Korean J. Pl. Taxon. (2009)
Vol. 39 No. 1, pp.48-54

ISSR 자료에 기초한 만리화(물푸레나무과)의 유전적 다양성

김상용* · 김영동[1] · 김진석[2] · 양병훈[3] · 김성희[1] · 이병천
국립수목원, [1]한림대학교 생명과학과, [2]국립생물자원관, [3]국립산림과학원

Genetic diversity of *Forsythia ovata* Nakai (Oleaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR)

Sang-Yong Kim*, Young-Dong Kim[1], Jin-Seok Kim[2], Byeong-Hoon Yang[3], Sung-Hee Kim[1] and Byung-Chun Lee

Korea National Arboretum, Pocheon 487-821, Korea
[1]Department of Life Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea
[2]National Institute of Biological Resources, Incheon 404-170, Korea
[3]Korea Forestry Research Institute, Suwon 440-350, Korea

적 요: 우리나라 특산식물이며 희귀식물인 만리화(물푸레나무과) 집단의 유전적 다양성을 조사하기 위하여 5 집단 84개체에 대한 ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) 표지자 분석을 실시하였다. 14개의 ISSR 프라이머에서 총 93개의 증폭산물을 관찰할 수 있었으며, 유전적 다양성을 나타내는 *P* (Percentage of polymorphic loci)값과 S.I. (Shannon's information Index)가 다른 관목류에 비해 비교적 낮게 나타났다. 집단별 유전적 다양성은 석병산집단 (*P* = 64.5%, S.I. = 0.281)과 설악산B집단(*P* = 62.4%, S.I. = 0.292)이 높았으며, 석개재집단(*P* = 37.6%, S.I. = 0.178)이 가장 낮았다. 전체 유전변이 중 30.6%가 집단간에 기인하는 것으로 나타났고, 나머지 69.4%는 집단내 개체간의 차이에서 기인하였다. 이러한 결과는 분포역이 매우 제한되어 있으며 불연속적으로 출연하는 희귀종이라는 점으로 미루어 볼 때 지역간의 유전자 교류가 원활하지 못해 나타난 결과라고 추정해 볼 수 있다. 유전적 거리를 이용하여 UPGMA 방법에 의한 유집분석을 실시한 결과, 집단의 지리적 격리정도와 유전적 연관성은 비교적 일치하는 경향이었다. 본 연구 결과, 만리화의 유전자원보존을 위해서는 자생지 보호와 더불어 동적인 현지외 보존(dynamic *ex situ* conservation)과 같은 보다 적극적인 대책이 요구되며, 더 높은 유전적 다양성을 확보하기 위해서는 소수의 집단에서 다수 개체를 선발하기보다는 집단당 소수 개체를 다수의 집단에서 선발하는 집단 위주의 보존이 더욱 효과적일 것으로 판단된다.

주요어: 유전적 다양성, 만리화, 유전자원보존, 희귀 · 특산식물, ISSR

ABSTRACT: We investigated the genetic diversity of an endemic rare species, *Forsythia ovata* Nakai by examining 93 ISSR amplicons in 84 individuals distributed among five populations. The overall percentage of polymorphic ISSR amplicons was 54.8% and mean number of amplicons per ISSR primer was 6.6. The amount of genetic diversity was relatively lower than other shrub species. The Mt. Seokbyeong and Mt. Seorak B populations had the highest level of genetic diversity. Although the Seokgae-jae population had the lowest level of genetic diversity, the population was genetically the most distinctive from the other populations. About 30.6% of the total variation was allocated between five populations, which was slightly higher than other shrub species. Such a pattern of genetic variation may have resulted from the limited distribution and small population sizes of *F. ovata*. The UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance showed some decisive geographic patterns. These results suggest that, in addition to the preservation of the natural stands, the conservation of larger number of populations with small number of individuals per population is more effective for the dynamic *ex situ* conservation and for maintaining the genetic diversity of *F. ovata* than smaller number of populations with large number of individuals.

Keywords: Genetic diversity, *Forsythia ovata*, conservation of genetic resources, rare & endemic plant species, ISSR

*Author for correspondence: rosaksy@forest.go.kr

만리화(*Forsythia ovata* Nakai)는 물푸레나무과에 속하는 낙엽성 관목으로 강원도와 경상북도, 황해도에 분포하는 우리나라 특산식물이다(Lee and Lee, 2000). 개나리보다 내한성이 강하지만 생태적으로 매우 위약한 수종으로 주변에 식생이 우거지면 쉽게 쇠퇴하여 햇볕이 잘 드는 암석지대나 식생의 침입이 어려운 가파른 절벽 등을 피난처 삼아 소규모로 분포한다. 만리화는 1997년 산림청에 의해 '희귀 및 멸종위기식물' 217종 가운데 하나로 지정된 희귀식물로서 국내 자생집단에 대한 적절한 보존대책을 필요로 하는 식물이다. 현재까지 만리화에 대해서는 Kim and Kim(1982)에 의한 해부학적 특성 연구와 Kim et al.(1984)에 의한 형태적 특성 및 종자발아특성 연구 등이 이루어진 바 있으나, 유전자원보존의 기준을 제시하는 유전적 다양성에 대한 연구는 아직까지 이루어진 바가 없다.

생물집단의 유전적 다양성에 대한 연구는 유전자 유입 등 생물종 진화 요인에 대한 이해의 폭을 넓혀준다는 점에서 중요한 의의가 있다(Avise, 1994). 특히, 희귀종 또는 멸종위기 생물종 집단의 유전적 다양성 분석 자료는 개체수 감소의 원인을 파악하고, 보존 전략을 수립하는 데 필수불가결한 자료이다(Milligan et al., 1994; Hamrick and Godt, 1996). 생물집단의 유전적 다양성 분석은 1970년대 이후에 동위효소 표지자가 널리 이용되어 왔지만, 최근에는 유전물질인 DNA를 직접 분석에 이용하는 경우가 많아지고 있다. DNA 표지자를 이용하면 동위효소 표지자에 비해 더 많은 유전자에서의 변이 추정이 가능하기 때문에, 유전다양성이 낮은 집단이나 개체의 식별 가능성이 더욱 높아지는 장점이 있으며(Bachmann, 1994), 충분한 유전자좌를 조사한다면 공우성뿐만 아니라 우성 DNA 표지자도 유용하게 활용될 수 있음이 입증되고 있다(Sydes and Peakall, 1998; Kjølner et al., 2004). DNA를 이용한 집단 및 개체들 간의 유전적 다양성 연구에는 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction), SSLP (Simple Sequence Length Polymorphism), 변이율이 높은 특정 DNA 구간의 염기서열 분석 등 여러 분석기법들이 이용되고 있다. 이 가운데 ISSR-PCR 표지자 분석은 SSR (Simple Sequence Repeat)을 이용하여 다형성을 탐색하는 방법으로, 실험과정과 자료분석이 용이하고 RAPD 표지자에 비해 재현성이 우수하여 최근 멸종위기 식물집단의 유전적 다양성을 연구하는데 자주 사용되고 있다(Camacho and Liston, 2001; Xiao et al., 2004; Ge et al., 2005; Chung et al., 2006; Xiao et al., 2006).

본 연구에서는 희귀·특산식물인 만리화의 5개 집단으로부터 조사된 ISSR 자료를 이용하여 유전변이 양상을 파악함으로써 만리화 집단의 유전적 다양성과 분화 정도를 추정하고 유전자원보존을 위한 방안을 제시하고자 하였다.

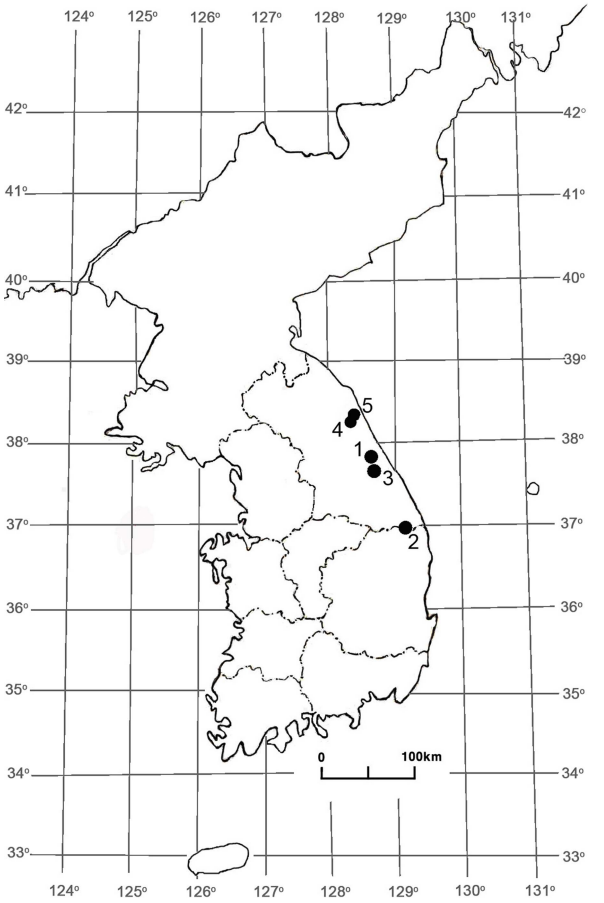

Fig. 1. Geographical distribution of the *F. ovata* populations examined. 1 = Mt. Seokbyeong; 2 = Seokgae-jae; 3 = Mt. Jabyeong; 4 = Mt. Seorak A (Gongryong); 5 = Mt. Seorak B (Cheonbul).

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용한 시료는 자생하는 만리화 4개 집단(석개재, 석병산, 설악산A, 설악산B)과 자생지 훼손으로 인해 이식 복원한 1개소(자병산)로부터 채취하였는데(Fig. 1), 자생집단내 시료 개체목간의 간격을 대략 5 m 이상이 되도록 하여 생육지 규모에 따라 집단 당 12~20개체에서 유엽이 달린 소지를 채취하였다. 각 집단의 위치와 집단별로 채집된 개체수는 Table 1과 같다.

2. DNA 분리 및 ISSR PCR

만리화의 DNA는 채취된 연한 잎 5 g을 액체질소로 갈아 CTAB 방법(Doyle and Doyle, 1987)으로 추출하였고, 추출된

Table 1. Locality of population and the number of individuals sampled from each population.

Population	Locality	No. of individuals
Mt. Seokbyeong	Gangneung-si, Gangwon	20
Seokgae-jae	Bonghwa-gun, Gyeongbuk	12
Mt. Jabyeong	Gangneung-si, Gangwon	17
Mt. Seorak A (Gongryong)	Sokcho-si, Gangwon	20
Mt. Seorak B (Cheonbul)	Sokcho-si, Gangwon	15

DNA를 1X TE buffer에 녹인 후 EtBr-CsCl 농도구배 초원심분리방법(60,000 rpm, 7시간) 및 투석법으로 정제하였다(Palmer, 1986).

Polymerase chain reaction (PCR)은 주형 DNA 10-20 ng, 5X buffer 5 μl, 2.5 mM의 dNTPs 각각 2 μl, 2 mM $MgCl_2$ 2 μl, 100 pmol의 프라이머 1 μl, Promega Flexi GoTaq (Promega Corp., Madison, WI) 0.625 U 및 증류수가 포함된 총 25 μl의 반응액을 95°C에서 5분 동안 1차 해리한 후, 해리 95°C 1분, annealing 45°C 1분, extension 72°C 2분으로 구성된 반응을 30회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 10분간 extension하여 수행하였다(Applied Biosystems Gene Amp. PCR system 9700 사용). ISSR 프라이머는 UBC ISSR 프라이머 Set #9 (Nucleic Acid-Protein Service Unit, University of British Columbia)과 웹상에서 정보를 수집하여 제작한 프라이머를 사용하였으며, 이 가운데 재현성이 우수하고, 다형성을 보이는 증폭산물이 선명하고 구분이 용이한 14개 프라이머를 확정한 뒤 이들을 최종 ISSR 분석에 사용하였다(Table 2). PCR 증폭산물은 2% agarose gel에서 전기영동하여 DNA size marker를 기준으로 특정 크기(bp)를 지니는 증폭산물의 유무에 따라 '1'과 '0'으로 코딩하여 자료행렬로 전환하였다.

3. 자료의 분석

5개 만리화 집단에 대한 ISSR 변이체의 다양성을 추정하기 위해 POPGENE 1.31 program (Yeh et al., 1999)을 이용하여 Shannon's information Index (S.I.; Shannon, 1948)를 구하였으며, Arlequin 2.0 program (Schneider et al., 2000)을 이용, Euclidean distance에 의해 계산된 유전적 거리를 기초로 AMOVA 분석을 실시하여 집단간 유전적 분화의 정도를 계산하였다(Excoffier et al., 1992). 분석된 집단간의 유전적 거리는 POPGENE (ver. 1.31, Yeh, et al. 1999) 프로그램을 이용하여 Nei's genetic distance를 통해 산출하였다.

Table 2. List of ISSR primers employed for this analysis.

Primer Code	Sequence	Primer Code	Sequence
UBC #811	$(GA)_8$ C	UBC #845	$(CT)_8$ RG*
UBC #815	$(CT)_8$ G	UBC #847	$(CA)_8$ RC*
UBC #818	$(CA)_8$ G	UBC #850	$(GT)_8$ YC*
UBC #825	$(AC)_8$ T	# 10	$(GAG)_4$ RC*
UBC #835	$(AG)_8$ YC*	# 13	$(CA)_7$ YG*
UBC #841	$(GA)_8$ YC*	# 17	$(AG)_7$ YC*
UBC #844	$(CT)_8$ RC*	# 24	$(CAA)_5$

*Y = (C,T); R = (A,G)

결 과

1. 유전적 다양성

만리화 집단의 유전적 다양성 분석에 사용된 14개의 ISSR 프라이머에서 총 93개의 증폭산물을 관찰할 수 있었으며, 프라이머 당 평균 6.6개의 다형성 증폭산물을 얻을 수 있었다. 다형성 유전자좌의 비율(*P*: Percentage of polymorphic loci)은 석병산집단(64.5%)과 설악산B집단(62.4%)이 비교적 높은 값을 보였으며, 석개재집단(37.6%)이 가장 낮게 나타나 전체평균은 54.8%로 관찰되었다(Table 3).

14개의 ISSR 프라이머에서 총 93개의 증폭산물을 토대로 Shannon의 유전다양성지수(S.I.: Shannon's information Index)를 계산한 결과 가장 높은 값을 보인 집단은 설악산B집단(0.292)이었으며 가장 낮은 값을 보인 집단은 석개재집단(0.178)이었다(Table 3). 또한, 1985년부터 행해진 석회암 채굴에 의해 자병산의 생태가 훼손되기 전에 현지에 자생하던 만리화 개체군을 모아 이식 복원한 자병산집단의 유전다양성지수(0.243)는 조사된 전체 집단의 평균 수준으로 나타났다.

2. 집단의 유전적 분화

조사된 5개의 집단에 대한 AMOVA를 이용한 분산요소의 비교에서 전체 유전변이 중 30.6%가 집단간에 기인하는 것

Table 3. Estimates of ISSR amplicon diversity within *Forsythia ovata* population.

Population	N*	*P**	h*	S.I.*
Mt. Seokbyeong	20	64.5	0.18	0.281
Seokgae-jae	12	37.6	0.12	0.178
Mt. Jabyeong	17	57.0	0.16	0.243
Mt. Seorak A (Gongryong)	20	52.7	0.14	0.221
Mt. Seorak B (Cheonbul)	15	62.4	0.19	0.292
Mean	16.8	54.84	0.158	0.243

*N = number of individuals; *P* = percentage of polymorphic loci; h = Nei's gene diversity; S.I. = Shannon's information index

으로 나타났고, 나머지 69.4%는 집단내 개체간의 차이에서 기인하였다(Table 4).

또한, 만리화 집단간 유전자 교류의 정도(*Nm*)는 1.34로 나타났다(Table 5).

각 집단 쌍 간에 Nei(1978)의 유전적 거리를 구한 결과 석병산과 자병산 집단간이 0.0494로 최소치를, 설악산B와 석개재집단간이 0.1284로 최대치를 보였으며(Table 6), 전체 10개 쌍 간의 평균값은 0.0902로 나타났다. 유전적 거리를 이용하여 UPGMA (Sneath and Sokal, 1973)법에 의한 유집분석을 실시한 결과 Fig. 2와 같이 나타났는데, 석병산과 자병산, 그리고 설악산A와 설악산B집단이 각각의 소그룹을 형성한 후 유집되었고 석개재집단은 전형질도의 가장 기부에 위치하는 양상을 보였다.

고 찰

유전적 다양성

만리화 5개 집단에서 조사된 유전적 다양성(S.I. = 0.243)은 ISSR 표지자를 이용하여 조사된 다른 관목류와 비교하여 보면, 철쭉(S.I. = 0.395, Hong et al., 2003), 시로미(S.I. = 0.531, Choi et al., 2004), 들쭉나무(S.I. = 0.470, Han et al., 2005), 줄댕강나무(S.I. = 0.336, Jeong et al., 2007) 등 보다는 낮고, 땃두릅나무(S.I. = 0.269, Lee et al., 2002)와 복분자딸기(S.I. = 0.242, Hong et al., 2003), *Tetraena mongolica* (S.I. = 0.264, Ge et al., 2003)와는 유사하였고, *Heptacodium miconioides* (S.I. = 0.133, Jin and Li, 2007)보다는 높은 수준이었다.

Table 4. Analysis of molecular variance for ISSR amplicon variants.

Source of variance	d.f.	Component variance
Among populations	4	30.6%
Within populations	79	69.4%

Table 5. Nei's analysis of gene diversity in subdivided populations.

H_T[1)]	H_S[2)]	G_{ST}[3)]	Nm[4)]
0.2152	0.1569	0.2712	1.34

[1)]Total genetic diversity of the species
[2)]Mean within-population genetic diversity
[3)]The propotion of the total genetic diversity found among populations
[4)]Estimate of gene flow from G_{ST}, *e.g.*, $Nm = 0.5(1-G_{ST})/G_{ST}$ (McDermott and McDonald, 1993)

Table 6. Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

Population	1	2	3	4	5
1	-	0.8803	0.9518	0.8980	0.9334
2	0.1275	-	0.8976	0.9060	0.8795
3	0.0494	0.1081	-	0.9135	0.9425
4	0.1075	0.0987	0.0905	-	0.9380
5	0.0690	0.1284	0.0592	0.0641	-

1 = Mt. Seokbyeong; 2 = Seokgae-jae; 3 = Mt. Jabyeong; 4 = Mt. Seorak A (Gongryong); 5 = Mt. Seorak B(Cheonbul)

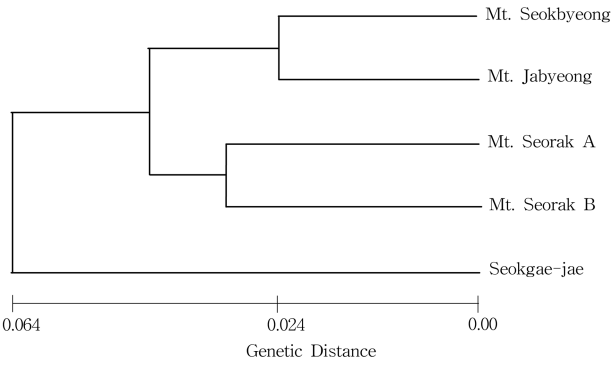

Fig. 2. UPGMA tree based on ISSR data for 5 populations of *Forsythia ovata*.

이형화주현상(heterostyly)을 나타내거나, 종자뿐만 아니라 무성생식에 의해서도 번식되는 식물종의 경우 그렇지 않은 종에 비해 대체적으로 유전적 다양성이 높은 것으로 알려져 있다(Hamrick et al., 1992; Charlesworth and Charlesworth, 1995; Weller et al., 1996). 그러나 본 연구 결과, 만리화는 이형화주현상을 나타내고 유무성생식에 의해 번식됨에도(pers. obs.) 불구하고 유전적 다양성이 비교적 낮은 것으로 나타났다. 일반적으로 분포역이 제한적인 특산종이나 희귀종의 경우에는 근친교배 또는 유전적 부동에 의해 유전변이가 극히 적은 것으로 알려져 있다(Ledig and Conkle, 1983; Godt et al., 1996). Lee et al.(2002)은 땃두릅나무의 유전적 다양성이 낮은 이유를 제한된 지역에 분포하고 자생지 내에서 생육적지가 많지 않으며 열매 결실 및 발아율 또한 저조하여 나타난 결과라고 해석하였다. 만리화 또한 앞에서 언급한 바와 같이, 생태적으로 매우 위약한 수종으로 주변에 식생이 우거지면 쉽게 쇠퇴하므로 천연집단내 초기 유묘 단계에서 성목으로 성장하기까지 생존이 용이하지 못해 적절한 유전적 다양성을 유지하기 어려웠을 것이다. 또한 햇볕이 잘 드는 암석지대나 가파른 절벽 등 제한된 지역에 소규모로 분포한다는 특성을 고려해 볼 때, 만리화의 비교적 낮은 유전적 다양성은 분포특성과 집단크기에 기인하는 것으로 추정된다. 조사된 만리화 자생집단 중 분포면적이 소규모 단편으로 분리되어 있고 개체수도 가장 적은 석개재집단의 유전적 다양성(S.I. = 0.178)이 비교적 연속적으로 분포하고 개체수도 많은 다른 4 집단(S.I. = 0.260)에 비해 현저히 낮게 나타났다는 사실도 부분적으로 이런 추정을 뒷받침하는 것으로 사료되었다.

생물종의 유전적 다양성은 기본적으로 교배양식에 의해 영

향을 크게 받는데, 만리화의 교배양식에 대해 알려진 구체적 자료는 전무한 실정이다. 특히, 만리화와 같이 이형화주현상을 나타내는 식물종의 경우, 수분기작 및 종자결실, 집단내 장주화와 단주화의 비율 등에 대한 면밀한 조사가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

집단의 유전적 분화

AMOVA 분석에 의해, 관찰된 유전변이의 분포 양상을 토대로 집단간 분화정도를 추정한 결과, 5 집단이 공유하고 있는 유전변이의 양은 전체 유전변이의 69.4% 였으며, 전체의 30.6%가 집단간 유전적 차이에 기인하는 것으로 나타났다. 이 수치는 ISSR 표지자 분석을 통해 다른 관목류에서 확인된 집단간 분화정도와 비교해 보면, 가시오갈피(62.8%, Hong et al., 2000)와 들쭉나무(33.5%, Han et al., 2005)에 비해서는 낮았으나, *Lonicera periclymenum* (18.6%, Grashof-Bokdam et al., 1998), 철쭉(11.6%, Hong et. al., 2003), *Tetraena mongolica* (15.2%, Ge et al., 2003), 줄댕강나무(18.7%, Jeong et al., 2007) 등에 비해서는 상당히 높은 수준의 집단간 유전적 분화가 일어나고 있음을 알 수 있었다.

식물에 있어서 유전변이의 양과 분포는 해당 종의 생태적 특성 및 생활사와 깊은 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 즉, 분포역이 넓고, 타가수분을 선호하며 장수하는 식물종, 화분이나 종자의 이동거리가 긴 식물종의 경우에는 그렇지 않은 식물종에 비해서 집단내 개체간 유전변이량은 많고 집단간 유전적 분화의 정도는 적은 것으로 보고되고 있다(Hamrick et al., 1992; Nybom and Bartish, 2000). 이에 대한 원인으로는 집단간 유전자 교류가 원활하게 이루어지면서 도태나 유전적 부동 등에 의해 발생할 수 있는 유전적 분화를 방지하기 때문인 것으로 해석된 바 있다(Edwards and Hamrick, 1995). 반면에, 지역적으로 격리되어 있고 집단의 개체수가 적은 소집단의 경우 유전자 부동현상과 함께 지역의 미세 환경에 대한 적응의 결과로 인해 쉽게 분화가 일어난다고 보고되었다(Ellstrand and Elam, 1993). 따라서, 만리화 집단간에 발생하는 상당히 높은 수준의 유전적 분화에 대한 보다 명확한 원인을 찾기 위해서는 수분 및 번식 기작 등의 생리·생태적 특성을 구명하기 위한 보다 정밀한 연구가 요구되나, 만리화가 그 분포역이 매우 제한되어 있으며 불연속적으로 출연하는 희귀종이라는 점으로 미루어 볼 때 지역간의 유전자 교류가 원활하지 못해 나타난 결과라고 추정해 볼 수 있다. 일반적으로 *Nm*값이 1.0 이하이면 유전적 부동 효과가 전반적으로 크게 작용하는 것으로 알려져 있다(Wright, 1951; Slatkin, 1987). 본 연구결과, 만리화의 *Nm*값은 1.34로 다른 식물종에 비해 다소 낮게 나타나(Govindaraju, 1988) 만리화의 집단간 유전자 교류가 원활하지 못함을 시사한다. 특히, 만리화의 집단 규모가 작고 고립되어 불연속적으로 분포한다는 점을 고려할 때, 화분이나 종자 이동을 통한 집단간 유전자 교류가 원활하지 못하면 집단간 유전적 분화 정도가 커질 것으로 사료된다. 그런데, 조사된 만리화 집단들은 서로 수평적으로 격리되었을 뿐만 아니라, 생육지 고도 차이가 있어 수직적으로도 격리되어 있는 바, 곤충에 의한 집단간 화분 이동을 기대하기는 어려울 것으로 보인다. 또한, 만리화의 열매는 삭과이며, 종자는 길이가 약 5 mm로 그 이동거리가 상당히 제한될 것으로 판단된다. 따라서, 이러한 만리화의 분포 특성 및 열매나 종자 특성과 더불어 유·무성생식에 의한 번식 특성 등이 집단간 유전적 분화에 영향을 주는 것으로 추정할 수 있다.

Nei의 유전적 거리에 의한 UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) 유집분석 결과, 석병산과 자병산, 그리고 설악산A와 설악산B집단이 각각의 소그룹을 형성한 후 유집되었고, 석개재집단은 전형질도의 가장 기부에 위치하는 양상으로 나타났다. 따라서, 집단의 지리적 격리정도와 유전적 연관성은 비교적 일치하는 경향을 보였다.

유전자원 보존 전략

생물종을 보존하기 위하여 현존하는 모든 개체나 집단을 대상으로 하기에는 경제적 비용과 기술적 어려움 등이 심각하게 증가된다. 따라서, 가능한 많은 다양성이 포함되면서 적절한 수의 개체나 집단이 선발될 수 있도록 합리적인 표본 추출 전략의 수립이 선행되어야 한다. 그런 의미에서, 국내 희귀식물에 대한 유전적 다양성과 분화 정도의 분석은 종 보존을 위한 정책을 수립하는 데 긴요한 과학적 근거로 활용될 수 있다(Kim et al., 2007). 어떤 식물종의 유전적 다양성을 보존하기 위해서 우선적으로 고려해야 할 인자는 전체 유전변이 중에서 집단간 유전적 차이가 차지하는 비율이다(Hamrick et al., 1991). 집단간 유전적 분화가 많이 진행된 식물종의 유전적 다양성을 보존하기 위해서는 가능하다면 많은 수의 집단을 보존하는 것이 좋고, 반대로 집단간 유전적 분화가 그리 크지 않은 식물종의 경우에는 유전적 다양성이 가장 높은 집단을 보존하는 것이 좋다. 이는 비슷한 조건일 경우 유전적 다양성이 더 높은 집단을 우선적으로 보존하는 것이 종 보존 전략상 더 유리하다는 보존생물학 및 진화유전학적 이론에 기초한 것이다(Milligan et al., 1994; Hamrick and Godt, 1996).

만리화가 세계적으로 우리나라에서만 자라는 특산식물이므로 유전자원으로서의 보존가치가 더욱 높다는 점과 생태적으로 매우 위약한 희귀식물로 집단의 분획화와 인위적 교란으로 인해 개체수가 점차 감소되는 추세라는 점 등을 고려할 때 자생지 보호를 위한 적절한 관리가 필요하다. 그러나 만리화는 자생집단간에 화분이나 종자를 통한 유전자 교류가 어려운데다가 종자결실률 또한 매우 낮고 어느 정도 무성생

식에 의해 집단이 유지되므로(pers. obs.) 향후 집단간의 분화 정도가 더욱 높아질 것으로 예상되어 단순한 자생지 보호만으로는 유전적 다양성을 확보하기 어렵다. 그러므로 만리화의 유전적 다양성을 제고하기 위해서는 동적인 개념의 현지외 보존(dynamic *ex situ* conservation)과 같은 보다 적극적인 대책이 요구된다. 본 연구를 통해 만리화는 다른 식물종과 비교하여 상당히 높은 수준의 집단간 유전적 분화가 일어나고 있는 것을 알 수 있었으므로 더 높은 유전적 다양성을 확보하기 위해서는 소수의 집단에서 다수 개체를 선발하기보다는 집단당 소수 개체를 다수의 집단에서 선발하는 집단 위주의 보존이 더욱 효과적일 것으로 판단된다. 그러나, 현지내 또는 현지외 보존을 위한 집단내 개체수 선정과 표본 추출 유효 간격 등 보다 구체적인 보존 전략의 수립을 위해서는 생리·생태적 특성과 아울러 유전적 공간 구조가 구명되어야 할 것이다. 따라서 만리화의 자생지 훼손과 개체수 감소가 더 심해지기 전에 이에 대한 체계적인 연구가 수행되어 보다 효율적이고 합리적인 보전 전략이 수립되어야 할 것으로 생각된다.

사 사

본 논문의 심사를 맡아주신 심사위원들께 깊은 감사를 드립니다. 또한, 현지 조사에 참여해주신 김태영 선생님께 감사의 뜻을 전합니다. 본 연구는 국립수목원 임업연구개발사업의 연구비에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, London.

Bachmann, K. 1994. Molecular markers in plant ecology. New Phytologist 126: 403-418.

Camacho, F. J. and A. Liston. 2001. Population structure and genetic diversity of *Botrychium pumicola* (Ophioglossaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR). Amer. J. Bot. 88: 1065-1070.

Chalesworth, D. and B. Chalesworth. 1995. Quantitative genetics in plants: the effect of the breeding system on genetic variability. Evolution 49(5): 911-920.

Choi, H.-S., K.-N. Hong, J.-M. Chung and B.-Y. Kang. 2004. Genetic diversity and spatial genetic structure of *Empetrum nigrum* var. *japonicum* in Mt. Halla, South Korea. Jour. Korean For. Soc. 93(3): 175-180 (in Korean).

Chung, J. M., B. C. Lee, J. S. Kim, C.-W. Park, M. Y. Chung and M. G. Chung. 2006. Fine-scale genetic structure among genetic individuals of the clone-forming monotypic genus *Echinosophora koreensis* (Fabaceae). Ann. Bot. 98: 165-173.

Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.

Edwards. M. A. and J. L. Hamrick. 1995. Genetic variation in shortleaf pine, *Pinus echinata* Mill(Pinaceae). Forest Genetics 2: 21-28.

Ellstrand, N. C. and D. R. Elam. 1993 Population genetic consequences of small population size; implications for plant conservation. Annual Review of Ecological Systematics 24: 217-242.

Excoffier, L., P. Smouse and J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131: 479-491.

Ge, X-J., Y. Yu, N.-X. Zhao, H.-S. Chen and W.-Q. Qi. 2003. Genetic variation in the endangered Inner Mongolia endemic shrub *Tetraena mongolica* Maxim. (Zygophyllaceae). Biological Conservation 111: 427-434.

Ge, X-J., Y. Yu, Y.-M. Yuan, H.-W. Huang and C. Yan. 2005. Genetic diversity and geographic differentiation in endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) populations in desert regions of northwest China as revealed by ISSR analysis. Ann. Bot. 95: 843-851.

Godt, M. J. W., B. R. Johnson and J. L. Hamrick. 1996. Genetic diversity and population size in four rare southern Appalachian plant species. Conservation Biology 10(3): 796-805.

Govindaraju, D. R. 1988. Relationship between dispersal ability and levels of gene flow in plants. Oikos 52: 31-35.

Grashof-Bokdam, C. J., J. Jansen and M. J. M. Smulders. 1998. Dispersal patterns of *Lonicera periSclymenum* determined by genetic analysis. Molecular Ecology 7: 165-174.

Hamrick, J. L., M. J. W. Godt, D. A. Murawski and M. D. Loveless. 1991. Correlations between species traits and allozyme diversity: Implications for conservation biology. *In* Genetics and Conservation of Rare Plants. Falk, D. and K. Holsinger (eds.), Oxford Press, London. Pp. 75-86.

Hamrick, J. L., M. J. W. Godt and S. L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests 6: 95-124.

Hamrick, J. L. and M. J. W. Godt. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. *In* Conservation Genetics. Avise, J. C. and J. L. Hamrick (eds.), Chapman and Hall, New York. Pp. 281-304.

Han, S.-D., Y.-P. Hong, H.-Y. Kwon, B.-H. Yang and C.-S. Kim. 2005. Genetic variation of two isolated relict populations of *Vaccinium uliginosum* L. in Korea. Jour. Korean For. Soc. 94(4): 209-213 (in Korean).

Hong, K.-N., K.-J. Cho, Y.-H. Park., S.-D. Hur, Y.-P. Hong and

B.-Y. Kang. 2000. Genetic variation of some patches of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. in Korea. Korean For. Soc. 89(5): 645-654 (in Korean).

Hong, Y.-P., H.-Y. Kwon, Y.-Y. Kim and C.-S. Kim. 2003. Distribution of I-SSR variants in natural populations of smile rosebay (*Rhododendron schlippenbachii* Maxim.) in Korea. Jour. Korean For. Soc. 92(5): 497-503.

Hong, Y.-P., M.-J. Kim and K.-N. Hong. 2003. Generics diversity in natural populations of two geographic isolates of Korean black raspberry. The Journal of Horticultural Science & Biotechnology 78: 350-354.

Jeong, J.-H., K.-S. Kim, C.-H. Lee and Z.-S. Kim. 2007. Genetic diversity and spatial structure in populations of *Abelia tyaihyoni*. Jour. Korean For. Soc. 96(6): 667-675 (in Korean).

Jin, Z. and J. Li. 2007. Genetic differentiation in endangered *Heptacodium miconioides* Rehd. based on ISSR polymorphism and implications for its conservation. Forest Ecology and Management 245: 130-136.

Kim, K.-R., S.-C. Kang and J.-M. Lee. 1984. Characteristics, fertility, seed germination, and chemical control of branching habit in *Forsythia* species. Res. Coll. of Inst. of Food Dev., Kyung Hee Univ. 5: 5-19 (in Korean).

Kim, J. K. and S. K. Kim. 1982. On the anatomical properties of *Forsythia ovata*. Jour. Jinju Nat'l Agr. & For. Tech. Coll. 20: 123-127 (in Korean).

Kim, Y.-D., K.-J. Kim, S.-H. Kim and H. T. Kim. 2007. Genetic diversity in three populations of *Hibiscus hamabo* (Malvaceae) in Jeju Island, Korea. Korean J. Pl. Taxon. 37(2): 115-129 (in Korean).

Kjølner, S., S. M. Såstad, P. Taberlet and C. Brochmann. 2004. Amplified fragment length polymorphism versus random amplified polymorphic DNA markers: clonal diversity in *Saxifraga cernua*. Molecular Ecology 13(1): 81-86.

Ledig, F. T. and M. T. Conkle. 1983. Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic. Torrey pine *Pinus torreyana* Parry ex Carr. Evolution 37: 79-85.

Lee. S. W., Y. M. Kim, W. W. Kim and J. M. Chung. 2002. Genetic variation of I-SSR markers in the natural populations of a rare and endangered tree species. *Oplopanax elatus* in Korea. Jour. Korean For. Soc. 91: 565-573.

Lee, Y. M. and W. Y. Lee. 2000. Illustrated rare and endangered species in Korea. Korea National Arboretum. P. 194 (in Korean).

McDermott, J. M. and B. A. McDonald. 1993. Gene flow in plant pathosystems. Annual Review of Phytopathology 31: 353-373.

Milligan, B. G, J. Leebens-Mack and A. E. Sttrand. 1994. Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. Molecular Ecology 12: 844-855.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.

Nybom, H. and I. V. Bartish. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 3: 93-114.

Palmer, J. D. 1986. Isolation and structural analysis of chloroplast DNA. Meth. Enzymol. 118: 167-186.

Schneider, S., D. Roessli and L. Excoffier. 2000. Arlequin V2.0. A software for population genetics data analysis. Dept. of Anthropology and Ecology, University of Geneva, Geneva.

Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. Bell System Tech. J. 27: 379-423.

Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236: 787-792.

Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy, Freeman San Francisco, CA. P. 573.

Sydes, M. A. and R. Peakall. 1998. Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. Molecular Ecology 7: 87-93.

Weller, S. G., A. K. Sakai and C. Straub. 1996. Allozyme diversity and genetic identity in *Schiedea* and *Alsinidendron* (Caryophyllaceae: Alsinoideae) in the Hawaiian Islands. Evolution 50(1): 23-34.

Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. Ann. Eugen. 15: 313-354.

Xiao, L.-Q., X.-J. Ge, X. Gong, G. Hao and S.-X. Zheng. 2004. ISSR variation in the endemic and endangered plant *Cycas guizhouensis* (Cycadaceae). Ann. Bot. 94: 133-138.

Xiao, M., Q. Li, L. Wang, L. Guo, J. Li, L. Tang and F. Chen. 2006. ISSR analysis of the genetic diversity of the endangered species *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying from Western Sichuan Province, China. J. Integrative Plant Biology 48: 1140-1146.

Yeh, F. C., R. C. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE. Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. Release 1.31. Edmonton: University of Alberta, Canada.