

稀貴樹種 3種의 隔離殘存集團 遺傳構造

홍 용 표

(국립산림과학원 산림유전자원부)

1. 한라산 시로미집단의 I-SSR 표지 다양성 및 空間的 遺傳構造

재료 및 방법

1) 조사지역 개황 및 재료

시로미는 한라산에서 해발 1,500m 이상의 지역에서 출현한다. 본 연구의 조사지는 한라산 영실 방면의 해발고도는 1,640~1,660m의 남서 사면이며, 경사는 4~6°로 완만한 지역이다. 가로 40m(남서방향), 세로 60m(북동방향)의 조사구를 만들어 각 clump의 크기와 위치를 기록하였다. 시로미는 clump를 형성하고 있기 때문에, 각 clump의 줄기분포를 육안으로 확인하여 클론에 의한 동일한 개체가 중복되어 채집되지 않도록 가능한 clump별로 시료를 선정하고 있을 채취하였다.

2) I-SSR 분석

잎 조직에서 추출한 total DNA를 UBC(University of British Columbia)에서 제작한 I-SSR primer 50개를 사용하여 예비 PCR 분석을 수행했다. 이 중 증폭산물의 재현성, 다형성 등을 고려하여 선정된 8개의 primer(UBC- #814, 815, 816, 818, 826, 829, 835, 873)를 사용해서 PCR을 수행했다.

3) 자료분석

- 시로미 집단의 분포형태와 연령에 따른 공간구조: 군집지수(aggregation index, R)
- 유전적 다양성: Shannon의 diversity index
- 공간적 유전구조(spatial genetic structure): spatial autocorrelation analysis

결과 및 고찰

1) 시로미 집단의 개황과 분포형태 및 공간분포

조사구 2,400m²(40m x 60m)내에, clump의 총 수는 189개로서 밀도는 0.08개/m²였다. 시로미는 장·단경 12cm x 17cm의 가장 작은 clump로부터 6m x 6m의 가장 큰 clump까지 그 면적의 차이가 대략 1,700배의 차이가 날 정도로 다양한 크기로 분포하고 있었다. 군집지수(R)가 0.828 ($\alpha=0.001$ 에서 유의)이 나왔으며, 이는 조사지역의 시로미 clump들이 밀집하여 분포하고 있음을 의미한다.

2) 유전적 다양성

8개 primer를 사용한 PCR을 통해서 관찰된 총 78개의 증폭산물중 단형성 증폭산물은 54개, 다형성 증폭산물은 24개로서, 다형성 증폭산물의 비율은 31%였다. 189개체에 대한 Shannon의 diversity index는 0.531로 타수종(0.267~0.509)에 비하여

비교적 높은 것으로 나타났다. 남한에서 한라산에서만 자라는 제한된 지역의 희귀 수종임에도 불구하고 유전적 다양성이 높은 이유는, 무성번식과 유성번식을 겸하고 있으며, 각 clump들이 서로 다른 genet으로 형성되어 있다는 사실에서 알 수 있듯이, 종자번식에 의해서 다양한 genet이 형성되었기 때문인 것으로 생각된다.

3) 시로미 집단의 공간적 유전 구조

Tanimoto distance를 이용한 공간적 자기상관성 분석을 실시한 결과, 조사지역 내의 시로미 집단은 10m 이내에서 유전적으로 유사한 군락(genetic patch)을 형성하였다. 2m 이내에서 연령별로 유사한 구조가 형성된 결과와 함께 추정해본다면, 10m 이내에 있는 clump들은 유전적으로 유사한 관계에 있고, 그 중에서도 거리가 2m 이내에 있는 clump들은 비슷한 시기에 형성된 것으로 생각된다. 개체간 거리 10~20m 구간에서는 임의분포를, 20~25m 구간에서는 유전적으로 이질성을 나타내었다. 시로미처럼 유, 무성 번식을 겸하는 식물의 공간적 유전구조에 대한 기존의 연구결과를 살펴보면, 초본식물인 도라지모시대의 경우에는 12m 이내에서 유전군락을 형성하였고, 관목성인 우묵사스레피와 복분자딸기의 경우에는 각각 24m와 20m 이내에서 유전적 공간 구조가 형성되어, 시로미의 유전적 군락이 비교적 작은 것으로 나타났다. 이는 시로미의 개체 크기가 작을 뿐 아니라, 조사지가 비교적 완만하여(4~6°) 조사구내에서의 중력에 의한 종자의 분산이 크지 않았기 때문인 것으로 생각된다.

유전자원보전 관점에서 제주도 시로미 집단의 현지의 유전자원보존을 위한 개체의 선정 시 개체목당 최소 20m 이상의 거리를 두고 선정해야 비교적 다양한 유전적 배경을 지닌 개체들이 포함될 수 있을 것으로 생각된다.

2. 국내 격리 잔존 들쭉나무 2개 집단의 유전변이

재료 및 방법

1) 조사지역 개황 및 재료

들쭉나무(*Vaccinium uliginosum* L.)는 고산성 수종으로 내몽고, 흑룡강, 길림, 요녕, 신강 등 중국 북부지역과 북한의 백두산, 금강산 및 강원도 이북의 해발고 800~2,600m 사이의 고산지대와 남한의 한라산과 설악산 정상 부근 등의 고산 또는 고원지대에 생육하며, 세계적으로는 일본, 유럽, 북미에 분포한다. 조사지는 한라산의 1,920m 지역과 설악산의 정상부 일대로서 두 지역 공히 토심이 낮고 암석이 많으며, 식물이 생육하기에 어려운 고산지대이다. DNA 추출을 위해서 한라산에서 30개체, 설악산에서 19개체로부터 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 곱게 마쇄한 뒤 NucleoSpin®Kit (MACHEREY -NAGEL, Germany)를 이용, total DNA를 추출하였다.

2) I-SSR 및 통계분석

I-SSR PCR은 5개 I-SSR primer(UBC- #815, 818, 844, 846, 873)를 사용해서 수행되었으며, 100bp DNA size marker (MBI Fermentas)를 기준으로 동일한 크기

인 증폭산물의 유무에 따라 '1'과 '0'으로 data를 입력하였다. 분석된 집단에서 I-SSR 변이체의 다양성을 추정하기 위해 Shannon's index를 구하였으며, Euclidean distance에 의해 계산된 유전적 거리를 기초로 AMOVA 분석을 실시하여 집단간 유전적 분화 정도를 계산하였다.

결과 및 고찰

분석에 사용된 5개의 I-SSR primer에서 총 68개의 증폭산물(13.6개/primer)이 관찰되었고, 한라산 집단에 속한 개체들에서 상대적으로 더 다양한 증폭산물 변이체가 관찰되었으며, 관찰된 68개 증폭산물 중 4개는 한라산 집단에서만 관찰되었고, 설악산 집단에서 관찰되지 않았다. 관찰된 68개 I-SSR 표지를 이용해서 Shannon의 다양성지수를 계산한 결과, 한라산 집단이 0.539, 설악산 집단이 0.401로서 타 수종(S.I.: 0.242~0.509, 소나무:0.450)에 비하여 비교적 높게 나타났다. 일반적으로 분포한계지에 위치하는 집단(peripheral population)은 분포 중심지에 비해서 유전변이가 적고, 지질시대의 환경변화(빙하기 및 후빙기)를 겪으면서 피난처로 이용되었던 집단은 병목현상이나 창시자 효과에 의해 유전변이가 줄어드는 것이 일반적이거나, 들쭉나무의 경우 다양한 유전변이를 보유하고 있는 것으로 나타나 기존의 결과들과는 차이를 나타냈다. 이는 빙하기 전후의 추운 환경에서 넓은 지역에 분포하고 있던 들쭉나무가 후빙기의 기온 상승으로 인해서 고산지대로 밀려날 때 주변에 분포하고 있던 다양한 유전적 배경을 지닌 개체들이 뒤섞여서 피난처로 이동한 것으로 추정된다. 즉, 현재 고산지대에 잔존된 피난처 생성 시 다양한 유전변이를 지닌 founder들이 오랜 시간동안 지속적으로 유입되었을 것으로 추정된다. 들쭉나무와 유사한 지사학적, 생태적 배경을 지닌 한라산에 잔존하고 있는 회귀수종 시로미 집단에 대한 동위효소분석 연구에서도 이와 유사한 결과가 보고된 바 있다.

AMOVA 결과 전체 유전변이 중 33.53%가 집단간 유전적 차이, 66.47%가 집단내 개체간 유전적 차이에 기인하는 것으로 나타났는데, 이는 다른 수종의 집단간 이질성(0.010~0.185, 소나무: 0.092)과 비교해 볼 때 매우 높은 수치이다. 이와 같이 격리 잔존집단에서 비교적 높은 유전적 다양성과 매우 높은 유전적 분화 현상이 관찰된 것은 이들 두 집단이 지리적으로 격리되어 있어서 유전자 교류가 불가능했던 점과 집단의 생성기원에 그 원인이 있을 것으로 생각된다. 설악산 들쭉나무 집단은 인근의 금강산 집단의 존재에 비추어 볼 때 빙하기의 추운 기후를 피해서 중국 집단으로부터 남하하여 금강산을 거쳐서 설악산 이남지역까지 분포하였다가 후빙기에 기온이 올라가서 생육적지를 교목성 낙엽활엽수와 침엽수에게 내어주고 설악산 정상부위로 밀려 올라가서 현재의 집단으로 잔존하게 된 것으로 추정된다. 이에 반해서 한라산 집단은 반도와 격리되어 있고 제주도의 지질 역사가 특이하므로 한라산 집단의 이주역사는 설악산 집단과는 별개의 과정을 거쳤을 것으로 추정된다. 김상부(2004)가 제주도 형성기원에 관하여 “제주도는 수십억에서 수억년전(선캠브리아~고생대)에 지구상에 존재하지 않았으나 수 천만년에서 7-8천 만년전(중생대말~신

제3기 마이오세)에는 아마도 한국 본토와 연결되어 있었을 것으로 추정된다. 마지막 빙하 최성기(2만~만오천년전)에 바닷물이 약 150m나 내려가 제주도를 포함하는 동중국해와 서해는 생물과 인간의 이동이 가능한 육지로 연결되어 있었으며, 그 당시 해안선은 제주도 동쪽에 위치하여 일본 오키나와와의 사이에 있었다”고 고찰한 바 있으며, 들쭉나무는 이후 빙하가 쇠퇴하여 수심이 현 수준에 도달해서(5천~6천년 전) 제주도가 섬의 형태로 반도로부터 분리되기 전에 중국으로부터 유래된 것으로 추정된다. 즉, 한라산 집단은 빙하기의 추운 기후를 피해 중국대륙보다 육지로 연결되어 있던 온난한 한반도의 서부지역(현재 서해 및 서해안 지역)을 따라 남하해서 제주도까지 전파된 다음, 후빙기의 온난한 기후 하에서 서해지역에 바닷물이 들어차서 현재의 제주도 해안선을 갖추게 되었을 때, 서부지역에 분포되었던 집단들은 바닷물에 잠겼거나 경쟁에서 도태되어 소멸되었으며, 제주도의 들쭉나무는 경쟁 수목들에 밀려서 한라산 정상부위까지 퇴각하여 현존하는 한라산 집단으로 잔존하게 되었을 것으로 추정할 수 있다. 따라서 본 연구에서 관찰된 동일종내 집단간에 관찰된 매우 높은 유전적 이질성은 이들이 유전적 배경이 매우 차이가 나는 별개의 모집단으로부터 유래되었으며, 빙하기 이후의 생육환경의 변화를 겪으면서 서로 독립적인 유전적 부동과정을 겪으면서 형성된 것으로 추정된다.

3. 설악산 눈잣나무 집단의 유전변이

재료 및 방법

1) 조사지역 개황 및 재료

눈잣나무(*Pinus pumila* Regel)는 *Pinus* 속의 *Cembrae* subsection에 속하며, 한국, 일본, 만주의 고산지대를 포함한 시베리아 동부 및 극동지역의 북쪽에 주로 분포하는 수종으로, 한국에서는 묘향산, 금강산, 설악산 등의 정상부에 불연속적인 집단으로 나타난다. 한국의 눈잣나무 집단 중 설악산 집단은 중청봉에서 대청봉 사이 능선의 양쪽에 위치하는데, 이는 남한에 존재하는 유일한 집단이며, 눈잣나무의 남방 분포한계지인 것으로 알려져 있다. 설악산 대청봉과 중청대피소 사이에 위치한 눈잣나무 집단에서 50개의 개체목을 선정하고 이들로부터 동아 혹은 유엽을 채취하였다.

2) 동위효소 및 통계분석

시료로부터 추출된 효소는 수평식 감자전분젤을 이용해서 전기영동을 실시하였다. 전기영동결과 선명하고 재현성 있는 band 표현형을 나타내는 10개 동위효소(AAT, GDH, IDH, LAP, MDH, NMR, 6PGD, PGI, PGM, SKDH)를 선정하여 집단 분석에 이용하였다. 각 유전자좌에서의 개체별 유전자형 빈도를 토대로 집단유전학 모수(A , P , H_o , H_e)를 구하였으며, 집단내 근친교배의 정도를 알아보기 위하여 Wright's fixation index를 구하였고, 각 다형적 유전자좌에서 F_{IS} 값의 유의성 여부는 χ^2 -test를 통해 실시하였다.

결과 및 고찰

분석된 10개 동위효소분석을 통해서 15개의 재현성 있는 유전자좌가 관찰되었으며, 이들 중 *IDH*, *LAP-1*, *MDH-1*, *6PGD*, *PGI-1*, *SKDH-1*의 6개 유전자좌에서는 변이가 발견되지 않았다. 나머지 9개의 다형적 유전자좌에서는 모두 22개의 대립유전자가 관찰되었는데, 대부분의 유전자좌에서 주대립유전자가 쉽게 구분되었으며, *AAT-1*과 *MDH-3* 유전자좌의 경우 주대립유전자의 비율이 0.95 이상이었다. 설악산 눈잣나무 집단의 유전변이량을 추정된 결과, $H_o=0.138$, $H_e=0.181$ 로 나타났다. 이는 바람에 의해 타가교배되는 침엽수종들로부터 구해진 유전다양성의 평균값과 대체로 유사한 수준이었으나($H_o=0.171$, $H_e=0.146$; Hamrick and Godt, 1989), 동일한 *Pinus* 속에 속하며 우리나라에 자생하는 주요 침엽수종인 소나무, 해송, 잣나무 집단으로부터 추정된 유전다양성의 평균값에 비해서는 상대적으로 낮은 값이다(소나무; $H_o=0.262$, $H_e=0.263$: 해송; $H_o=0.174$, $H_e=0.171$: 잣나무; $H_o=0.175$, $H_e=0.183$). 또한 설악산 눈잣나무에서 관찰된 유전변이량은 동일한 수종의 주 분포지로 알려진 러시아와 일본의 눈잣나무 집단에 비해서 매우 적은 것으로 나타났으며, 설악산 눈잣나무에 있어서는 다른 침엽수종들과는 달리 이형접합체 관찰치가 기대치 보다 훨씬 적은 것으로 나타나서 여타 침엽수종의 집단과는 다른 유전구조를 지니고 있는 것으로 나타났다.

눈잣나무의 경우 러시아 북동부와 극동지역 및 한국과 일본을 포함하는 대면적에 걸쳐 분포하며, 러시아 눈잣나무 집단과 일본 눈잣나무 집단의 동위효소 유전다양성을 비교했는데, 러시아 집단이 일본 집단보다 유전다양성이 다소 높았으며, 일본 집단 내에서도 북쪽에서 남쪽으로 갈수록 변이량이 급격히 줄어든다고 하였다. 설악산 눈잣나무 집단의 경우 동위효소의 분석 방법이나 분석된 효소의 종류 등에서 다소 차이가 있으나, 일본 최남단에 위치한 집단보다도 낮은 정도의 변이를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 이는 설악산 눈잣나무 집단이 남한에 유일한 집단이며, 일본 집단들과는 달리 타집단과 상당한 거리를 두고 고립되어 있음을 고려할 때 일반적인 예상과 부합되는 결과라 할 수 있다. 이러한 결과는 또한 눈잣나무가 빙하기에 유라시안 대륙의 극동 지역으로부터 한국과 일본으로 남하하였다는 기존의 가설에 부합되는 것이기도 하다.

한편 분석된 9개 다형적 유전자좌에서 관찰된 유전자형의 빈도와 H-W평형빈도와의 일치여부를 검정한 결과, *AAT-2*, *GDH*, *MNR*의 3개 유전자좌에서 통계적으로 유의하게 동형접합체의 빈도가 H-W 평형빈도에 비해 많은 것으로 나타났다($p<0.05$). 또한 집단 내 고정 계수(F_{IS}) 값은 9개 다형적 유전자좌에서 각각 -0.197에서 0.851의 범위였으며, 그 평균값은 0.205였다. 이는 집단 내에 존재하는 이형접합체의 빈도가 H-W평형상태에서의 기대치보다 20.5% 가량 부족하다는 것을 의미하며, 국내에서 보고된 소나무, 해송, 잣나무 집단 등에서 추정된 고정계수 값에 비해 상당히 높은 것으로 나타났다.

이와 같이 집단 내에서 동형접합체가 H-W 평형빈도에 비해서 높게 나타나는

현상을 설명하기 위하여 일반적으로 우선시되는 요인은 분포지의 극단적인 환경변화로 인한 집단의 감소가 초래한 유전자부동과 근친교배에 의한 동형접합체의 증가 및 다수의 임의교배 아집단으로부터 선택된 시료를 이용해서 집단분석을 수행할 경우 종종 관찰되는 Wahlund effect에 의한 이형접합체 기대치의 과대평가에 의한 결과 등이다. 일반적으로 분포한계지에 위치하는 집단(peripheral population)은 분포 중심지에 비해서 유전변이가 적는데, 지질시대의 환경변화(빙하기 및 후빙기)를 겪으면서 피난처로 이용되었던 집단은 병목현상이나 창시자 효과에 의해 개체수가 감소하여 집단의 확장과정에서 필연적으로 근친교배가 초래된다. 또한, 임목은 한 자리에 고정되어 일생을 지내기 때문에 이동하면서 배우자를 만나 교배하는 동물이나 곤충과는 달리 이웃하고 있는 개체들과 보다 빈번하게 교배가 이루어진다. 교배의 결과로서 생겨난 차대들은 모수의 주변에 발아해서 생육할 확률이 가장 높고, 따라서 이웃하고 있는 개체 중에는 유전적으로 근연관계에 있는 개체들이 다수 존재하게 될 것이다. 이들 근연관계에 있는 개체간의 교배를 근친교배라고 하는데 자웅동주 임목의 경우 동물과는 달리 자가교배도 일어나기 때문에 근친교배의 확률은 더욱 증대되며, 근친교배의 결과 집단내에서 동형접합체 빈도가 증가하게 된다. 임목 집단을 대상으로 공간적 유전구조를 분석한 결과, 임목집단내에 개체 간에 유전적 유사성이 인정되는 소면적의 유전군락(genetic patch)이 다수 존재하는 것이 확인되어, 이들 유전군락내의 개체 간에 근친교배가 일어날 가능성이 있을 것으로 추정된다. 또한 소나무 자연림을 대상으로 교배양식을 구명한 결과, 실제로 교배에 기여한 유효화분친의 수가 1.14개로 나타나 자연상태에서 인접하고 있는 화분수와의 매우 제한된 교배가 이루어지고 있음이 보고된 바 있다. 설악산 눈잣나무 집단의 경우, 눈잣나무의 수고가 1m 내외로 낮고 진달래과의 활엽수들과 혼효되어 관목림의 형태를 이루고 있다. 눈잣나무 서식지 사이사이에 분포하고 있는 활엽수들이 차단막의 역할을 해서 자유로운 화분의 비산이 이루어지지 않을 가능성이 높다. 따라서 눈잣나무의 교배는 제한된 구역 내에서 이웃하는 개체들 간에 주로 이루어지며, 유전군락내의 개체 간에 임의교배가 이루어지더라도 그들이 유전적으로 근연관계에 있는 개체들이기 때문에 자연적으로 발생하는 근친교배의 영향을 배제할 수는 없을 것이다.

설악산 눈잣나무 집단의 경우 이처럼 유전적으로 유사한 개체들로 이루어진 여러 개의 유전군락들로 전체 집단이 구성되어질 것이며, 이 경우 유전군락들은 집단을 구성하는 임의교배 아집단과 동일시 할 수 있을 것이다. 각 아집단내의 개체 간에는 임의교배가 이루어지더라도 상호간에 생식적으로 격리되어 있는 아집단들로부터 시료를 채취하여 집단을 분석할 경우에는 Wahlund effect에 의해서 이형접합체 기대치가 증가하는 결과를 초래하며, 상대적으로 이형접합체 관찰치와의 편차를 증대시켜서 분석된 집단에 대한 이형접합체 결핍현상이 두드러지게 나타나게 된다. 이 경우 각 아집단간에 대립유전자 빈도가 차이가 나는 유전자좌들에서는 각 아집단에서 채취된 개체들을 대상으로 집단분석을 수행하게 되면 이형접합체 기대치의

과대평가를 초래해서 F_{IS} 값이 유사한 경향을 보일 수도 있다. 그러나 각 아집단내에서 대립유전자의 빈도에 차이가 없는 유전자좌의 경우 이형접합체 기대치의 과대평가를 초래하지 않는다. 따라서 분석된 설악산 눈잣나무 집단의 경우에는 *AAT-1*, *MDH-2*, *MDH-3* 등 3개 유전자좌에서 H-W 평형빈도에 부합되는 이형접합빈도를 나타낸 것은 각 아집단내에서 이들 유전자좌에 대한 각 대립유전자의 빈도가 비슷한 수준으로 존재했기 때문인 것으로 추정된다. 위와 같은 가설을 토대로 볼 때 설악산 눈잣나무 집단에서 관찰된 이형접합체 결핍현상은 각 유전군락내에서의 근친교배와 이들로부터 선택된 개체를 대상으로 집단분석을 수행한 결과로서 생겨난 Wahlund effect의 복합적인 요인이 작용한 것으로 생각된다.