	5.95	2.29	1.34
Cumulative % of eigenvalues	54.1	74.9	87.1

나타났다(Fig. 4).

한편, 한국, 일본, 중국, 몽골 및 극동 러시아 지역에 분포하는 아시아산 육생형 개체들은 북미 동부 New York주에서 채집된 일부 개체들과 함께 비교적 낮은 주성분 1 값을 가지면서, 나머지 북미산 육생형 개체들과 구분되었다



**Fig. 4.** Ordination of 107 individuals of the *Polygonum amphibium* complex along PC1 and PC2 from the principal components analysis using 11 morphological characters (cf. Table 3). Some individuals are hidden due to the same values. ▲ = aquatic individual from Asia; △ = aquatic individual from North America; ● = terrestrial individual from Asia; ○ = terrestrial individual from North America.

(Fig. 4). 주성분 1은 엽신 폭(형질 2, 4-6)과 엽신 길이에 대한 최대폭의 비율(형질 7) 등의 형질과 높은 상관관계를 나타내며(Table 5), 이러한 결과는 상기 개체들이 나머지 북미산 육생형 개체들에 비해 엽신의 폭이 좁고, 전체 형태가 선형 또는 좁은 피침형인 경향이 있는 것을 나타낸다. 한편, 나머지 북미산 육생형 개체들은 상대적으로 엽신의 폭이 넓고, 전체 형태가 넓은 피침형, 타원형 내지 좁은 난형인 경향이 있다(Fig. 2F, G).

### 3. 엽록체 DNA 염기서열 변이

**엽록체 DNA 유합 자료의 염기서열 특징:** 본 연구에서 얻어진 물여뀌 종집단 55개체 및 외군인 *P. hydropiper* 및 *P. lapathifolium* 2개체의 cpDNA *matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcl-accD* IGS 및 *trnL-trnF* 구간의 염기서열을 유합한 결과, 이들 염기서열은 총 2984 bp로 정렬되었다(Table 6). 정렬된

cpDNA 4개 구간 유합자료에서 가변영역의 수(number of variable characters)는 18개였으며, 이 중 informative character의 수는 16개이었다(Table 6). 또한, 물여뀌 종집단의 개체간 염기변이율은 0-0.4%, 물여뀌 종집단과 외군간의 염기변이율은 2.7-3.2%이었으며, 동일 개체군 또는 동일 지역 내(북미, 아시아)에서 채집된 물여뀌 종집단의 수생형과 육생형 개체들은 동일한 염기서열을 갖는 것으로 밝혀졌다.

cpDNA *matK*, *psbA-trnH* IGS, *rbcl-accD* IGS 및 *trnL-trnF* 구간의 염기서열을 함께 고려할 때, 물여뀌 종집단 내에는 6가지의 cpDNA haplotype (H1-H6)이 존재하는 것으로 밝혀졌다(Table 7). Haplotype H1-H3는 본 종집단의 아시아산 개체들에서 나타나며, H1은 일본산 2개체와 몽골산 개체를 제외한 나머지 아시아산 개체들, H2는 일본산 2개체, 그리고 H3은 몽골산 2개체에서 나타나고, 이들 세 haplotype은 *trnL-trnF* 구간에서 일어난 1 bp의 염기치환으로 각각 구분된다(Table 7). 한편, haplotype H4는 북미 동부 New York주에서 채집된 3개체(USA01-03) 및 California산 1개체(USA13)에서, H5는 나머지 북미 개체들에서 나타나며, 이들 두 haplotype은 10 bp의 염기치환과 2개의 indel의 차이를 나타낸다(Table 7). Haplotype H6은 유럽의 영국산 1개체(ENG01)에서 나타나며, 아시아산 haplotype H1과는 5 bp의 염기치환과 2개의 indel, H2 및 H3와는 6 bp의 염기치환과 2개의 indel에 의해 각각 구분된다(Table 7). 또한 haplotype H6는 북미산 haplotype H4와는 6 bp의 염기치환과 3개의 indel, H5와는 10 bp의 염기치환과 4개의 indel에 의해 각각 구분된다(Table 7).

**계통분석:** 상기 cpDNA 염기서열 유합자료를 PAUP\* program을 사용하여 계통분석한 결과, 108 step의 branch length를 갖는 2개의 최대절약계통수(MP tree)를 얻었으며, uninformative site를 제외한 CI 값은 0.972, RI 값은 0.986이었다(Fig. 5A, B). 이들 두 최대절약계통수는 근본적으로

**Table 6.** Statistics for cpDNA data set used in this study.

	cpDNA region				
	<i>matK</i>	<i>psbA-trnH</i> IGS	<i>rbcl-accD</i> IGS	<i>trnL-trnF</i>	Combined
Sequence length (bp)					
Ingroup	1183-1207	208	489-491	873-878	2759-2784
Outgroup	1183	371-374	503	855-857	2917-2918
Aligned length (bp)	1216	374	511	883	2984
No. of indels*	33	0	2	5	40
No. of coded indels	2	-	-	1	3
G + C ratio (%)*	33.6-34.0	32.7-33.7	35.2-35.6	34.1-34.4	34.1-34.9
No. of variable characters*	5	4	3	6	18
No. of parsimony informative characters*	5	3	2	6	16

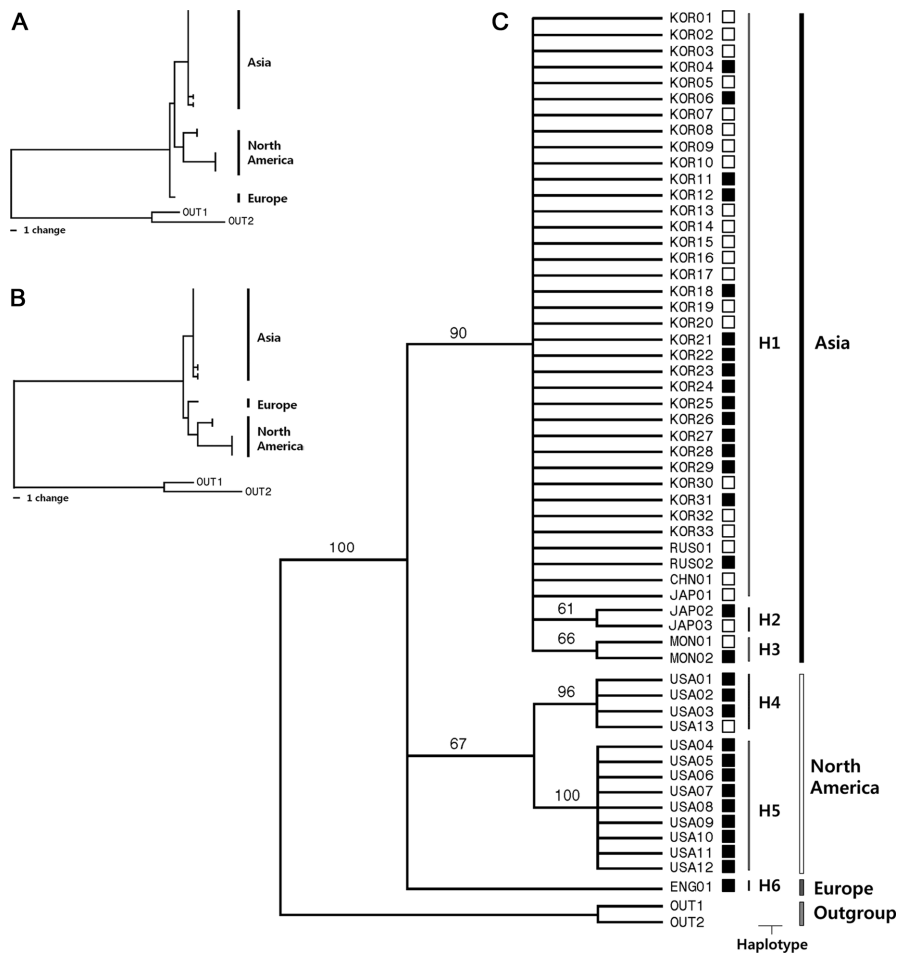
\*Ingroup only



**Table 7.** Chloroplast DNA haplotypes found in the *Polygonum amphibium* complex in Asia, North America, and Europe. Accession numbers correspond to those in Table 2. Dashes represent indels.

Locality	Accession no.	Haplotype	Variable nucleotide sites in alignment																																				
			<i>matK</i>												<i>psbA-trnH</i>			<i>rbcL-accD</i>			<i>trnL-trnF</i>																		
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2							
Asia	Korea KOR01-33	H1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2								
Japan JAP01	0		0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6	6	0	1	3	3	5	5	9	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	4	7					
China CHN01	3		3	3	4	4	4	4	4	4	2	5	7	3	6	8	6	5	5	2	6	9	2	3	7	7	5	6	6	6	6	6	2	4	7	4			
Russia RUS01-02	7	8	9	0	1	2	3	4	5	7	5	8	7	7	0	1	1	0	1	9	1	0	5	2	3	4	4	9	5	6	7	8	9	3	5	6	1		
Japan JAP02-03	H2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	G	C	-	G	G	T	A	C	T	C	A	C	T	-	T	G	A	A	A	C	G	A	G	C	T
Mongolia MON01-02	H3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	G	C	-	G	G	T	A	C	T	C	A	C	T	-	T	G	A	A	A	C	G	C	G	C	T
North America	U.S.A. USA01-03	H4	C	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	A	A	-	T	G	T	A	A	T	C	A	C	T	-	C	T	A	A	A	C	G	A	G	C	G	
U.S.A. USA13	C		T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	A	A	A	-	G	T	A	A	C	G	A	A	A	-	C	G	-	-	-	-	-	-	A	G	A	G	
U.S.A. USA04-05	H5	C	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	A	A	A	-	G	T	A	A	C	G	A	A	A	-	C	G	-	-	-	-	-	-	A	G	A	G	
U.S.A. USA06-12		C	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	A	A	A	-	G	T	A	A	C	G	A	A	A	-	C	G	-	-	-	-	-	-	A	G	A	G	
Europe	U.K. ENG01	H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	G	A	I	G	G	T	T	C	T	C	C	C	T	T	C	G	A	A	A	C	G	A	G	C	G

I = AATAAAGATTCTTTTTGTCTTA (24-bp insertion/deletion in *matK* at base position 637-660).



**Fig. 5.** The two most parsimonious trees (A, B) and their strict consensus tree (C) obtained from the analysis of the cpDNA combined data set. Accession numbers correspond to those in Table 2. Numbers above branches represent the bootstrap values above 50%. Haplotype abbreviations (H1-H6) refer to Table 7. ■ = terrestrial form; □ = aquatic form.

유사한 topology를 가지며, 유럽의 영국산 개체(ENG01)의 위치에 있어서만 차이를 나타내었다. 첫번째 최대절약계통수의 경우, 영국산 개체는 나머지 물여뀌 종집단 개체들의 기저군으로 연결되었으나(Fig. 5A), 두번째 최대절약계통수에서는 북미산 개체들로 구성된 clade의 자매군으로 연결되었다(Fig. 5B). 이들 두 최대절약계통수의 엄밀합의계통수(strict consensus tree) 상에서 물여뀌 종집단의 개체들은 전체적으로 단일계통군을 형성하였으며, 높은 bootstrap값(BS = 100)에 의해 이들의 단일계통성이 지지되었다(Fig. 5C). 한편, 엄밀합의계통수 상에서 본 종집단에 속하는 개체들은 크게 1) 아시아산 개체들로 구성된 clade, 2) 북미산 개체들로 구성된 clade, 그리고 3) 영국산 개체(ENG01)로 구분되었다(Fig. 5C). 북미 개체들로 구성된 clade는 다시 haplotype H4를 갖는 New York주에서 채집된 3개체(USA01-03) 및 California산 1개체(USA13)로 구성된 subclade H4와 haplotype H5를 갖는 나머지 북미 개체들로 구성된 subclade H5로 분기되었다(Fig. 5). 이들 두 subclade는 각각 높은 bootstrap값(BP = 96, 100)에 의해 지지되었으나, 두 subclade간의 유연관계는 비교적 약하게 지지되었다(BP = 67).

## 고 찰

**생육형에 따른 변이:** 물여뀌 종집단의 잎의 크기와 형태에 관한 11개 형질을 선정, 측정하여 주성분분석을 수행한 결과, 본 종집단 아시아 및 북미 개체군 모두에서 잎의 크기 및 형태, 엽병의 길이 등에 의해 수생형과 육생형이 뚜렷이 구분되는 것으로 나타났다(Fig. 4). 수생형은 엽신의 길이가 육생형 개체들 보다 상대적으로 짧으며, 엽신의 상부가 완만하게 줄어들고, 엽병의 길이가 긴 특징이 있는 반면, 육생형은 엽신 상부가 급격히 줄어들어 엽선이 예두 또는 점침두로 날카롭고, 엽병이 비교적 짧은 경향이 있다(Figs. 1, 2, 4). 또한 수생형은 식물체 전체가 무모이고, 육생형은 줄기, 잎, 탁엽 등에 털이 분포한다. 그러나, 물여뀌 종집단에서 나타나는 이러한 형질의 다형성은 대부분 다양한 서식환경 하에 성장하는 개체들에서 발견되는 변이임이 여러 실험들을 통해 밝혀진 바 있으며(Mitchell, 1968, 1971a, b, 1976), 또한 일부 서식지의 경우 수생형과 육생형이 동시에 나타나고(Table 2), 서식지의 수심이 얇은 경우 수생형과 육생형의 중간적 특징을 갖는 전이형이 관찰되기도 한다(Partridge, 2001).

한편, 본 연구에서는 수생형 16개체군 24개체 및 육생형 18개체군 31개체를 포함하는 물여뀌 종집단 개체들을 대상으로, 염기변이 속도가 비교적 빠른 것으로 알려져 있는 cpDNA 4개 구간의 염기서열을 비교 분석하여 수생형과 육생형간의 유전적 분기 여부를 파악하고자 하였다. 그 결과, 동일 개체군 또는 동일 지역내에서 채집된 수생형과 육생형 개체들은 분석된 cpDNA 4개 구간에서 완전

히 동일한 염기서열을 공유하는 것으로 밝혀졌다(Table 7, Fig. 5). 동일 장소의 수심이 다른 곳에서 채집된 수생형과 육생형 개체들인 일본산 2개체(JAP02, 03)는 haplotype H2, 몽골산 2개체(MON01, 02)는 H3, 그리고 한국산 개체들(KOR02-05, KOR06-09, KOR16-18, KOR19-24, KOR30, 31) 및 러시아산 2개체(RUS01, 02)는 haplotype H1을 각각 공유하였다(Table 7, Fig. 5). 이러한 결과로 볼 때 본 종집단에서 나타나는 생육형간의 다양한 형태 변이는 서식지 환경에 따른 개체 변이인 것으로 판단되며, 따라서 각 지역에서 생육형간의 형태 변이에 근거하여 설정된 다양한 분류군들(Table 1)에 대한 재검토가 필요한 것으로 사료된다.

**한반도 물여뀌 종집단 개체의 분류학적 실체:** 아시아에 분포하는 물여뀌 종집단 식물은 유럽 및 북미 분류군들과 구분되어 *P. amphibium* (= *Persicaria amphibia*)의 변종 혹은 아종으로 인식되거나(Korshinsky, 1892; Hara, 1952; Hultén, 1971; Soják, 1974), 또는 독립된 종으로 처리되기도 하였다(Nieuwland, 1912; Voroshilov, 1966). 그러나, 일부 학자들(Komarov, 1936; W. T. Lee, 1996; Li et al., 2003; Yonekura, 2006)은 본 분류군에서 나타나는 형태적 특징이 *P. amphibium*의 변이 폭에 포함된다고 판단하여, 이를 *P. amphibium* 혹은 *Persicaria amphibia*의 이명으로 처리한 바 있다.

cpDNA 유합자료 엄밀합의계통수 상에서 한국, 일본, 중국, 몽골 및 극동 러시아 지역에 분포하는 아시아산 개체들은 높은 bootstrap 값(BS = 90)에 의해 지지되는 단일계통군을 형성하면서 북미 개체들 및 유럽의 영국산 개체와 뚜렷이 구분되었다(Fig. 5C). 아시아산 개체들은 몽골산 2개체 및 일본산 2개체를 제외하고는 cpDNA 4개 구간에서 모두 동일한 염기서열을 공유하였으며, 몽골산 2개체 및 일본산 2개체도 *trnL-trnF* 구간에서 각각 1 bp의 염기 치환이 존재할 뿐 나머지 구간에서는 다른 아시아산 개체들과 동일한 염기서열을 갖는 것으로 나타나, 아시아산 개체들은 분석된 구간에서 거의 유전적 변이가 없는 것으로 밝혀졌다(Table 7). 특히 한국산 본 종집단 12개체군 33개체의 경우, cpDNA 4개 구간에서 모두 동일한 염기서열을 가지면서, 러시아 및 중국산 개체 그리고 일본산 1개체와 cpDNA haplotype H1을 공유하였으며(Table 7), 형태적으로도 이들 개체와 동일하였다. 반면, 아시아 개체들로 구성된 clade와 북미 개체들로 구성된 clade 사이의 cpDNA 4개 구간 염기변이는 0.25-0.44%, 영국 개체와의 염기변이는 0.15-0.18%로 비교적 높았으며, 이러한 결과는 아시아산 개체들에서 나타나는 잎의 형태, 꽃색 등에 있어서의 형태적 차이가 *P. amphibium*의 변이 폭에 포함된다고 본 일부 학자들(Komarov, 1936; W. T. Lee, 1996; Li et al., 2003; Yonekura, 2006)의 견해를 지지하지 않았다.

한편 cpDNA 유합자료 엄밀합의계통수(Fig. 5C) 상에서 북미산 개체들로 구성된 subclade H4에 속하는 육생형 개

체들은 선단부 가장자리가 확장되면서 바깥쪽을 향해 날개모양으로 발달하는 형태의 탁엽을 가지며, 육생형에서 이러한 특징을 갖는 식물을 Coleman (1874)은 *P. amphibium* var. *stipulaceum*으로 인식한 바 있다. Subclade H4와 또다른 북미산 subclade H5 사이의 cpDNA 4개 구간 염기변이는 0.33%로 비교적 높은 것으로 확인되었으며, 또한 영국산 개체와도 0.18%의 염기변이를 나타내었다. 이러한 결과는 이들 개체를 *P. amphibium*의 하나의 변종으로 인식한 Coleman (1874)의 분류학적 처리를 지지하였다.

Subclade H4의 육생형 개체는 잎의 형태가 선형 또는 좁은 피침형(Fig. 2E)으로 subclade H5에 속하는 나머지 북미산 개체들 보다는 아시아에 분포하는 육생형 개체들과 유사하며, 주성분분석에서도 아시아산 육생형 개체들과 함께 하나의 집단을 형성하였다(Fig. 4). 또한, subclade H4에 속하는 California에서 채집된 수생형 개체(USA13)도 상기 육생형 개체의 경우와 마찬가지로 주성분분석에서 동일 개체군에서 채집된 다른 수생형 개체들과 함께 아시아에 분포하는 수생형 개체들과 하나의 집단을 형성하였다(Fig. 4). 그러나, 아시아산 개체들은 subclade H4에 속하는 개체들과 1) cpDNA 4개 구간에서 0.25-0.29%의 염기변이를 나타내며, 형태적으로는 2) 꽃이 백색이고, 3) 육생형의 경우 선단부가 확장되지 않는 원통형의 탁엽을 가지며, 4) 수생형의 경우에는 엽저가 심장저인 특징에 의해 뚜렷이 구분된다. 한편, subclade H5에 속하는 북미산 개체들은 모두 육생형으로, 줄기가 굵게 발달하며, 직립하고, 넓은 피침형 내지 좁은 타원형의 잎 그리고 선단부가 확장되지 않는 원통형의 탁엽을 가지며, Michaux (1803)는 이러한 형태적 특징을 갖는 북미산 개체들을 *P. amphibium* var. *emersum*으로 처리하였다. Mitchell and Dean (1978)은 본 분류군이 북미산 물여뀌 종집단 중 가장 육상환경에 잘 적응된 분류군으로 인식하였으며, 물속 줄기 및 부유엽이 발달하지 않는 것으로 보고하였다. Subclade H5는 cpDNA 4개 구간에서 아시아산 개체 clade와 0.36-0.40%, 영국산 개체(육생형)와 0.29%의 염기변이를 나타내어 유전적으로 어느정도 분기된 것으로 판단되며, 이러한 결과는 이들 개체를 *P. amphibium*의 하나의 변종으로 인식한 Michaux (1803)의 분류학적 견해를 지지하였다.

본 연구에서 얻어진 결과를 종합해 볼 때, 한국, 일본, 중국, 몽골 및 극동 러시아 지역을 포함하는 아시아에 분포하는 물여뀌 종집단 개체들은 북미 지역집단 개체들과 형태적 그리고 유전적으로 뚜렷이 구분되는 것으로 판단된다. 한편 본 연구의 경우, 유럽산 물여뀌 종집단 개체군 재료가 충분히 확보되지 않아 이들과 아시아산 지역집단 간의 유전적 변이 양상을 상세하게 분석하지는 못하였으나, 본 연구에서 분석한 영국산 1개체는 아시아산 개체들과 달리 haplotype H6를 가지면서, cpDNA 4개 구간에서 0.15-0.18%의 염기변이를 나타내었다. 또한 아시아산 개체들은 꽃이 백색이고, 수생형의 경우 엽저가 심장저인 특징

에 의해 유럽산 본 종집단 개체들과 형태적으로 구분된다 (Partridge, 2001). 이러한 형태적 특징 및 본 종집단 아시아 지역집단 개체들과 북미산 지역집단 및 유럽산 개체간의 유전적 분기 정도를 고려할 때, 아시아 지역집단 개체들은 Korshinsky (1892)의 견해를 따라 *P. amphibium*의 변종 (*P. amphibium* var. *amurense*)으로 인식하는 것이 타당한 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 환경부 “차세대에코이노베이션기술개발 사업”의 연구비 지원(과제 번호 416-111-005)으로 수행되었습니다. 본 연구를 위해 귀중한 표본을 대여하여 주신 아주대학교 표본관(AJU), 난대·아열대산림연구소 표본관(WTFRC), 북경식물원표본관(PE)의 관계자에게 감사드립니다. DNA 재료 확보와 미국, 일본, 러시아 채집 조사에 도움을 주신 최홍근 교수님, 오상훈 박사님, 차주영 교수님, Gorovoy 박사님 및 Doudkin 박사님께 깊은 감사를 드립니다. 또한, 염기서열 분석에 도움을 주신 서울대학교 식물계통분류학연구소 김고은, 김혜민, 최태영 및 대학원생들께 고마움을 전합니다.

## 인용문헌

- Coleman, N. 1874. Catalogue of Flowering Plants of the Southern Peninsula of Michigan, with a Few of the Cryptogamia. Dygert Bro's & Co., Grand Rapids.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogeny: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Forbes, F. B. and W. B. Hemsley. 1891. An enumeration of all the plants known from China proper, Formosa, Hainan, Corea, the Luchu Archipelago, and the Island of Hongkong, together with their distribution and synonymy. *Journal of the Linnean Society. Botany* 26: 317-396.
- Gray, A. 1873. Miscellaneous botanical notes and characters. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 8: 282-294.
- Hara, H. 1952. Contributions to the study of variations in the Japanese plants closely related to those of Europe or North America, Part 1. *Journal of the Faculty of Science, University of Tokyo. Section III. Botany* 6: 29-96.
- Hinds, H. R. and C. C. Freeman. 2005. *Persicaria* (Linnaeus) Miller. In *Flora of North America North of Mexico*. Vol. 5. *Flora of North America Editorial Committee* (ed.), Oxford University Press, New York. Pp. 574-594.
- Hultén, O. E. G. 1971. The circumpolar plants. II. Dicotyledons. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar* 13: 1-463.
- Kim, S.-T. and M. J. Donoghue. 2008a. Molecular phylogeny of *Persicaria* (Persicarieae, Polygonaceae). *Systematic Botany*

- 33: 77-86.
- Kim, S.-T. and M. J. Donoghue. 2008b. Incongruence between cpDNA and nrITS trees indicates extensive hybridization within *Eupersicaria* (Polygonaceae). *American Journal of Botany* 95: 1122-1135.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Komarov, V. L. 1936. *Polygonum* L. In *Flora of the U. S. S. R.* Vol. 5. Komarov, V. L. (ed.), Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moscow-Leningrad. Translated from Russian by N. Landau, 1970. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem and the Smithsonian Institution, Washington, D. C. Pp. 594-701.
- Korshinsky, S. 1892. Plantas amurenses in itinere anni 1891 collectas enumerat novisque species describit. *Trudy Imperatorskago S.-Peterburgskago Botaniceskago Sada* 12: 287-431.
- Kwak, M.-H. 2001. A Systematic Study on *Polygonum* sect. *Persicaria* (Polygonaceae) in Korea. M. S. dissertation, Seoul National University, Seoul. (in Korean)
- Lee, W. T. 1996. *Lineamenta Florae Koreae*. Academy Publishing Co., Seoul. (in Korean)
- Lee, Y. J. 1996. Polygonaceae. In *Flora Coreana*. Vol. 1. Im, R. J. (ed.), Science and Technology Publishing House, Pyongyang. Pp. 270-342. (in Korean)
- Lee, Y. N. 2006. *New Flora of Korea*. Vol. I. Kyo-Hak Publishing Co., Seoul. (in Korean)
- Li, A.-J., B. Bojian, A. E. Grabovskaya-Borodina, S.-P. Hong, J. McNeill, S. L. Mosyakin, H. Ohba and C.-W. Park. 2003. Polygonaceae. In *Flora of China*. Vol. 5. Wu, Z. and P. H. Raven (eds.), Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. Pp. 277-350.
- Linnaeus, C. 1753. *Species Plantarum*. Ed. 1. Vol. 1. Impensis Laurentii Salvii, Stockholm.
- Maire, R. 1961. *Flore de l'Afrique Du Nord*. Vol. VII. Dicotyledonae. Paul Lechevalier, Paris.
- Michaux, F. A. 1803. *Flora Boreali-Americana*. Paris.
- Mitchell, R. S. 1968. Variation in the *Polygonum amphibium* Complex and its Taxonomic Significance. University of California Press, Berkeley and Los Angeles.
- Mitchell, R. S. 1971a. A guide to aquatic smartweeds (*Polygonum*) of the United States. *Virginia Water Resources Research Center Bulletin* 41: 1-52.
- Mitchell, R. S. 1971b. Comparative leaf structure of aquatic *Polygonum* species. *American Journal of Botany* 58: 342-360.
- Mitchell, R. S. 1976. Submergence experiments on nine species of semi-aquatic *Polygonum*. *American Journal of Botany* 63: 1158-1165.
- Mitchell, R. S. and J. K. Dean. 1978. Polygonaceae (buckwheat family) of New York State. *New York State Museum Bulletin* 431: 1-79.
- Moench, C. 1777. *Enumeratio Plantarum Indigenarum Hassiae*. Kassel. Pp. 188-193.
- Nieuwland, J. A. 1912. Our amphibious persicarias. *American Midland Naturalist* 2: 201-247.
- Park, C.-W. and S. P. Hong. 2007. Polygonaceae. In *The Genera of Vascular Plants of Korea*. Park, C.-W. (ed.), Academy Publishing Co., Seoul. Pp. 334-360.
- Partridge, J. W. 2001. *Persicaria amphibia* (L.) Gray (*Polygonum amphibium* L.). *Journal of Ecology* 89: 487-501.
- SAS Institute Inc. 2011. SAS® 9.3 for Windows. SAS Institute Inc., Cary.
- Simmons, M. P. and H. Ochoterena. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analysis. *Systematics Biology* 49: 369-381.
- Soják, J. 1974. Bemerkungen zur Gattung *Truellum* Hoult. (Polygonaceae). *Preslia* 46: 139-156.
- Stanford, E. E. 1925a. The amphibious group of *Polygonum*, subgenus *Persicaria*. I. Adaptation in *Polygonum amphibium* L. *Rhodora* 27: 109-112.
- Stanford, E. E. 1925b. The amphibious group of *Polygonum*, subgenus *Persicaria*. II. The American amphibious persicarias. *Rhodora* 27: 125-130, 146-152, 156-166.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and other methods), version 4.0b 10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins. 1997. The CLUSTAL X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876-4882.
- Voroshilov, V. N. 1966. *Flora Sovetskogo Dal'nego Vostoka*. Nauka, Moscow. (in Russian)
- Webb, D. A. 1993. Polygonaceae. In *Flora Europaea*. Vol. 1. Tutin, T. G., N. A. Burges, A. O. Chater, J. R. Edmondson, V. H. Heywood, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters and D. A. Webb (eds.), Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 91-108.
- Werle, E., C. Schneider, M. Renner, M. Völker and W. Fiehn. 1994. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Research* 22: 4354-4355.
- Willdenow, C. L. 1809. *Enumeratio Plantarum Horti Regii Botanici Berolinensis*. Taberna Libraria Scholae Realis, Berlin.
- Yonekura, K. 2006. *Persicaria* Mill. In *Flora of Japan*. Vol. IIA. Iwatsuki K., D. E. Boufford and H. Ohba (eds.), Kodansha Ltd., Tokyo. Pp. 148-174.