

소나무류 육종에 있어 임의 증폭 다형 디엔에이 (RAPD) 지표를 이용한 우량 임목의 조기 선발 *

이재선¹⁾ · 정은주²⁾ · 문홍규³⁾ · 글렌 데일⁴⁾ · 로버트 티즈데일⁴⁾

Application of RAPD Markers to Early Selection of Elite Individuals of *Pinus* Species for a Clonal Forest Tree Breeding Program *

Jae-Seon Yi¹⁾, Eun-Ju Cheong²⁾, Heung-Kyu Moon³⁾,
Glenn T. Dale⁴⁾, Robert D. Teasdale⁴⁾

要 約

지표-형질의 상관은 우량 개체 선발과 유전획득량의 증대를 위해 임목 육종에서 해결되어야 할 중요한 과제 중의 하나로 최근 분자유전학적 수준에서의 임의 증폭 다형 디엔에이 (RAPD) 기술의 발달로 이의 해결이 눈 앞에 다가왔다. 호주 퀸즈랜드산림청과 퀸즈랜드대 임목생물공학연구소가 공동 연구하고 있는 슬래쉬소나무, 카리비아소나무 및 그 교잡종에 있어 이 기술을 이용한 수피 두께에 대한 연구 및 육종 계획 전략을 소개한다. 1대 잡종에서 186개의 지표를 포함한 총 길이 1641cM의 16개 연관군의 유전적 지도가 작성되었고, 이 연관군 지도에 수피 두께를 지배하는 6개의 유전자좌가 추정되었다. 또한, 유전적 지표를 이용한 조기 선발을 위해 먼저 중요 형질을 지배하는 유전자들에 대한 종 특성 유전적 지표를 결정하고, 다음 여러가지 대립유전자형에 대한 지표-대립유전자 상관을 구명하는 2단계 전략이 제시되었다. 소나무류는 발아시 양료로 쓰이는 자성배우체는 모수에서 유래하나, 접합자인 배는 양친수로부터 유래하므로 이러한 이질적 유전 조성을 갖은 종자의 발달을 이용한 RAPD 지표와 형질의 상관 연구는 배 단계에서도 우량 개체의 선발을 가능하게 하여 소나무류 육종의 장래를 밝게 하고 있다.

* 본 총설은 한국과학재단(KOSEF) 과 호주과학원(AAS)의 한호 과학자 교류 협정에 의하여 연구 책임자가 1993. 12. 17. - 1994. 2. 15. 호주 퀸즈랜드대학교 임목생물공학연구소(ForBio Research Pty Ltd, University of Queensland)에서 수행한 연구 결과의 일부를 수정 보완한 것임.

- 1) 강원대학교 임과대학; College of Forestry, Kangwon National University, Chunchon, Korea
- 2) 강원대학교 대학원; Graduate School, Kangwon National University, Chunchon, Korea
- 3) 산림청 임목육종연구소; Institute of Forest Genetics, Office of Forest Administration, Suwon, Korea
- 4) 호주 퀸즈랜드대학교 임목생물공학 연구소; ForBio Research Pty Ltd, 50 Meiers Rd., Indooroopilly, Brisbane, Qld., Australia

ABSTRACT

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technology, a recent approach in molecular genetics, is much usable to select the elite trees and to maximize the genetic gain in forest tree breeding program, providing a clue to determine the genetic marker-trait correlation. This review introduces research on bark thickness and breeding strategy in *Pinus elliottii*, *Pinus caribaea* and their hybrid by Queensland Forest Service and ForBio Research Pty Ltd, University of Queensland, which employ RAPD technology. Genetic linkage map of F₁ hybrids includes 186 RAPD markers and 16 linkage groups (1641 cM long in total) and 6 quantitative trait loci are located putatively for bark thickness. Following recent research results and experiences in pine breeding programs, the foreseeable stages in the application and development are proposed for marker assisted selection; stage 1 - determination of species specific markers for genes controlling traits of commercial interest, and stage 2 - determination of marker-allele association for specific allelic variants within pure species. As pines inherit their megagametophytes from the seed parent and zygotic embryos from both male and female parents, the determination of marker-trait correlation is possible even in embryo stage, eventually making ways for the early selection of elite individuals.

Key words: RAPD marker, marker-trait correlation, early selection, breeding strategy, genetic map, quantitative trait locus, pines

I. 유전적 지표와 이를 이용한 임목 선발의 배경

1.1. 연구의 배경

영양계를 이용하는 임목 육종 사업에 있어 그 효과를 극대화하려면 조기 선발 기술이 필수적이다. 조기 선발 기술이 개발되면 개선된 임목으로 숲을 조성할 수 있으므로 유전획득량을 신속히 직접적으로 증가시킬 수 있다. 실질적인 면에서, 효과적 조기 선발은 모수와 관련된 여러 문제 중 특히 노령화에 의한 삼목의 저조한 발근율을 극복할 수 있는 좋은 방법이다. 조기 선발을 위한 많은 유목-성숙목 간의 생리적 지표가 연구되어 왔으나, 이러한 생리적 지표 중 대부분의 생리 현상은 환경의 영향을 배제할 수 없으며 유전자형과 환경과의 상호작용의 결과라는 지적을 면할 수 없게 된다 (Moon, 1993). 분자유전학적 지표는 개체 유전자형을 직접 조사할 수 있는 방법이다. 이

지표를 이용하여 유전자형의 본체를 조사할 수도 있으며, 유전자형과 환경과의 상호 작용이 구명될 수 있는 길을 열어 놓으므로써 이러한 상호 작용의 조절 방안을 연구할 대책의 수립도 가능하다. 더욱 중요한 것은 분자 유전학적 지표를 이용하면 생리적 지표를 이용할 때보다 훨씬 앞서서 조기 선발이 가능하다는 것이다. 치묘 단계 심지어는 배 상태의 수준에도 그 적용이 가능할 수 있다. 궁극적으로 분자 수준의 지표를 이용하면 전통적인 포장 실험을 거치지 않고도 영양계 번식을 목적으로 한 임목의 선발에 있어 보다 많은 수의 식물체의 검사가 가능하며, 단기간에 조기 선발의 효과를 극대화할 수 있다.

임목의 유전 변이가 임목 육종가와 유전학자의 주요 관심사인 이유는, 1) 수종의 식별, 2) 바람직한 형질을 가진 개체의 선발 및 3) 유전 획득량과 집단 유전학의 가설 검정에 변이 연구가 필수적이기 때문이다. 이러한 이유로 영

양기관과 생식기관의 기관 또는 조직 수준에 있어 형태적 차이에 의한 변이 연구가 많이 수행되어 왔으나, 이러한 형질은 다수의 유전자에 의하여 지배되며 또한 환경의 영향을 심히 받으므로 유연종 간의 식별은 물론 종내의 영양기관의 차이를 밝히는데도 극히 불충분한 점이 많이 지적되어 왔다. 자연 교잡과 이입교잡은 이러한 연구를 더욱 곤란하게 하며 그 결과의 신뢰도를 떨어뜨리고 있다. 또한, 이러한 특징의 대부분은 흔히 집단 유전학적 모델을 따르지 않기 때문에 분석 또한 용이하지 않다.

이러한 형태적 변이 연구의 문제점을 극복하기 위하여 최근까지 소나무류에 있어 유전 물질(DNA)의 최종 산물인 단백질(효소) 수준의 연구로 동위 효소 연구법이 주로 이용되어 왔다 (Son et al., 1989; Kim et al., 1993). 이 방법은 많은 수종에 적용되어 왔으며, 수종의 구별, 교잡 구명, 지리적 변이 등 여러 결과를 얻는데 기여하여 왔다 (Ayala, 1983; Hyun et al., 1987; Rajora, 1990).

DNA 수준에서의 연구는 제한 효소를 이용한 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 지도 작성이 시도되어 식물의 유전적 다양성을 검사하고 분석하는데에 이용되어 왔다 (Beckman and Soller, 1986; Devey et al., 1991; Lee et al., 1994). 이 두 방법의 근본적 차이는 동위 효소 분석법은 유전 물질의 산물인 단백질을 이용한다는 것이고, RFLP 방법은 단백질을 만들든 아니든 기본적인 유전 물질을 이용한다는 것이다. 두 방법에 의한 연구 결과가 일치하는 경우도 있고 (Chase et al., 1991; Messmer et al., 1991), 그렇지 않은 경우도 있다 (Clegg, 1989).

최근 DNA의 중합 반응 polymerase chain reaction (PCR)에 의하여 '임의로 증폭되는 여러 형태의 디엔에이' (저자는 이를 '임의 증폭 다형 디엔에이 (RAPD)'라 부르기로 함)를 지표로 이용한 방법이 이용되고 있다 (Williams

et al., 1990; Taylor, 1991; Liu and Furnier, 1993). 이는 약 10 개 정도의 뉴클리오타이드의 프라이머로 PCR에 의하여 임의의 DNA가 증폭된 후 그것을 전기영동과 밴드 분석 프로그램에 의하여 조사하는 방법이다. 따라서 사용된 프라이머의 염기 배열과 주형 template의 DNA 나선 구조에 따라 상이한 DNA 나선이 상이한 개체에서 증폭되어, 결과적으로 계놈의 특징적인 DNA 지문이 남게 된다. 이러한 DNA 지문의 높은 변이가 임목에서 보고되어 개체는 물론 종의 식별에 활용되어 지고 있다 (Adams and Demeke, 1993; Marsolais, 1993).

위의 셋을 비교하여 보면, 여러 면에서 동위 효소가 매우 바람직한 것으로 생각된다. 그들은 마치 공우성 인자codominant 처럼 행동하며, 비교적 경비가 적게 들고 낮은 기술 능력으로 판별과 해석이 가능하다. 그러나 상세한 유전적 분석을 위하여는 여러면에서 한계를 갖고 있다. RFLP는 공우성 유전 인자의 양식을 따르지만, 경비와 시간적 면에서 매우 불리하다. RAPD는 RFLP보다 적은 시간과 노력으로 가능하나, 때로 RAPD 지표는 우성 인자처럼 작용하므로 유전 정보의 손실이 있을 수도 있다. 그러나 이를 극복할 수 있는 특별한 분석법이 보고된 바 있다 (Tulsieram et al., 1992; Dale et al., 1993). 소나무류와 같이 계놈의 본질과 조성에 대한 정보가 거의 없는 수종에 있어서는 RAPD 기법은 기본적인 유전 정보를 얻을 수 있는 매우 이상적인 방법이다. 더욱이, RAPD 기법은 수 많은 유전 지표를 가진 소나무류의 계놈을 충분히 조사할 수 있으며, 이러한 조사 작업을 자동화하기에 적합한 기법이다 (Rafalski and Tingey, 1993).

본 총설에서는 유전적 지표 중 RAPD 지표 이용의 배경을 살펴보고, 퀴즈랜드산림청과 임목생물공학연구소가 함께 연구하고 있는 슬래쉬소나무와 카리비아소나무 교잡종에서 수피

두개의 사례를 이해한 후, 이 두 기관의 RAPD 지표를 이용한 임목의 장기 육종 전략을 소개 하므로써 이러한 전략의 다른 소나무류에 대한 적용 가능성을 제시하고자 한다.

1.2. 임의 증폭 다형 DNA의 원리

RAPD 지표는 각 유전자좌에 상응하는 DNA 절편의 증폭을 위해 PCR을 이용한다. PCR 과정에서는 개체의 전 DNA(즉 게놈)가 주형으로 이용되며 다음에 열거되는 것과 같은 물질과 섞이어 임의의 유전자(즉, DNA 조각)가 증폭된다.

1) 프라이머 primer : 대략 10개 정도의 염기

가 결합된 단선 DNA 조각

2) dNTP (Deoxynucleotide triphosphate mix) : DNA 분자의 골격을 이루는 4개의 염기 (Adenine, Thymine, Guanine, 및 Cytosine), 5탄당과 인산기의 결합체 집합

3) Taq polymerase : 고온에서도 안정된 효소로 주형 DNA에 프라이머가 결합되면 주형에 보상적으로 새로운 DNA 나선이 생성되도록 용액의 dNTP에 작용한다.

임의의 유전자 조각은 35-50회에 걸쳐 반복된 반응에 의해 증폭되는데 반복되는 과정은 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

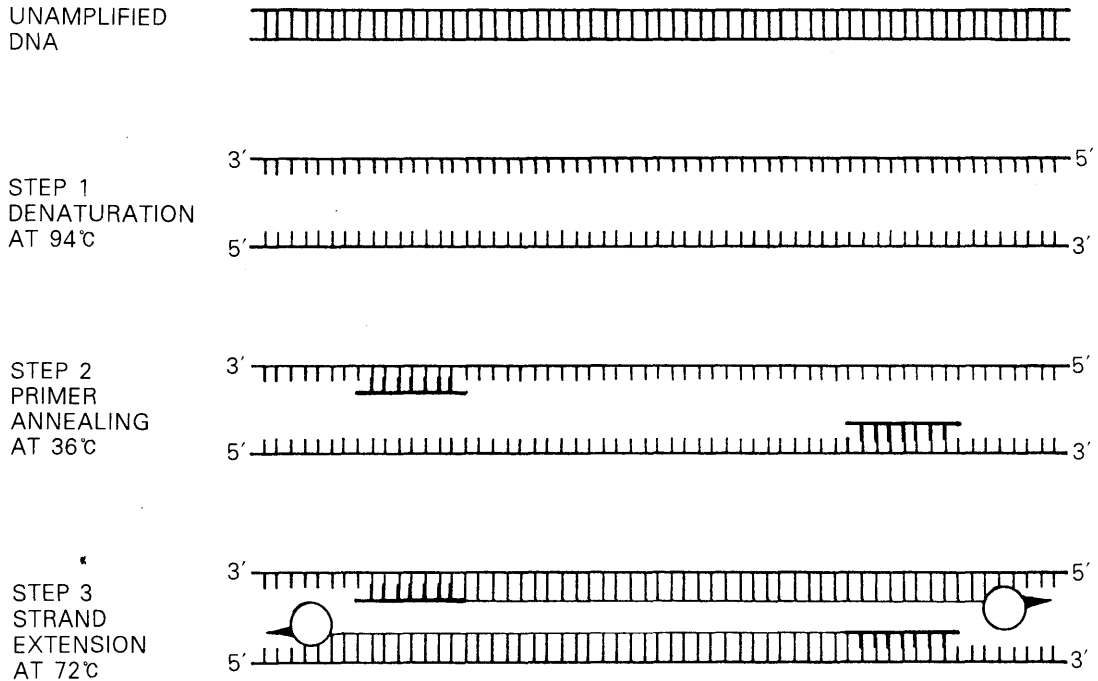


Fig. 1. In the polymerase chain reaction, repeated thermal cycling through a process of template DNA denaturation, primer annealing and strand extension will give rise to detectable amplification of short DNA fragments between two closely juxtapositioned primer binding sites. Above, the DNA template is denatured into two strands in step 1, primers are indicated as the bold fragments in step 2, and the enzyme Taq polymerase is indicated as the circle in step 3.

- 1) 94°C에서 단선 DNA의 형성 (denaturation) : DNA의 이중나선 구조의 수소 결합이 와해되어 2개의 단선 DNA를 형성한다.
- 2) 37°C에서 프라이머의 결합 유도 : 이 온도에서 각 프라이머는 그 배열과 보상되는 단선 DNA에 결합한다. 대체로 한 종류의 프라이머가 하나의 RAPD 반응에 이용된다.
- 3) 72°C에서 프라이머의 확장 반응 : Taq polymerase가 최고의 효율성을 갖는 온도로, 프라이머들이 보상적 염기 배열에 결합된 곳에서부터 시작하여 새로운 염기 배열이 완성된다.

하나의 프라이머가 DNA 주형의 보상 배열 상에서 300-3000 염기 쌍 정도 떨어져 있는 두 곳에 결합한다면, 합성되는 각 DNA 단선은 매 주기마다 프라이머의 새로운 착지점을 제공할 것이다. 이로 인하여 PCR 반응에서 나타나는 DNA 조각은 지수함수적으로 증가하게 된다.

다. 가령 50주기에 걸쳐 PCR 반응이 진행된다면, 이중나선의 어떤 DNA 조각은 $2^{50}=1.1 \times 10^{15}$ 개로 늘어날 것이다. 그러나, 이러한 수준의 증폭은 농도 및 기타 이유 등으로 실제로는 나타나지 않지만, 연구를 위한 자료를 제공하기에는 충분한 반응이 일어난다. 프라이머가 착지하는 두 개의 인접한 착지점 중의 하나에서 DNA 배열 변화가 일어나면, 그곳에 프라이머가 결합하는 것이 방해받게 되어 선형 합수적 증가가 있게 된다 ($1^{50}=50$ 개의 새 DNA). 이러한 증폭은 감지되지 않는다.

따라서 RAPD 기법으로 여러가지의 불연속적인 크기의 DNA가 증폭되므로써 개체 간의 DNA 다형 현상을 조사할 수 있으며, 동일한 조건 하에서 그러한 산물의 존재 여부를 검사할 수 있다. 증폭된 DNA는 전기영동에서 분리, 에쏘디움 브로마이드(ethidium bromide) (DNA에 결합함)로 염색하여 UV광에서 검사하게 된다 (Fig. 2).

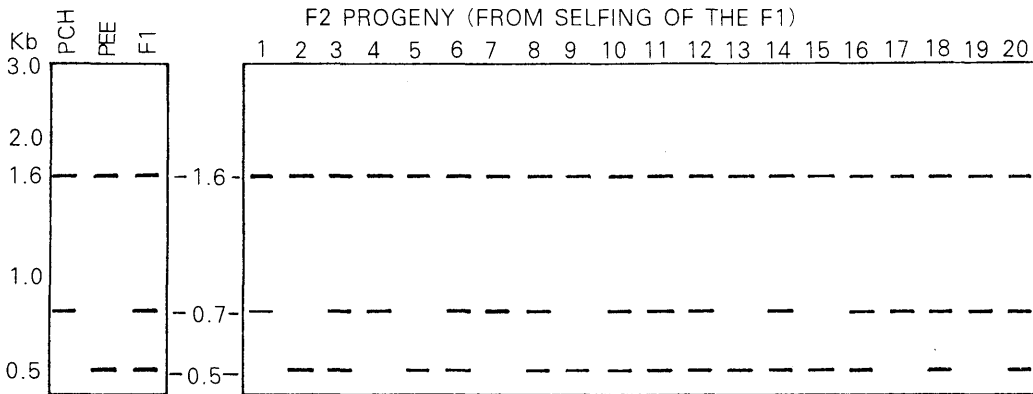


Fig. 2. Diagrammatic representation of RAPD markers separated by gel electrophoresis. The presence of band indicates one DNA sequence form; its absence indicates the alternative form. The 0.7 kb band is inherited in the F1 from *P. caribaea* (PCH), while the 0.5kb band is inherited from *P. elliottii*(PEE). As the F1 is heterozygous for each of these markers, they both segregate in the F2 generation(selfed progeny of the F1). Both these markers thus provide reference points in the genome of value for genetic mapping. The 1.6kb band occurs in both PCH and PEE, and must be homozygous in the F1 since it fails to segregate in the F2 generation. This indicates no sequence difference between the parents at this specific locus, and as such, this marker is not informative for genetic mapping.

RAPD 밴드의 강도는 증폭되어지는 주형 DNA의 수와는 대체로 무관하다. 따라서 한 쌍의 특정 상동염색체 각각에 특별히 증폭되는 부분을 가진 동형접합체는 상동염색체 쌍의 한 쪽에만 증폭되는 부분을 가진 이형접합체와 구별이 불가능하다. 그러나, 증폭 인자를 가진 이형접합체나 동형접합체 모두는 증폭 인자를 가지지 않은 개체와는 구별된다. 이러한 이유로 RAPD 지표는 우성 유전자와 같은 표현 양식을 따르며 '우성적'이라 불리운다. 이는 Fig. 2에서 RAPD 지표가 3:1의 분리비를 보이는 것으로 알 수 있다.

1.3. 소나무류에 있어서 유전적 지도 작성의 원리

RAPD 지표의 우성 유전자와 같은 행동 양식은 소나무류가 독특한 종자 발달 과정을 가지므로 문제가 되지 않는다. 배를 둘러싼 자성배우체는 유전적으로 균질인 반수체 조직이다. 그것은 하나의 대포자 모세포에서 감수분열에 의해 얻어진 4개의 반수체 대포자 중의 하나로부터 출발한다. 세개는 퇴화하고 하나만이 체세포 등분열을 거듭하여 자성배우체가 형성되는 것이다. 소나무류에 있어서는 하나의 성숙한 자성배우체로부터 적어도 500회의 RAPD 반응이 가능한 1 μ g의 DNA를 얻을 수 있다.

유전 지표들은 개체 내의 상동염색체 간 다형현상을 보여 준다. 그러나, 각 지표를 하나 하나 떼어서는 계통 상의 그 지표의 위치나 다른 지표와의 관계에 대한 정보를 얻을 수 없다. 이러한 이유로 동일 염색체 상에 위치하는 여러 지표들을 몇 군으로 묶고 그 군내에서 각 지표의 상대적 위치를 결정하는 유전적 지도 작성이 필요하게 된다.

유전적 지도 작성은 대상 개체의 차대에 있어 지표의 분리 양상을 조사하여 작성한다. 이

의 개략적 설명은 Fig. 3과 Fig. 4에 있다. 지표간의 유전적 조환은 각 지표들이 서로 얼마나 가까이 있는가를 알려준다. 연관된 지표들간의 감수분열을 통한 조환 가능성은 지표간의 거리가 멀수록 증가한다. 따라서 어떤 지표들이 대상 개체 차대에서 함께 분리하는 횟수가 많으면 많을수록, 그들은 동일 염색체 상에 비교적 가까이 있을 가능성이 높다. 거꾸로 말하면, 50%의 조환가는 두 지표가 떨어지지 않고 함께 분리될 가능성과 두 지표가 나누어져 분리될 가능성이 같다는 것으로, 그러한 지표가 서로 연관되어 있지 않은 것이 추이적으로 증명되면, 그들은 서로 다른 별개의 염색체 상에 있음을 나타낸다. 많은 수의 차대에 있어 (보통 60-100의 차대가 지도 작성에 이용됨) 지표들의 분리 양식을 알아내므로써, 지표들의 동시 분리 또는 조환 빈도에 기초하여 그들간의 염색체 상의 상대 거리를 정하고 순서를 정하는 것이 가능하다.

1.4. 가계 분석에 의한 유전적 지표와 양적 형질의 상관 관계 구명

형질과 유전적 지도 상 지표 간의 상관 연구는 농작물에 있어서는 보통 3대에 걸쳐 인공 교배 가계를 형성하고 그들의 형질을 분석하여 실시한다. 이러한 설계는 근연교배 또는 자가 수정을 필요로 하고, 이로 인해 형질이 분리하는 두 상이한 개체의 교잡을 포함한다. 교잡에 의해 얻어진 이형접합체의 F1은 자식되거나, F1끼리 교배되거나, 여교잡되거나 또는 임의의 품매 교배가 이루어져 형질이 분리하는 F2 집단이 조성된다. 이와같은 유전적 지도 작성과 형질의 상관에 관한 이상적인 가계 분석법은 상세하게 보고된 바 있다 (Williams and Neale, 1992).

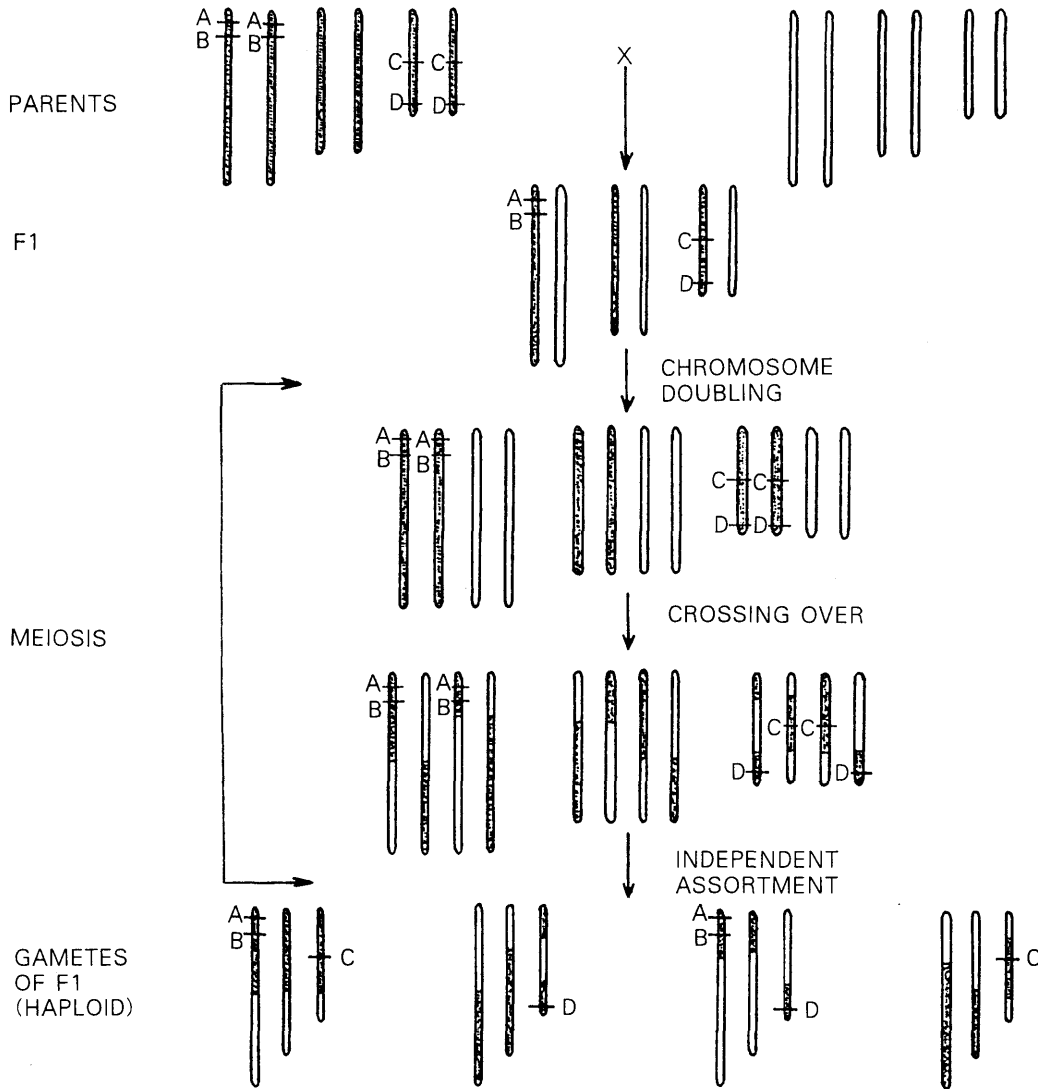


Fig. 3. The concept of marker segregation. Polymorphisms between parent 1 (dark chromosomes) and parent 2 (clear chromosomes) are identified by markers A, B, C and D. A cross between parents 1 and 2 will produce an F1 hybrid heterozygous for each of the markers. Through meiosis, recombination will occur between homologous chromosomes. With increasing physical distance between markers, the probability of recombination between them will also increase. Hence closely linked markers A and B remain together following meiosis, while more distantly separated markers C and D have been separated by recombination.

특정 가계의 특징이 다음 세대에 즉시 나타나는 농작물과 달리 임목은 이를 위해 기간이

긴 세대가 여러 세대 필요한 것이 보통이다. 대부분의 임목 육종 계획에는 차대간의 형질

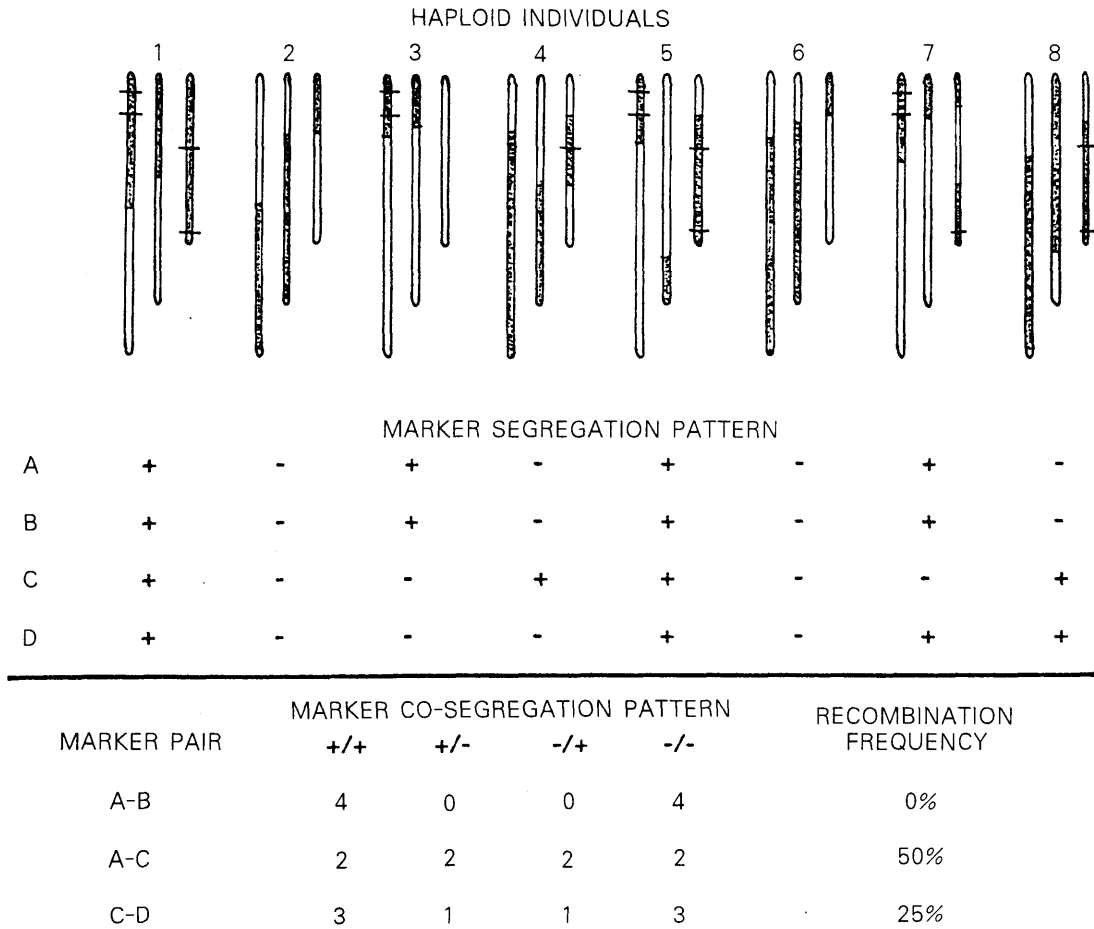


Fig. 4. Diagrammatic representation of the pattern of marker segregation in haploid megagametophytes. The dark segments represent that part of the chromosome inherited from one parent, and the clear segments, that part inherited from the other parent. The junction between dark and light segments indicated the point of meiotic recombination between the two parental chromosomes. Markers A and B are physically located closer to each other than markers C and D. This is reflected in the recombination frequencies (0% for A and B, 25% for C and D), which provides a measure of the relative separation of these two marker pairs. More precise measures of marker separation are provided by larger numbers of individuals (typically 60 to 100). Markers A and C are physically unlinked, residing on different chromosomes. Hence their chance of occurring together in the same individual is equal to them occurring individually. This is reflected by a recombination frequency of 50% between these two markers.

분리를 감소시키고자 수형목 간의 교배가 포함된다. 이것이 유전적 지도 작성에 적합한 가계 교배 분석법이 아니지만, 소나무류의 종자 형

성이 특이하므로 이러한 가계 분석법을 이용하는 것이 소나무류에서는 가능하다. 가령, 라디아타소나무에서 반형매 가계를 이용하여 목재

비중에 관한 유전적 지도 작성이 진행되고 있는 임목생물공학연구소 경우나 테다소나무에서 처럼 동일 형질에 대해 3세대의 이계교배된 가계 분석을 통해 유전적 지도를 작성한 경우이다(Williams and Neale, 1992).

다른 많은 임목 육종 계획에 비하여 슬래쉬소나무와 카리비아소나무의 1대 잡종과 2대 잡종은 여러가지 형질과 유전적 지표의 상관관계 연구에 좋은 자료를 제공하고 있다. 이들 잡종에서는 양친수의 각각에 특이하게 나타난 모든 형질이 1대 잡종에서는 이형접합체의 상태로 있다가 2대 잡종에서 여러 형태의 형질 분리를 보인다. 따라서, 하나의 가계 분석에서 여러 형질과 유전적 지표와의 상관성이 구명될 수 있는 가능성이 매우 높으며, 각 대상 지표의 분리를 위한 특별한 가계 분석법의 개발 없이도 가능한 큰 장점을 갖고 있다.

재적, 수고 및 목재 비중과 같이 연속적 변이를 보이는 양적 형질 유전의 기초는 이러한 형질이 다수의 유전자의 지배를 받는다는 점이다. 이들 유전자 각각은 단순한 멘델 유전 양식으로 독립적으로 분리한다 (Paterson et al., 1988). 이와같이 양적 형질에 영향을 미치는 각 유전자들은 양적 형질 유전자좌(quantitative trait locus (QTL)로 알려져 있다.

한 유전자의 다형 현상 발현, 즉 하나의 유전자가 개체에 따라 약간 다른 형태로 작용한다는 것은 유전자의 어떤 형은 형질의 평균에 대해서 볼 때 긍정적인 영향을 주는 반면, 다른 형은 부정적인 영향을 준다는 것을 의미한다. 양적 형질은 잡종의 형질 분리에서 나타나는 것처럼 독립적으로 분리하는 많은 유전자의 영향을 받으므로, 어떤 개체도 한 형질에 대해 긍정적인 인자들과 부정적인 인자들을 함께 보유하고 있다고 볼 수 있다. 따라서, 어떤 형질에 대해 가장 바람직한 표현형 (예, 최고의 목재 밀도)을 보이는 개체는 이 형질에 관여하는

유전자의 대부분이 긍정적 영향을 주는 것들이라고 할 수 있다 (deVincente et al., 1993). 이런 점이 바로 지표에 의한 선발을 가능하게 하는 기본이다. 대상 형질에 긍정적으로 작용하는 각 유전자들의 형태에 연관된 지표들을 찾아내므로써 바람직한 대립유전자 또는 유전자 형태를 가장 많이 가진 개체를 선발하는 것이 가능하다는 것이다. 그 유전자형이 밝혀짐으로써 그러한 개체는 우수 표현형으로 확실하게 인정받을 수 있다.

II. 양적 형질 유전자좌(QTL)의 연관군 지도 작성 (슬래쉬소나무와 카리비아소나무의 1대 잡종에 있어 수피 두께의 사례)

2.1. 1대 잡종의 유전적 연관군 지도 작성

슬래쉬소나무와 카리비아소나무는 수피 두께에 있어 큰 차를 보인다. 1대 잡종은 양친의 중간 정도의 두께를 보이며, 2대 잡종에 있어서는 넓은 분리비를 보인다. 따라서 수피의 두께는 양적 형질을 멘델의 법칙에 따르는 구성인자로 나눌 수 있는 아주 적절한 표본 형질로 생각된다. 지표-형질의 상관성을 적절히 구명하자면 보통 3단계의 작업이 필요하다 (Williams and Neale, 1992).

- 1) 대상 가계에 대한 완전한 유전적 지도의 작성
- 2) 지표-QTL 관계 및 QTL 유전자의 행동 양식 구명
- 3) 지표에 기초한 선발에 있어 선발 반응의 입증

1)과 2)의 단계에 대한 실험적 과정 및 결과가 본 총설에 제시될 것이다. 3)은 지표-QTL 관계를 구명하기 위해 부가적 집단을 필요로 한다. 현재로 그러한 집단을 발견할 수 없지

만, 지금까지 얻어진 결과를 실증하기 위한 대리 방안이 연구 중에 있다.

2.1.1. 재료와 방법

지표와 형질과의 상관 구명 연구 및 연관군 지도 작성을 위해 선택된 가계는 슬래쉬소나무 E1-23과 카리비아소나무의 CH6-29이다. 이들로 부터 얻어진 1대 잡종 개체중 하나인 EH4는 자식에 의하여 2대 잡종을 생산하였고 그 중 Beerwah에 23개체와 Tuan에 32개체 총 55개체를 1987년에 조립하였다. EH4에서 자연수분되어 결실한 92개 종자의 반수체 자성배우체가 다형 지표의 분리 연구를 위한 자료로 이용되며 이로부터 이 개체에 대한 유전적 지도가 작성되었다.

E1-23, CH6-29 및 EH4의 침엽으로부터 DNA가 또한 추출된다. 이렇게 추출된 DNA는 520개의 RAPD 프라이머를 사용하여 DNA 다형의 수와 질을 결정하는데 이용된다. 다형 현상중 유용한 형태는 1대 잡종에서도 나타나며 그들 양친 중의 하나에서만 나타나는 RAPD 밴드이다. 그러한 밴드들은 1대 잡종에서 이형접합자적 유전자좌임에 분명하며, 선발이나 도태가 작용하지 않는다면 1대 잡종에서 얻어진 반수체 차대에서는 1:1의 비율로 분리하고, 1대 잡종의 자가수정에 의하여 얻어진 2배체 차대에서는 3:1의 비로 분리할 것이다. 더우기 그러한 밴드들은 증폭된 대립유전자가 어떤 종(양친)으로부터 1대 잡종에 전달되었는지 정보를 제공하여 줄 것이다.

EH4로부터 자연수분에 의해 얻어진 92개 종자의 자성배우체는 가장 좋은 성과를 보이는 98개 RAPD 프라이머에 의하여 EH4에서 여러 형태로 분리하는 지표의 검사를 위한 자료로 활용된다. 이것은 총 9016개의 RAPD 분석을 의미한다. 각각의 다형 분리 밴드는 그것을 생성한 프라이머, 킬로베이스 단위의 밴드의 크기 및 밴드가 유래된 양친에 따라 분류된다.

Mackintosh Mapmaker 유전자 지도 프로그램 (Proctor et al., 1992)에 의해 간단한 2점 분석법이 먼저 적용되어 여러개의 지표들이 연관군으로 묶여진다. 따라서 단지 가장 신뢰도가 높은 자료만을 이용한 기본 골격의 지도를 먼저 작성하므로써 각 지표들은 해당 연관군에 순서대로 배열되게 된다. 보다 낮은 신뢰도의 지표들이 뒤따라 기본 구조에 맞추어지고 그들이 유의적인 수준에서의 유전자 지도의 확장을 유발하지 않는 점에서 수용된다. 즉, 그들은 가산적인 방법에 의하여 잘리워지는 지표들과 재조환되는 곳에서 수용된다. Mapmaker는 서로 반응하지 않는 연관군 repulsion linkage 안의 지표들은 수용하지 못한다. 대부분 지표들이 유래된 양친이 밝혀지더라도, 이러한 수용에 관련된 문제는 각 지표가 조합하거나 거부하는 형태 어느 쪽으로든 분류되도록 일체의 자료를 뒤바꿈으로써 해결되어 왔다. 이것은 결과적으로 계산 횟수를 늘렸지만, 각 지표가 실험적으로 결정된 양친을 계산적 방법으로 점검할 기회를 부여하였다.

2.1.2. 결과

사용된 98개의 프라이머로부터 총 366개의 분리 RAPD 지표가 확인되었다. 대부분이 단순하고 명료한 유전 양식을 보였다. 그러나, 51개 지표는 기원된 양친종을 확인할 수 없었다. 이는 양친이 모두 이형접합체이거나 또는 한 쪽은 이형접합체이고 다른 쪽은 동형접합체이기 때문으로 생각된다. 13개 지표는 RAPD 밴드가 1대 잡종에서 나타나고 반수체 자성배우체에서 분리하였으나, 양친 어느 쪽에도 나타나지 않았다. 이것은 양친에서 밴드가 감지될 정도로 증폭되는 것을 방해하는 RAPD 반응에서의 경쟁 효과 때문으로 믿어진다 (Scott et al., 1992). 총 100개의 지표가 1:1 기대 비율을 벗어나는 다양한 분리를 보였다. 이 중에는 극단의 경우 양친 간에 분명히 다형 현상

을 보이며 1대 잡종에 유전되어지나 (그런 밴드는 이형접합임을 암시), 2대 잡종에서 전혀 분리하지 않으므로써 92개의 모든 자성배우체에서 나타나거나 또는 어떤 것에도 전혀 나타나지 않는 밴드들도 있었다. 식별과 해석이 가능한 최고 235개 지표를 이용한 분석에서 크기가 7-175 cM에 이르는 16개의 연관군에 분포되어 있는 186개의 지표를 포함한 연관군 지도가 작성되었다. 총 지도 크기 1641cM은 191 지표로 된 테다소나무 유전적 지도의 1687cM (Ronald R. Sederoff, School of Forest Resources, North Carolina State University, 사진)과 유사한 크기로 간주된다. 크기가 작은 7개의 소 연관군은 크기에 변화가 많았는데 정상 염색체의 부분에 해당하는 것으로 생각된다. 9개의 연관군은 길이가 유사하였으며, 완전한 형태의 염색체들로 생각된다.

2.2. 연관군 지도상 유전자좌와 QTL 지배 형질과의 상관 구명

2.2.1. 재료와 방법

연관군 지도 작성을 위한 참고 집단은 물론 형질 상관 연구를 위한 자원 집단으로서 혈연적 관계가 분명한 가계가 채택되어야 한다. 선택된 가계는 슬래쉬소나무 E1-23과 카리비아소나무 CH6-29 및 그 교잡종 EH4이다. 교잡종 EH4는 55개체의 2대 잡종을 만들기 위해 자식되었다. 얻어진 2대 잡종은 Beerwah와 Tucan에 각각 23개체와 32개체가 식재되었다. 이 자식계는 임목 육종에서 드물게 조성되는 예이며 이러한 분석을 위해서는 이상적인 집단이다 (Willams and Neale, 1992). 왜냐하면, 각 유전자의 2개의 대립유전자만이 2대 잡종 집단에서 분리하기 때문이며 이것은 바로 유전적 복잡성을 매우 단순화하기 때문이다.

2대 잡종 집단의 유전자형 분석에는 참고 집

단의 자성배우체를 이용하여 구성된 EH4의 정확한 유전적 지도를 이용하므로써, EH4의 55개 자식 차대(2대 잡종)에서 지표들의 분리 양태를 결정하기 위해 1대 잡종 지표들이 근본적으로 평균 20cM(Lander and Botstein, 1988)의 간격으로 분포된다고 간주되었다. 하나의 RAPD 프라이머가 여러개의 지표를 생성하기 때문에 지도상의 여러 지역에서 특정 지표들을 선택할 필요성이 있다면, 10.5cM을 최종 표본 밀도로 하므로써 61개 프라이머에서 얻어진 153개의 지표들을 포함하게 되었다. 뒤이어 55개체 2대 잡종 나무들의 각각에 대한 완전한 유전자형이 작성된다. 이는 2대 잡종 각 개체에서 선택된 지표들의 존재 또는 부재를 결정하므로써 가능하다.

2대 잡종 집단의 표현형 분석을 위해 55개체 각각의 흉고 높이에서 수피 두께를 포함한 여러가지의 형질을 6년생 때에 측정하였다. 수피 두께는 수간 둘레를 4등분한 각 곳에서 측정하고 그들을 평균하였다. 다른 형질로는 분지 양태, 가지 굵기, 가지의 분지각, 흉고 직경, 수고, 목재 밀도, 수지 함량, 수지구 조성 및 가지의 계절별 발생 등이다.

수피는 t-검정을 이용하여 Beerwah와 Tucan 집단을 비교하였다. 지표-형질 공분리 분석은 Mapmaker QTL 분석법 (Lincoln and Lander, 1990)을 이용하여 두 집단에 대해 실시하였다. 이 분석법은 지도상의 지표들간의 각각의 간격을 계산하기 위해 '최대 유사 함수maximum likelihood function'를 이용한 것이다. 이 함수는 관찰된 표현형이 관계없는 QTL에서 일어날 가능성에 대한 실제의 QTL에서 일어날 확률로 이루어진다 (Paterson et al, 1988). 또한 QTL의 존재를 파악하기 위해 택한 유의 수준은 계놈의 크기와 지표의 밀도의 함수이다 (Lander and Botstein, 1989). 이 목적을 위해 의사 단서 지수 log likelihood threshold

(LOD)는 1.5를 썼다. 이것은 QTL이 존재하지 않는 것에 비해 QTL이 있을 가능성이 $10^{1.5}$ 배 더 높다는 가능성 방정식을 만들게 하는 것이다.

2.2.2. 결과

EH4에 있어 반수체인 자성배우체 DNA를 이용하여 작성한 모든 RAPD 지표들이 2대 잡종 나무의 잎에서 얻어진 2배체 DNA에 나타나는 것은 아니다. 2대 잡종의 유전자형을 확인하기 위해 선발된 153개 지표중 48개는 신뢰성을 가질 정도로 다시 재생되지 않았다.

지위 지수가 높은 Beerwah와 지위지수가 낮은 Tuan에 식재된 2대 잡종 개체 간에 평균 수피 두께에 있어 어떠한 유의적인 차이도 인정되지 않았다 (위험율 5%). 두 조립지를 평균하여 얻어진 평균 수피 두께는 18.6mm (표준편차 3.1) 이었고 범위는 11~23.8mm이었다. 그러나, 평균 흉고직경에서는 Tuan 임지가 14.2cm(표준편차 1.8)이고 Beerwah 임지가 16.4cm(표준편차 1.8)로 유의적인 차이를 보였다 (위험율 5%).

Beerwah 임지의 2대 잡종 개체들에 대해 행해진 지표-형질 공분리 분석은 3개의 분명한 QTL 위치를 나타냈다. 이들 중 둘은 유전자 행동 양식에 있어 열성이었고, 나머지 하나는 우성이었다. Tuan에서는 4개의 QTL이 확인되었는데, 그중 하나는 Beerwah 임지에도 동시에 나타난 것이었다. 4개 중 셋은 우성이었고 나머지 하나는 상가적이었는데, 양 임지에 공통으로 나타난 유전자좌는 우성이었다.

2.3. 문제점

1대 잡종에서 이형접합체로서 식별되는 대부분의 RAPD 지표는 멘델의 유전 양식에 따라 반수체 차대에서 1:1의 비율로 분리한다. 따라서 이러한 지표들의 재조합은 매킨토시 맷메 이커로 쉽게 이루어질 수 있으며, 연관군 지도의 작성이 용이하다.

그러나 지도 작성에 있어 많은 비정상적 현상이 특히 슬래쉬소나무와 카리비아소나무의 교잡과 같은 중간 교잡에서 발견되는데, 이러한 현상은 두 소나무 사이에 중간 불화합성이 있음을 암시하고 있다. 발견되는 비정상적 현상으로는 1) 규칙에 어긋나는 지표의 분리, 2) 확인된 다형 지표의 완전한 불분리 현상, 3) 유사한 크기의 12개 염색체로 구성된 계놈에 대해 다양한 크기의 16개 연관군의 출현 등이다. 이러한 비정상적 현상의 출현은 이 두 수종의 유전적 불화합성에 기인한다고 믿어진다. 이러한 불화합성은 자성배우체나 배 발달의 치사 인자로 작용된다. 슬래쉬소나무와 카리비아소나무의 교잡종에 있어 치사유전자의 출현은 이들 유전자에 대한 도태 작용으로도 해석이 가능하다. 그러므로, 그러한 치사유전자를 보유하는 자성배우체는 발달할 수가 없게 된다. 이러한 치사유전자에 연관된 유전자 지표들은 그 유전자좌에 있어 완전한 불분리 현상을 나타낼 것이며, 나아가 어긋나는 분리 비율을 보이게 된다. 기대되는 분리를 벗어나는 현상의 발생 정도는 치사유전자좌에서 멀어질수록 감소할 것이고, 대체로 이러한 유전자좌에서 50cM 정도 떨어지면 1:1의 기대되는 분리비를 보이게 된다 (50cM 정도 떨어지면 지표들은 50%의 조합 빈도를 보이며, 연관되어 있지 않다는 것에 주의하라). 치사유전자가 계놈 내에 불연속적으로 흩어져 있다면, 각 치사유전자는 연관군 지도에서 100cM의 불연속성을 나타낼 것이다.

치사유전자들의 실질적 영향은 모든 유전적 지표를 나타내는 전체적 계놈의 출현을 방해하며, 따라서 연관군 지도에서 '빈곳'이 나타나게 하는 이유가 된다. 따라서 이것은 이러한 곳에 있어 QTL의 조사를 방해하게 된다. 12개 염색체에 대한 16개의 연관군지도에 기초하여 EH4 나무에서 4개의 치사유전자좌가 있음을 추측할 수 있다.

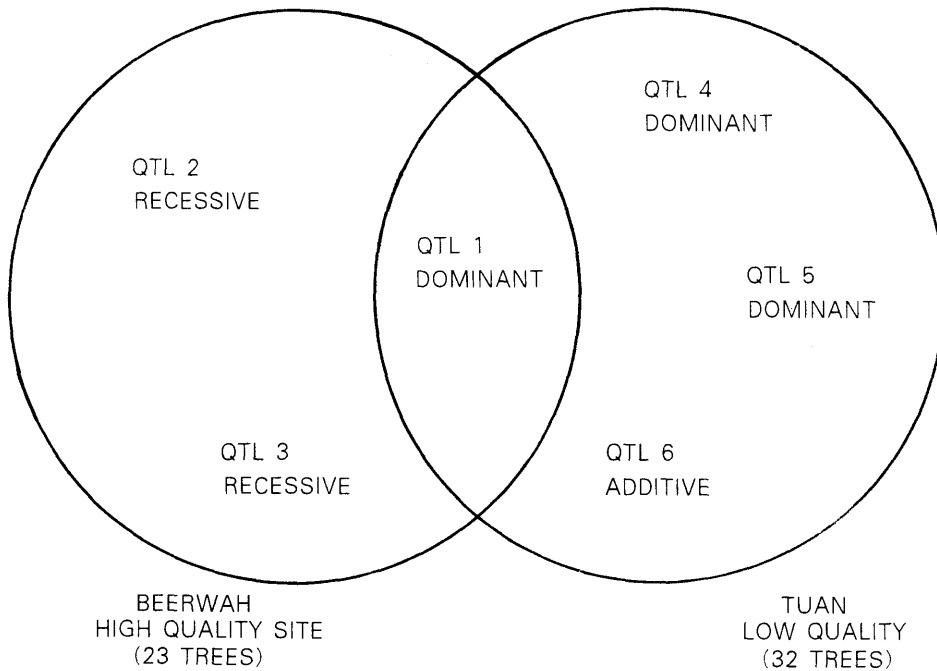


Fig. 5. Schematic illustration of Quantitative Trait Loci(QTL) influencing bark thickness under high and low site quality conditions. Note : QTL 1 is expressed in both environments.

수피의 두께를 지배하는 QTL과 지표들과의 상관을 살펴 보기로 한다. Fig. 5는 수피 두께 지배 QTL의 지도 작성에서 얻어진 결과를 개략적으로 보여 주고 있다. 두 조림지에서 하나의 인자를 공유하면서 동일한 형질을 지배하는 QTL의 두 개의 유전자 조합의 존재는 형질의 표현에 미치는 복잡한 환경의 영향을 잘 보여 주고 있다.

Falconer (1952)는 환경과 유전자형의 상호작용에 대한 이론적 기초를 제시한 바 있다. 그의 이론의 대한 실험적 증명은 바로 분자 수준의 지표를 이용한 최근의 기술에 의해서만 가능하다 (Paterson et al., 1991). Falconer는 어떤 형질의 유전력이 높으면 높을수록 (즉, 표현형 변이 중 유전인자에 의한 변이의 비율이 높으면 높을수록), 다른 환경 조건에서도 그 형질을 지배하는 유전자들의 조합은 더욱 더 유사하여 질 것이라 하였다. 또한 Falconer

(1989)는 한 형질이 다른 환경 조건에서 다른 유전자들에 의하여 어떻게 영향을 받는가 보여 주기 위하여 즉, 유전자형과 환경의 상호작용을 설명하기 위하여 생쥐의 체중 변화예를 제시하였다. 불량한 영양 공급 상태에서는 생쥐의 무게는 에너지 효율을 지배하는 유전자의 영향을 받았으나, 먹이가 끊임없이 공급되는 좋은 영양 상태에서는 식욕을 지배하는 유전자가 생체량 증가의 주 원인으로 작용하였다.

지위 지수가 높거나 낮은 상이한 두 입지에 있어 수피 두께를 지배하는 유전자좌들을 서로 다르게 하는 생리적인 기초가 무엇인가? 참으로 해결이 어려운 문제이다. 실제로, 이것은 '지표를 이용한 선발' marker assisted selection (MAS)의 실질적 적용과는 무관할지도 모른다. 그러나, 양적 형질에 영향하는 불연속 유전자좌를 확인하고 이러한 유전자들과 환경의 상호작용의 본질을 규정할 수 있는 능력은 상

업적으로 중요한 양적 형질에 대한 생리적 영향을 상세히 이해하는데 출발점이 될 수 있을 것이다. 이러한 이해는 궁극적으로 임목육종과 조림 사업에 매우 의미있는 긍정적 영향을 줄 것으로 기대된다. 유전자형과 환경의 상호작용의 기저를 분자 수준에서 이해한다는 것은 또한 MAS의 실제적 적용에 대한 시야를 넓게 해 줄 것이다. 본고의 수피 두께의 예에서는 단지 2 가지의 환경 수준을 관찰하였을 뿐이다. 만약 수피 두께를 지배하는 생리적 인자에 영향을 서로 다른 다양한 환경에 대해서 이러한 분석이 이루어 진다면, 보다 많은 유전자가 확인될 가능성이 높다. 따라서, MAS의 실질적 이용과 (이러한 기술의 적용이 있거나 없는) 영양계 임업에서는 Burdon (1977)이 제안한 것처럼 조림지 모두를 망라하여 입지의 범위를 상세히 분류하는 것이 필요할지도 모른다. 이것은 모든 입지에 넓게 적용할 수 있는 영양계를 선발하는 것에 대비해서 특별한 입지에 잘 적응하는 특별한 영양계를 선발하는 것이 있점이 있는가 비교하기 위해서도 필요할 수 있을 것이다.

본 총설에서는 RAPD지표를 이용하여 특정 가계의 유전학적 분석을 실시하므로써 유전적 연관 지도를 신속하게 작성할 수 있는 기술적 가능성을 제시하고, 또한 매우 적은 수의 잡종 2세대를 이용하므로써 복수유전자의 oligogenetic 지배를 받는 형질에 대한 QTL을 확인하기 위해 작성된 유전자군 지도를 사용할 수 있는 가능성을 제시하고자 한다. 더우기 이러한 QTL의 행동 양식을 구명하고 이들 유전자좌와 환경과의 상호작용을 알아보고자 한 것이었다. 이러한 기술은 영양계 임업에 있어 복수 유전자에 의한 형질에 대한 MAS의 적용시 그 성공 가능성이 매우 높으며, 다수 유전자의 polygenetic 지배를 받는 양적 형질에도 실질적 적용의 가능성을 제시하고 있다.

가령 수피 두께를 모델로 하여 우리가 원하

는 선택된 형질에의 적용을 가정하여 보자. 이러한 형질 지배 유전자는 환경으로부터 매우 강한 영향을 받고 있지만, 형질의 발현을 조장하는 방향으로 수피 두께를 지배하는 모든 유전자좌를 가지는 개체는 성장 장소에 관계없이 수피 두께의 표현형을 나타낸다. 그러므로, 형질과 지표와의 상관(2.2.2.)에서 제시된 행동양식을 유전자들이 갖는다면, 수피 두께에 관여하는 6개의 모든 유전자를 활용한 가계 분석 속에서 한 개체의 가능성은,

$$1\text{개체} / [(0.25^2 (2 \text{ 열성 유전자}) \times 0.25 (1 \text{ 상가적 유전자}) \times 0.75^3 (3 \text{ 우성유전자}))]$$

$$= 152 \text{ 개체 중 } 1\text{개체로 계산된다.}$$

실질적 영양계 임목 육종 계획에 총 20가계에 이러한 동일한 실험 과정이 적용된다면, 6개의 수피 지배 유전자좌를 모두 갖는 152 개체중 하나의 나무를 찾기 위해 최소한 필요한 조사목 수는 3040개체가 될 것이다. 비록 20가계 모두에 대해 각각에 지표-형질의 상관을 구명하기 위해서는 초기에 많은 투자가 필요하지만, 이러한 관계가 한번 밝혀지면 6개의 유전자에 대해 3040개의 개체중 한 개체의 유전적 선발은 능력있는 연구실이라면 약 6개월 이내에 그 작업을 완료할 수 있다. 작업의 자동화가 가장 큰 문제인 시간 절약을 가능하게 할 것이다.

여기에 비교해서 야외 실험에 의한 전통적 육종은 상당량의 경제적 및 시간적 투자를 필요로 한다. 초기 수년내에는 어떠한 결과도 얻지 못 할 수도 있으며, 다양한 환경에 반복 식재되어 있지 않다면, 결과는 그 형질의 표현에 미치는 환경적 영향과 관계된 어떤 오류로 인해 잘못될 가능성이 높다. 더우기, 조림지에서의 결과를 얻는데 걸리는 시간 동안 삼수 공여 식물로부터 온 삼수들의 발근 능력이 감소할 것이다. 결국, 단위 시간당 유전 획득량은 유전적으로 개선된 우수한 모수의 실질적 임업에 이용이 지연되므로써 지표에 의한 선발 식물의 경우보다 훨씬 적을 것이다.

앞으로 연구될 것이 더욱 많이 남아 있지만, 재적과 같이 보다 복잡한 형질에 MAS를 적용하려는 시도는 매우 희망적이다. 미량유전자 형질의 현존 모델은 그 형질의 발현에 다양하게 작용하는 많은 수의 유전자가 있다고 제시한다. 이것은 총변이의 상당 부분을 지배하는 소수의 유전자를 포함하면서 결국 나머지에 아주 적은 영향을 미치는 많은 수의 유전자를 가진 것으로 설명할 수 있다. 그러한 모델이 미량유전자적 형질에 적용될 수 있다면, MAS의 실질적 적용은 그 형질에 가장 큰 영향을 미치는 일련의 유전자들로부터 유전적 조절의 상당 부분을 획득할 수도 있겠다. 이러한 상황에서, 지표를 이용한 선발에서 얻어지는 총 유전변이량은 표현형에 의한 야외 선발의 그것보다 우수하지 않을 수도 있지만, 만약 유전 변이의 50% 이상이 획득된다면 영양계 번식을 위해 선발된 개체들은 가계 평균보다 우수할 것이고 지표 선발의 시간적 이점이 살아날 수 있을 것이다.

Ⅲ. 유전적 지표를 이용한 조기 선발 전략

3.1. 서언

유전적 지도 작성은 물론 지표를 이용한 선발의 가능성은 Sax(1923)에 의해 이미 지적된 바 있으나, 그의 주장이 실현 가능하게 된 것은 바로 DNA 기술의 발달 때문이다. 유전적 지표 이용 기술은 현재 진행 단계에 있으나, 보다 중요한 것은 그 실제적 적용으로부터 얻어지는 교훈들로부터 기술의 개발이 더욱 증진되어질 것이다. 따라서 어떠한 실질적 계획도 지표를 이용하는 기술의 발달이 계속될 수 있도록 연구와 개발의 주구성 요소가 복합적으로 포함하여야 한다. 거의 의심할 바 없이 우리가 현재 MAS에서 겪는 기술적 한계는 앞으로 곧 극복되어 쉬운 일상적 과정의 하나로 될 것이

분명하다. MAS의 잇점을 충분히 이용하려면 영양계 임업을 통해서만 가능하다. 현재의 우리의 기술 수준으로는 순종보다는 잡종에 적용하는 것이 보다 높은 잠재력을 갖고 있다 (Strauss et al., 1992). 그 이유를 보면, 첫째 하나의 2대 잡종 집단 내에서 종의 많은 특색적 형질의 분리가 일어나기 때문이며 (그러므로 각 대상 형질의 분리를 얻기 위해 특별히 고안되어야 할 여러가지 가계 분석을 피할 수 있다), 둘째 교잡이 되는 두 수종 간에 연관 불평형 linkage disequilibrium이 나타나기 때문이다. 두번째 이유는 두 대립유전자 체제에 대한 교잡종의 유전적 복잡성을 감소시킬 수 있다. 그래서, 어떤 가계 분석에서 이루어진 지표-형질 연관 추정법이 전혀 관계가 없는 여러 가계에도 적용될 수 있게 한다.

3.2. 구체적 전략

뉴질랜드의 태즈만임업 Tasman Forestry에 의한 번식 체제는 높은 일반조합능력을 갖은 양친의 교잡에 의해 생산된 소수의 전형매 종자의 배에서 조직배양으로 묘목을 생산하는 영양계 임업을 포함하고 있다. 현재 32영양계가 선발되었는데, 어떠한 영양계 임업에서도 충분한 유전적 다양성이 7가계와 같은 소수로도 가능하다고 한다 (Bill Libby, Tasman Forestry, 사신). 태즈만임업에서 무성번식에 의해 생산된 개체는 각 가계에서 임의로 채택된 것으로, 이 회사는 본질적으로 영양계 번식을 위해 가계 선발 체계를 택하고 있다. 우수 가계 내에서 우수 개체를 선발하는 방법을 채용한다면 태즈만 임업은 진정한 영양계 임업의 시원을 마련한다고 할 수 있겠다. 그 차이는 무성번식으로 번식된 개체의 성적 및 특징에 대한 조사가 수행되면, 그러한 개체를 직접적으로 선발한다는 것이다.

퀸즈랜드에서 채택된 모형은 앞에서 설명된 것들을 복합한 것으로, 즉 우수 전형매 가계내

에서 우수 개체를 선정하여 이들을 무성번식에 의해 증식하는 것이다. 35개의 전형매 가계(1대 잡종 24가계와 2대 잡종 11가계)로부터 각각 15개 영양계의 성적을 조사하므로써 무성번식을 위해 우수 개체를 선발하여 본질적으로 앞에서 설명한 동일한 과정을 따르고 있다. 퀸즈랜드산림청과 태즈만임업의 육종 계획에서는 상당량의 유전 획득이 가능할 것인데, 이는 바로 배 단계 embryo stage에서 가능한 것으로 유전적 지표를 이용한 조기 선발이 포함되어 있기 때문이다.

퀸즈랜드산림청 영양계 임업 계획 내에 유전적인 MAS를 포함시키려는 노력은 종의 특정한 대립유전자에 대한 선발을 비교적 조악한 수준에서 직접적으로 적용하려는 단계이다. 이것은 종내의 특정 대립유전자 변이에 대해 유전적 지표에 의한 선발이 아주 정밀한 수준에까지 가능할 것인데 바로 정보와 기술의 개발로 가능할 것이다. 유전적 지표를 이용한 임목 육종 계획의 수행과 발전을 위한 2단계로 된 전략을 제시한다.

1단계 : 상업적 중요성이 있는 형질을 지배하는 유전자들에 대한 종 특성 유전적 지표의 구명.

2단계 : (교잡종이 아닌) 종 특정 대립유전자 형에 대한 지표-대립유전자 상관의 구명.

아래에서 이를 자세히 살펴보기로 한다.

3.2.1. 1단계(상업적 중요성이 있는 형질을 지배하는 유전자들에 대한 종 특성 유전적 지표의 구명)

실제 선발육종 계획에 대한 기초 연구의 기저는 특정 형질을 지배하는 특정 유전자들에 연관된 유전적 지표를 구명하는 것에 초점을 두어야 할 것이다. 이것의 예는 앞의 수피 두께에 대해 제시된 6개의 대립유전자의 경우(2.2.2.)를 참고하기 바란다.

염색체 전체를 통해 유전자들의 순서와 배열은 다양한 연관군에서도 동일하다는 것이 최근

곡물류에서 밝혀졌다 (Bennetzen and Freeling, 1993). 그러나, 이것은 어떤 가계에서 확인된 지표-유전자 연관 관계가 다른 가계에도 적용된다는 것을 의미하는 것은 아니다. 지표와 유전자 양자가 가계를 통해서 염색체 상 동일한 위치에 자리한다 할지라도, 일련의 변형을 일으킨 종 특성 지표들에 연관된 어떤 유전자의 변형 양태는 매우 다양하다. 이것은 연관 평형 linkage equilibrium의 결과이다. 이러한 현상은 수 세대에 걸쳐 진화를 겪은 어떤 집단 내에서 각 유전자가 다른 모든 유전자와 재조합을 이루었다는 것을 나타내며, 이로 인해 하나의 염색체 상의 두개의 다른 유전자로 된 동일한 형태의 두개의 혈연관계가 없는 개체에서 연관되어 존재하는 것은 거의 불가능하다는 것을 의미한다. 연관 평형의 문제에도 불구하고 2대 잡종을 이용한 연구 체계는 어떤 단일 가계 분석에서 지표-형질 연관 관계 구명이 가능하며 개발된 그 체계가 다른 가계 간의 분석과 각 가계 내의 분석에까지 적용도 가능하게 한다. 슬래쉬소나무와 카리비아소나무는 별도의 종으로 진화하여 왔기 때문에 두 종 간에는 연관 불평형이 존재한다. 그러므로 종의 특성을 보이는 일정 지표들이 확인된다면, 그들은 종의 특성을 보이는 유전자들의 변이형으로 2대 잡종 전가계에 연관되어 나타날 것이다. 비록 그 유전자의 특정 대립유전자형이 변화할지라도 말이다.

어떤 유전자의 슬래쉬소나무에 나타나는 모든 형태를 하나의 유전자군으로 하고 동일 유전자로 카리비아소나무에 나타나는 모든 형태를 다른 유전자군으로 했을 때, 2대 잡종을 이용한 연구 체계의 복잡성은 슬래쉬소나무나 카리비아소나무의 특정 대립유전자들에 대한 선발로 단순화 할 수 있을 것이다. 예를 들자면, 침수 내구력에 영향을 미치는 유전자에 있어 슬래쉬소나무의 어떤 변이형도 카리비아소나무의 어떤 변이형보다도 우수성을 갖는다고 할 경우 Fig. 6과 같이 설명되어진다.

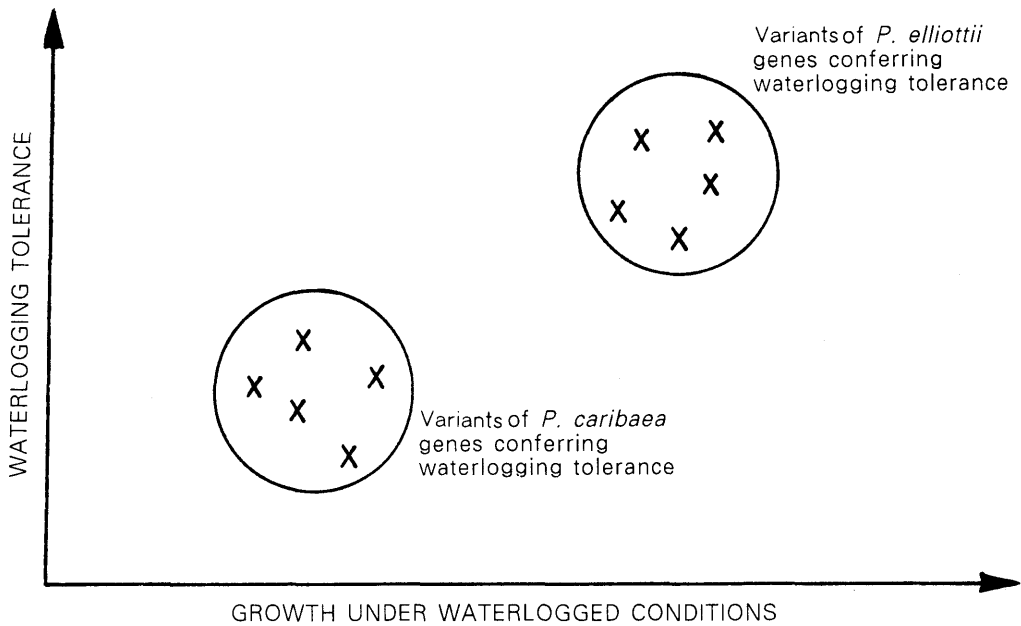


Fig. 6. Concept behind relatively coarse level selection for species specific genes. Although variation may exist within *P. elliottii* for waterlogging tolerance, virtually any *P. elliottii* gene controlling this trait will be superior to any *P. caribaea* gene for the same trait. This concept may allow exploitation of linkage disequilibrium between the two species to allow marker-trait correlations identified in one pedigree to be rapidly applied to unrelated families. The long term aim of MAS would, however, remain the identification of superior allelic variants within each family of interest.

한 가계에서 지표-형질 연관 관계의 구멍은 다른 가계에도 적용될 수 있다는 가능성을 이로서 알 수 있다. 실제로, 이러한 수준에서의 선발육종에 이용 가능성은 이미 수피 두께에서 확인된 대립유전자들에서 나타나고 있다. EH4의 자가수분된 차대에서 분리되어 나타나는 표현형 분산의 많은 양(부분)을 조사하므로써 형질에 대한 지표-대립유전자 연관이 지속적으로 구명되어질 수 있다. 이런 범주 내의 복수 유전자에 의한 형질을 보면 목재 비중, 수지 함량 및 분지 양태 등이다. 미량유전자에 의한 형질로서는 직경, 수고, 가지 크기 및 분지각 등을 포함시킬 수 있겠다.

3.2.2. 2단계 (종 특정 대립유전자형에 대한 지표-대립유전자 상관의 구명)

1단계에서는 특히 연관이 없는 가계들에도 추정, 이용될 수 있는 단일 가계내의 지표-대립유전자 연관 관계의 구명이 가능하도록 하기 위해 연관 평형 문제를 피하는 것이 집중 논의 되었다. 이것은 교잡종 이용 체계의 복잡성을 결국 두개의 대립유전자 체제로 단순화 하기 위해 슬래쉬소나무와 카리비아소나무 사이 연관 불평형을 조사하므로써 가능하였다. 그러나, 앞에서 암시된대로 단일 종내에 있어서 각 유전자마다 많은 대립유전자의 변형이 가능하고 그 유전자에 대해 선발(도태)을 가하는 것

이 가능할 수도 있다.

침수 내구성을 예로 보자. 전에 우리는 이 형질에 있어서는 슬래쉬소나무의 어떤 유전자도 카리비아소나무의 어떤 유전자보다도 우수하다고 고려하였으며, MAS를 적절히 적용하였다. 이제 슬래쉬소나무에서 이 형질을 지배하는 유전자들 각각에 대립유전자 변형이 있다고 간주해 보자. 선발의 효과적 수행 단계에서는 침수 내구력에 가장 큰 효과를 주는 각 유전자의 대립유전자 변형을 선발하기를 우리는 고대하게 된다.

이것은 결국 종내 선발이기 때문에 연관 평형의 문제를 피할 수가 없으며, 따라서 특정 지표-형질의 연관이 대상 각 가계에서 별도로 각각 구명되어야 한다는 것이다. 이 연구의 엄청난 작업량은 각 가계에서 대상이 되는 특정 염색체 지역들에 대한 집중적 연관 지도를 작성하므로써 축소될 수 있을 수도 있다. 이러한 매우 높은 수준의 특정 대립유전자 선발은 단지 제한된 일련의 형질들에만 적용될 수 있리라 본다. 즉, 그 적절한 이용은 종 특성 대립유전자들에 대한 선발의 큰 골격 내에서 가능할 수 있다. MAS를 이러한 정교한 단계에 까지 개발하려는 가장 큰 가능성은 교잡종 생산을 위해서 순종 각각에서 먼저 지표 이용 육종 계획을 통해 달성될 것이다.

IV. 결론

영양계 임목 육종에 있어서 유전적 지표를 이용한 선발의 적용과 범위는 이제 겨우 논의 단계에 있다. MAS가 우수 전형매 가계의 생산을 위해 양친수의 유전형 선발을 실시하는 가계 임업에 높은 적용 가능성을 갖고 있지만, 이 기술은 바람직한 보족유전자와 그에 따른 표현형을 나타내는 개체들의 조기 선발과 영양계 번식에 적용하므로써만 실용화가 가능하다.

현지 식재 시험을 통한 전통적 선발로부터 얻는 유전획득량의 효과와 증대를 도모하기 위한 MAS의 기능은 이제 곧 실현될 수 있을 것이다. 그러나, 가장 큰 잇점을 주는 입장에서 있는 MAS 기술은 현지 식재 실험과 현명하게 합리적으로 조화됨으로써 더욱 효과적일 수 있다.

유전적 지표와 관련있는 기술은 현재 빠른 속도로 진보하고 있고 그와 함께 새로운 적용법과 적용 가능성은 의심할 바 없이 점점 확대되고 있다. 단일 종에서 보다 단성 잡종의 경우 분리하는 표현형 변이의 양이 크기 때문에, 지표-형질 연관 구명 연구에 단일종보다는 잡종이 유리한 자료를 제공한다. 더우기 실제 사업 수준에서 MAS를 단기간 내에 잡종에 적용할 가능성은 연관 불평형 현상때문에 종에서보다 훨씬 높다. 유전적 지표 기술은 실제 사업 규모로 활용될 가능성이 매우 높다. 영양계 교잡종 육종 계획에 있어 이 기술의 활용을 통해 퀸즈랜드산림청은 생산성 증대 및 이 기술 발달의 선구적 역할을 할 수 있는 좋은 자료와 기회를 향유하고 있다 하겠다.

참 고 문 헌

1. Adams, R. P. and Demeke, T. 1993. Systematic relationships in *Juniperus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Taxon* 42: 553-571.
2. Ayala, F. J. 1983. Enzymes as taxonomic characters. In Oxford, G. S., Rollinson, D., (eds)., *Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance*. (The Systematic Association Special Volume No. 24) Academic Press, New York, pp 3-26.
3. Beckmann, J. S., and Soller, M.

1986. Restriction fragment length polymorphism and genetic improvement of agricultural species. *Euphytica* 35 : 111-124.
4. Bennetzen, J. L. and Freeling, M. 1993. Grasses as a single genetic system : genome composition, collinearity and compatibility. *Trends in Genetics* 9(8) : 259-261.
 5. Burdon, R. D. 1977. Genetic correlation as a concept for studying genotype-environment interaction in forest tree breeding. *Silvae Genetica* 26(5-6) : 168-175.
 6. Chase, C. D., Ortega, V. M., and Vallejos, C. E. 1991. DNA restriction fragment length polymorphism correlate with isozyme diversity in *Phaseolus vulgaris* L. *Theoretical & Applied Genetics* 81 : 806-811.
 7. Clegg, M. T. 1989. Molecular diversity in plant populations. In Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L., Weir, B. S., (eds.), *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer Assoc., Sunderland, Mass., pp 98-115.
 8. Dale, G. T., Gates, C. T., Vogel, H. M., Daggard, G. E., and Teasdale, R. D. 1993. Mapping of the interspecific hybrid between *Pinus elliottii* and *Pinus caribaea* using RAPD markers. In Imrie, B. C. and Hacker, J. B. (eds.), *Focused plant improvement : Towards responsible and sustainable agriculture*, Vol. 2, Proceedings of the Tenth Australian Plant Breeding Conference, Gold Coast, Queensland, 18-23 April 1993, 223-224.
 9. Devey, M. E., K. D. Jermstad, C. G. Tauer and Neale, D. B. 1991. Inheritance of RFLP loci in a loblolly pine three-generation pedigree. *Theoretical & Applied Genetics* 83 : 238-242.
 10. deVincente, M.C. and Tanksley, S. D. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134 : 585-596.
 11. Falconer, C. S. 1952. The problem of environment and selection. *American Naturalist* 86 : 293-298.
 12. Falconer, D. S. 1989. *Introduction to quantitative genetics*. 3rd edition. Longman Scientific and Technical, New York.
 13. Hyun, J. O., Rajora, O. P., and Zsuffa, L. 1992. Genetic variation in trembling aspen in Ontario based on isozyme studies. *Canadian Journal of Forest Research* 17 : 1134-1138.
 14. Kim, Z. S., Lee, S. W., Hwang, J. W., and Kwon, K. W. 1993. *Pinus densilifera* for *erecta* - Can it be treated genetically as a distinct group? - Reconsideration based on allozyme data -. *Journal of Korean Forestry Society* 82(2) : 166-175.
 15. Lander, E. S. and Botstein, D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121 : 185-199.
 16. Lee, J. S., Noh, E. W., Lee, S. K., and Kwon, K. W. 1994. Analysis of *Populus* cpDNA by restriction fragment length polymorphism (RFLP)

- technique. Journal of Korean Forestry Society 83(1) : 20-24.
17. Lincoln, S. E. and Lander, E. S. 1990. Mapping genes controlling quantitative traits using MAPMAKER/QTL. Whitehead Institute Technical Report. 1st edition.
 18. Liu, Z. and Furnier, G. R. 1993. Comparison of allozyme, RFLP, and RAPD markers for revealing genetic variation within and between trembling aspen and bigtooth aspen. Theoretical & Applied Genetics 87 : 97-105.
 19. Marsolais, J. V., Pringle, J. S., and White, B. N. 1993. Assessment of random amplified polymorphic DNA (RAPD) as genetic markers for determining the origin of interspecific lilac hybrids. Taxon 42 : 531-537.
 20. Messmer, M. M., Melchieger, A. E., Lee, M., Woodman, W. L., Lee, F. A., and Lamkey, K. R. 1991. Genetic diversity among progenitors and elite lines from the Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS) maize populations : comparison of allozyme and RFLP data. Theoretical & Applied Genetics 83 : 97-107.
 21. Moon, H. K. 1993. Studies on *in vitro* culture, cutting, and rejuvenation characteristics in *Quercus* species. Ph. D. Dissertation, Graduate School, Kangwon National Univ., Chunchon, Korea.
 22. Paterson, A. H., Lander, E. S., Hewitt, J. D., Peterson, S., Lincoln, S. E., and Tanksley, S. D. 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature 335 : 721-726.
 23. Paterson, A. H., Damon, S., Hewitt, J. D., Zamir, D., Rabinowitch, H. D., Lincoln, S. E., Lander, E. S., and Tanksley, S. D. 1991. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato : comparison across species, generations and environments. Genetics 127 : 181-197.
 24. Proctor, L., Rafalski, A., Tingey, S., Lincoln, S., and Lander, E. 1992. Mapmaker Macintosh V2.0 for the construction of genetic linkage maps. E. I. duPont de Nemours and Company.
 25. Rafalski, J. and Tingey, S. V. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding : RAPD's, microsatellites and machines. Trends in Genetics 9(8) : 275-280.
 26. Rajora, O. P. 1990. Marker allozyme genes and alleles for differentiation of *Populus deltoides*, *P. nigra*, *P. maximowiczii*, and their interspecific hybrids. Canadian Journal of Forest Research 68 : 990-998.
 27. Sax, K. 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. Genetics 8 : 552-556.
 28. Scott, M. P., Haymes, K. M., and Williams, S. M. 1992. Parentage analysis using RAPD PCR. Nucleic Acids Research 20(20) : 5943.
 29. Son, D. S., Hong, S. C., Yeo, J. K., and Ryu, J. B. 1989. Inheritance

- of isozymes IPH, ME, and PGI in *Pinus densiflora* and *Pinus thunbergii* in Kyungpook Province. Journal of Korean Forestry Society 78(2) : 242-247.
30. Strauss, S. H., Lande, R., and Namkoong, G. 1992. Limitations of molecular-marker-aided selection in forest tree breeding. Canadian Journal of Forest Research 22 : 1050-1061.
31. Taylor, G. R. 1991. Polymerase chain reaction : basic principles and automation. In McPherson, M. J., Quirk, P., and Taylor, G. R., (eds.), PCR - a practical approach, IRL Press, pp 1-11.
32. Tulsieram, L. K., Glaubitz, J. C., Kiss, G., and Carlson, J. E. 1992. Single tree genetic linkage mapping in conifers using haploid DNA from megagametophytes. Bio/technology 10 : 686-690.
33. Williams, C. G. and Neale, D. B. 1992. Conifer wood quality and marker-aided selection : a case study. Canadian Journal of Forest Research 22 : 1009-1017.
34. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18(22) : 6531-6535.