

國內 가시오갈피 群落的 遺傳變異 分析<sup>1</sup>  
洪庚洛<sup>2</sup> · 曹旻眞<sup>2</sup> · 朴裕憲<sup>3</sup> · 許成斗<sup>3</sup> · 洪鎔杓<sup>2</sup> · 廉範龍<sup>2</sup>

Genetic Variation of some Patches of *Eleutherococcus  
senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. in Korea<sup>1</sup>

Kyung-nak Hong<sup>2</sup>, Kyung-Jin Cho<sup>2</sup>, Yew-Heon Park<sup>3</sup>  
Sung-Du Hur<sup>3</sup>, Yong-Pyo Hong<sup>2</sup> and Bum-Yong Kang<sup>2</sup>

요 약

가시오갈피 군락의 유전변이를 파악하기 위하여 국내산 8개 군락과 러시아산, 중국산 각 1개 군락 등 총 10개 군락, 67개체에 대한 ISSR(inter-simple sequence repeats) 표지자 분석을 실시하였다. 국내산 가시오갈피의 ISSR 표지자 분석에서 76%의 다형성 증폭산물(primer당 평균 11.5개)을 확인했으며, 가시오갈피 수집종에 대한 RAPD 표지자 분석(Kim 등, 1998)의 다형성 비율 57%( primer당 평균 5.7개) 보다 높게 나타나서, ISSR 표지자 분석이 RAPD 표지자 분석보다 많은 정보를 제공할 수 있었다. 국내 가시오갈피 8개 군락의 유전변이분석에서 군락간 유전변이가 62.8%로 매우 높게 나타났는데, 이러한 결과는 자생지의 좁은 면적과 무성번식에 의한 군락 유지기작에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 본 연구의 제한된 시료수가 군락간 높은 유전변이를 설명하는 요인이 될 수도 있지만, 가시오갈피 군락의 번식특성과 분포양상을 고려할 때 유전적 해석에 미치는 영향은 미미할 것으로 생각된다. 유연관계분석에서는 자생지의 지리적 위치와 군락의 유전적 연관성을 찾을 수 없었으며, 이러한 경향은 AMOVA 결과 및 주성분분석에서도 확인할 수 있었다. 따라서 국내 가시오갈피의 유전자원보존을 위해서는 자생지 보호와 더불어 현지외(ex situ)보존에서는 군락당 소수 개체를 다수의 군락에서 선별하는 군락 위주의 선별이 효과적일 것으로 생각된다.

ABSTRACT

The aim of this study was to described the genetic structure of *Eleutherococcus senticosus* in Korea. We investigated 10 patches, which are eight Korean patches and two foreign patches come from Russia and China growing at Korean habitat, using ISSR(inter-simple sequence repeats) markers. In ISSR PCR, the overall percentage of polymorphic ISSR amplicons was 76% and the mean number of amplicons per ISSR primer was 11.5, which were higher than the RAPD results for the some cultivars collected in Korea(Kim *et al.*, 1998) ; 57% and 5.7, respectively. So ISSR markers provide more powerful tool than RAPD markers for the investigation of genetic variation in *E. senticosus*. There are relatively high genetic variation among patches as 62.8%, but low variation within eight Korean patches. Such pattern of genetic variation, which is not ordinary in other tree species, may be result from the narrow and limited habitats and the asexual

<sup>1</sup> 接受 2000年 8月 17日 Received on August 17, 2000.

<sup>2</sup> 임업연구원 유전생리과 Div. Genetics and Physiology, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea.

<sup>3</sup> 임업연구원 서부임업시험장 Sobu Forest Experiment Station, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea.

reproduction of this species at the natural stands in Korea. Although the small sample size in this study seemed to be resulted in the high genetic variation among patches, the overall genetic interpretation of this study might not be much affected on the basis of the characteristics of the distribution and the reproduction system of *E. senticosus*. Analysis of genetic distance between all pairs of the patches did not reveal any trends with regard to geographic distance, which was confirmed by the results obtained from AMOVA(analysis of molecular variance) and PCA(principal component analysis). These results suggest that, in addition to the preservation of the natural stands, the conservation of larger number of patches with small number of individuals per patch is more effective for the *ex situ* conservation and for maintaining the genetic diversity of *E. senticosus* in Korea than smaller patches with large number of individuals.

**Key words :** *Eleutherococcus senticosus*, ISSR, genetic variation, AMOVA, PCA

## 서 론

가시오갈피는 러시아 사할린과 우수리강 유역, 중국 동북 산간지역, 일본 북해도 동북부 등지에 분포하며, 우리 나라에는 백두대간의 고산지역에 소규모 군락으로 자생하고 있다(Lee, 1979). 우리 나라에서는 자생지에서 종자번식이 어렵고(Ahn, 1993 ; Kim等, 1997), 덕유산 자생지에서는 모든 개체가 영양번식을 한다고 보고되었다(Park, 1997). 가시오갈피는 강장작용과 피로회복, 인체 저항력 증진 등에 뛰어난 약리효과가 있어 예로부터 약제로 사용되고(Kim, 1997), 최근 그 수요가 늘어나면서 남획으로 인한 자생지 파괴가 심각하기 때문에 산림청(‘희귀 및 멸종위기 식물’)과 환경부(‘보호야생식물’)가 보호식물로 지정하여 보호에 나서고 있다. 가시오갈피의 주요 약효성분(Eleutheroside E와 Chlorogenic acid 등)의 함량은 자생지나 재배지에 따라서 유의한 차이를 나타내는데(Ahn等, 2000), 이러한 물질의 차이는 자생지의 환경조건과 더불어 유전적 배경에 기인하므로, 미래수요에 대한 대처 차원에서도 가시오갈피 자생지에 대한 정확한 유전적 평가가 필요하다. 그러나 이러한 시급한 보존요구 및 유전적 다양성 평가의 필요성에 반하여 유전자원 보존의 기준을 제시하는 자생지내 가시오갈피의 유전변이는 연구되지 않았었다.

ISSR(inter-simple sequence repeat) 표지자 분석은 SSR(simple sequence repeat ; microsatellite)의 반복구조를 이용하여 다형성을 생성하는 방법으로 농작물의 유전적 다양성 측정에 처음 사용되었다(Zietkiewicz等, 1994 ; Gupta等, 1994). ISSR 표지자 분석은 RAPD(randomly amplified

polymorphic DNAs) 표지자 분석과 유사한 방법으로 실험의 간편성과 증폭산물의 다형성을 유지할 수 있으며(Lu等, 1996), RAPD 표지자에 비하여 긴 primer와 높은 재결합(annealing) 온도를 사용하여 재현성이 우수하고(Godwin等, 1997), 염색체상에 고루 퍼져있어 정보의 편중이 적다(Zietkiewicz等, 1994). 또한 ISSR은 SSR을 primer 결합부위로 이용하므로 증폭산물에 대한 정보를 유추할 수도 있다(Wang等, 1998). 이러한 장점으로 인하여 ISSR 표지자는 종래 RAPD 표지자를 이용하던 분류(Prevost과 Wilkinson, 1999)나 유전변이 분석(Salimath等, 1995), 연관지도 작성(Kojima等, 1998), 유전자 탐색(Ratnaparkhe等, 1998) 등에 널리 쓰이고 있다.

본 연구는 ISSR 표지자 분석을 이용하여 국내 가시오갈피 군락의 유전변이를 파악하고, 가시오갈피의 유전자원 보존을 위한 군락 및 개체의 선발기준을 제시하며, 오갈피속의 타수종 및 가시오갈피의 산지간에 유전적 구별이 가능한 분자유전학적 표지자(DNA marker)의 선발방법을 알아보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시재료

본 연구는 우리 나라의 가시오갈피 주분포지인 강원도 일대의 가시오갈피 8개 군락(patch)을 대상으로 하였으며(Fig. 1), 산지구분을 위하여 중국산과 러시아산을 각각 1개 군락, 수종간 비교를 위하여 오갈피와 섬오갈피를 각 1개 군락씩 분석에 포함시켰다(Table 1). 가시오갈피와 오갈피 시료는 1997년에 전국의 자생지와 원산지에서 개체별로 삼수가 채취되어, 임업연구원 서부임업시험

장 춘천시협림의 구내 포지에서 자라고 있는 삼목묘에서 1998년 9월 19일에 성엽을 채취하였으며, 섬오갈피 시료는 제주임업시험장 구내 포지의 삼목묘에서 성엽을 채취하였다.

2. ISSR PCR

채취한 엽 시료에 액체질소를 붓고 곱게 마쇄한 후에 DNeasy™ Plant Mini Kit (QIAGEN Inc.)를 사용하여 total DNA를 분리하였다.

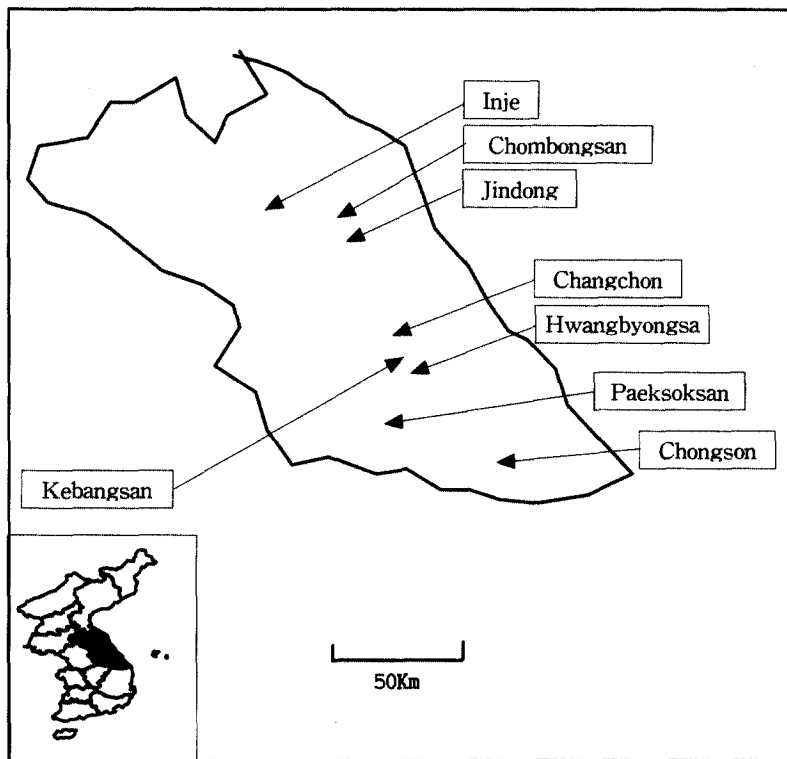


Fig. 1. Sampling sites of *Eleutherococcus senticosus* in Korea.

Table 1. Sample informations of Genus *Eleutherococcus* examined in this study.

Species	Common name	Origin	Patch name	No. of samples
<i>Eleutherococcus senticosus</i> Max.	Kasiogalpi	Korea	Chongson	4
			Paeksoksan	8
			Hwangbyongsan	9
			Kebangsan	5
			Changchon	9
			Jindong	9
			Chombongsan	7
			Inje	3
		China	CHINA	9
		Russia	RUSSIA	4
<i>E. sessiliflorus</i> Nakai	Ogalpi	Korea	Chunchon	5
<i>E. koreanum</i> Nakai	Seomogalpi	Korea	Chejudo	5

ISSR PCR은 반응용액 20 $\mu$ l당 20ng template DNA, 0.6 $\mu$ M ISSR primer, 0.6 Unit Thermostable DNA polymerase(Advanced Biotechnologies Ltd.), 20mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 75mM Tris·HCl (pH 8.8), 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 100 $\mu$ M dNTPs, 0.0025% BSA(Bovine Serum Albumine)의 용량으로 조성하였으며, ISSR primer는 UBC SSR Primer Set #9 (Nucleic Acid-Protein Service Unit, University of British Columbia)를 사용하였다.

증폭반응은 PTC-200 Thermal cycler(MJ Research Inc.)를 이용하여, 94 $^{\circ}$ C/5분 前處理 후에 '94 $^{\circ}$ C/30초 $\rightarrow$  52 $^{\circ}$ C/30초 $\rightarrow$  72 $^{\circ}$ C/60초'의 순환 조건으로 45회 반복하고, 72 $^{\circ}$ C/10분간 최종 증폭시켰다. 1.8% agarose gel에서 전기영동하여 증폭산물(ISSR band)을 확인하고, 증폭산물의 유무에 따라 '1'과 '0'으로 자료입력을 하였다.

### 3. 자료분석

유전변이량은 Excoffier等(1992)과 Huff等(1993)의 AMOVA(analysis of molecular variance) 방법으로 분석하였다. AMOVA는 각 개체간의 유전적 거리(genetic distance)를 변량으로 취급하는 일종의 枝分分析法(Nested design)에 해당하는데, 본 연구에서 유전적 거리는 Excoffier等(1992)의 방법을 이용하였다.

$$\text{Excoffier's distance} = n \times \left(1 - \frac{n_{11}}{n}\right)$$

\* n : 전체 band의 수, n<sub>11</sub> : 두 개체간 공통되는 band의 수

군락간 유전적 거리는 RAPDistance (ver 1.04 ; Armstrong等, 1994), 분산분석에는 AMOVA (ver 1.55 ; Excoffier, 1995), 주성분분석은 SAS/

STAT (ver 6.12 ; SAS Institute Inc., 1996) 프로그램을 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 오갈피屬의 ISSR PCR 결과

오갈피屬의 유전변이 분석을 위하여 UBC SSR Primer Set #9의 10개 primer에 대한 선발과정에서 다형성과 재현성을 고려하여 10개 primer (Appendix 1)를 선정하였다.

선발된 10개 ISSR primer를 이용한 실험결과, 오갈피屬 3개 수종의 77개 시료에 대해서 총 251개의 증폭산물을 얻었는데, 이중 다형성 증폭산물은 230개로 전체의 91.6%에 해당하였으며, primer당 평균 17.7개의 다형성 증폭산물을 얻을 수 있었다(Table 2). 가시오갈피 54개 시료의 196개 증폭산물에서는 76.0%(149개)의 다형성을 나타내어, primer당 평균 11.5개의 다형성 증폭산물을 얻었는데, 본 연구의 다형성 선발수준(97%)을 고려하면 비자나무의 ISSR 표지자 분석에서 보고된 다형성(95% 수준에서 다형성 72.6% ; Hong等, 2000)과 비슷하였다. 그러나 Kim等(1998)의 가시오갈피 수집종에 대한 RAPD 표지자 분석결과(다형성 비율 57.3%, primer당 평균 5.7개)에 비하여는 높게 나타났는데, 이러한 결과는 ISSR 표지자 분석이 RAPD 표지자 분석보다 많은 정보를 제공할 수 있음을 의미한다(Wolff等, 1995 ; Lu等, 1996).

한편 오갈피屬 3개 수종에 대한 실험에서는 Fig. 2와 같이 UBC Primer No. 836을 이용한 ISSR PCR 분석에서 가시오갈피, 오갈피, 섬오갈피를 확연히 구분하는 ISSR 증폭산물을 확인할 수 있었다.

### 2. 가시오갈피 군락의 유전변이 분석

국내 가시오갈피 8개 군락에서 채취한 54개 시

**Table 2.** Number of amplified bands revealed by PCR with the screened 10 ISSR primers in Genus *Eleutherococcus*.

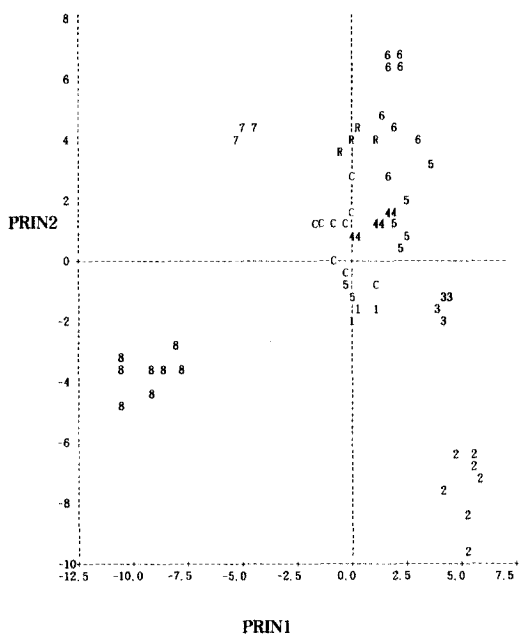
Samples	No. of bands	at polymorphic <sup>a</sup>	at monomorphic	Total
of 3 speices in Genus <i>Eleutherococcus</i>	Total (%) <sup>b</sup>	230 (91.6)	21 (8.4)	251 (100)
	Mean per primer <sup>c</sup>	17.7 $\pm$ 6.0	1.6 $\pm$ 1.8	19.3 $\pm$ 5.7
of <i>E. senticosus</i> only	Total (%)	149 (76.0)	47 (24.0)	196 (100)
	Mean per primer	11.5 $\pm$ 5.4	3.6 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 5.6

<sup>a</sup>: polymorphism at 97% criteria

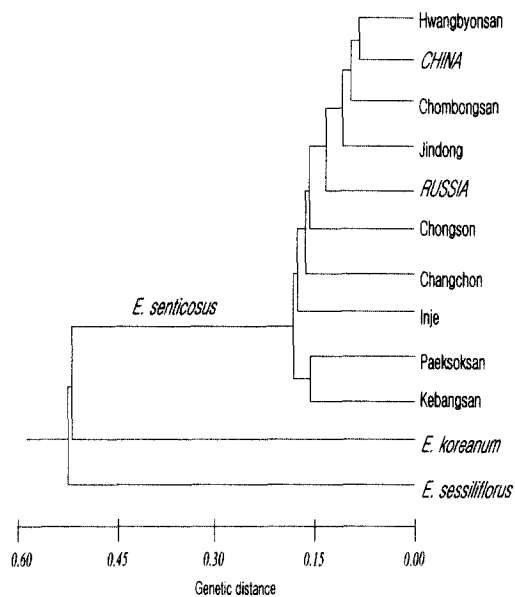
<sup>b</sup>: percentage in parenthesis

<sup>c</sup>: mean and standard error

**Fig. 2.** Inter-simple sequence repeat (ISSR) banding profiles for 3 species of Genus *Eleutherococcus* using UBC Primer No. 836. Arrows indicate bands distinguishing the species. (M : pGEM size marker).



**Fig. 3.** Scatter diagram of 67 samples of 10 patches in *Eleutherococcus senticosus* with 149 ISSR bands based on principal component 1 (PRIN1) and 2 (PRIN2). (R : *E. senticosus* in Russia, C : *E. senticosus* in China, numeric as 1 to 8 : *E. senticosus* in Korea, which are 1-Inje, 2-Paeksoksan, 3-Kebangsans, 4-Hwangbyongsan, 5-Chombongsan, 6-Jingdong, 7-Chongson and 8-Changchon, respectively).



**Fig. 4.** Dendrogram generated by UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) using 230 ISSR bands of 12 patches of 3 species in Genus *Eleutherococcus*, see Table 1.

**Table 3.** Analysis of molecular variance for 54 individuals of *Eleutherococcus senticosus* Max. in 8 Korean patches, using 146 ISSR bands.

Source of variation	df	SS	MS	Variance component	% total <sup>a</sup>	P-value <sup>b</sup>
Among patches	7	818.29	116.90	16.16	62.78	
Within patches	46	440.84	9.58	9.58	37.22	< 0.001
Total	53	1259.13				

<sup>a</sup> % total : the percentage of total variance contributed by each component

<sup>b</sup> P-value : the probability computed by nonparametric procedures from 1000 data permutation

료에 대한 AMOVA를 이용한 분산요소의 비교에서 유전변이의 37.2%만이 군락내에 존재하고, 62.8%가 군락간의 차이로 설명되었는데(Table 3), 일반적으로 임목집단의 동위효소 분석에서는 집단간 유전변이가 20% 미만이 대부분이고(Hamrick 등, 1992), RAPD 표지자를 이용한 우리나라의 사시나무(집단간 35.1%; Hong, 1997)나 구상나무(집단간 19.8%; Kim과 Hyun, 1999), ISSR 표지자를 이용한 비자나무(집단간 9.4%; Hong 등, 2000)의 집단간 유전변이에 비해서 가시오갈피의 경우는 군락간 유전변이가 매우 높게 나타났다. 비교 기술된 수종들이 '집단' 대상이었던 반면에 본 연구가 '군락' 수준에서 분석되었다는 점을 감안하더라도 유의할 사항이다. 이러한 결과는 가시오갈피가 천연림내에서는 대부분 근주에 의한 무성번식으로 군락을 형성함(Park, 1997)으로 군락내 개체들이 유전적으로 유사한 배경을 갖고, 시료를 채취한 가시오갈피 군락도 비교적 크지 않았기 때문에 군락간 유전변이량이 상대적으로 크게 나타난 것으로 생각된다. 또한 목본식물에서 유성번식에 비하여 무성번식이 우세할 경우에 집단간 변이가 증가하는 동위효소분석 결과(Usberti와 Jain,

1978; Sherman-Broyles 등, 1992; Hamrick 등, 1992)와 *Populus tremuloides*의 RAPD 표지자 분석에서 무성번식에 의하여 높은 임분간 변이가 발생한다는 보고(Tuskan 등, 1996)에서도 가시오갈피의 높은 군락간 유전변이가 무성번식에서 비롯된 것임을 추정할 수 있었다.

한편 가시오갈피의 번식습성외에도 본 연구에 사용된 각 군락의 시료수가 적어서 생기는 통계적 편기도 높은 군락간 변이의 요인으로 생각할 수 있으나, 소수의 클론(clone)으로 형성되어 있을 가능성이 큰 가시오갈피 군락에서 단순히 시료의 채취수만 늘린다면 분산요소의 분포가 일부 변하기는 하겠지만, 그러한 변동이 군락간에 높은 유전변이가 존재한다는 사실을 의미있게 변화시키지는 못할 것이다(Brown과 Briggs 1991). 그리고 주성분분석에서 동일 군락의 개체는 밀집 분포되는 경향(Fig. 3)에서도 알 수 있듯이 군락내 개체간보다는 군락간에 유전적 차이가 많이 존재하므로, 동일한 유전형의 반복 투입에 의한 군락간 유전변이의 감소효과는 미미할 것이다.

국내 가시오갈피 8개 군락에 중국산과 러시아산 군락을 더하여 총 10개 군락에 대한 AMOVA에

**Table 4.** Analysis of molecular variance for 67 individuals of *Eleutherococcus senticosus* with 10 patches of 3 origins (Korea, China and Russia) using 149 ISSR hands.

Source of variation	df	SS	MS	Variance component	% total <sup>a</sup>	P-value <sup>b</sup>
Among origins	2	113.85	56.93	-5.25	-24.12	
Among patches	7	818.29	116.90	15.94	73.24	
Among individuals	57	631.20	11.07	11.07	50.89	
Total	66	1563.34				
Among origins	2	113.85	56.93	3.11	12.08	< 0.001
Within origins	64	1449.49	22.65	22.65	87.92	
Among patches	9	932.14	103.57	13.99	55.82	
Within patches	57	631.20	11.07	11.07	44.18	

<sup>a</sup> % total : the percentage of total variance contributed by each component

<sup>b</sup> P-value : the probability computed by nonparametric procedures from 1000 data permutation

서는 군락의 상위그룹으로 원산지(origin)를 설정하고 분석한 경우에 분산요소가 -5.25로 나타났는데, 분산요소에서 陰의 값은 계급구조(hierarchical structure)의 설정이 유의하지 않는 경우로 취급한다(SAS Institute Inc., 1989). 또한 군락의 구별을 무시하고 3개 원산지(국내산-중국산-러시아산)만으로 가시오갈피를 분석한 결과에서 원산지간 유전변이가 12.1%로 원산지 구분을 무시한 경우(55.8%)에 비하여 매우 낮게 나타났다(Table 4). 따라서 원산지간에 유전적 구분은 군락간의 유전변이로 설명되고, 원산지간 유전변이 파악은 무의미한 것으로 판명되었다. 원산지 구분 없이 총 10개 군락을 분석한 결과는 군락간 유전변이가 55.8%로 국내산만의 유전변이(62.8%)보다 적게 나타났으나, 이는 국내산 8개 군락 시료수(총 54개체)의 1/4에 해당하는 13개체가 중국산-러시아산으로 추가된 것에 반하여 군락 특이 ISSR 증폭산물 증가분은 2%(3/149)에 불과하고, 또한 외국산의 증폭산물 대부분이 국내산 군락에 고루 분포되어 있어서 군락간 유전적 차이가 희석되는 효과가 나타났기 때문이다. 그리고 가시오갈피 군락에 대한 주성분분석 결과(Fig. 3)에서도 중국산과 러시아산은 국내산 군락과 혼재되어있는 양상을 보여서, 군락의 추가에 따른 유전적 차이의 희석 효과를 추측할 수 있다. 따라서 본 연구의 가시오갈피 군락에서 나타나는 높은 군락간 유전변이는 가시오갈피의 무성번식양식과 좁은 면적의 습한 고산지대라는 자생지 조건의 생육특성(Park, 1997)에서 기인하는 것으로 생각된다.

### 3. 가시오갈피 군락의 유연관계

군락간 유연관계를 파악하기 위하여 가시오갈피, 오갈피, 섬오갈피의 3개 수종, 12개 군락, 77개체에 대한 ISSR 표지자 실험에서 얻어진 230개 ISSR 증폭산물에 대한 군집분석을 실시하였다. 군집분석에서 가시오갈피 군락들은 오갈피나 섬오갈피와 별개의 단일군집을 형성하였으나, 가시오갈피 자생지의 지리적 위치와 군락의 유전적 연관성은 일치하지 않는 것으로 나타났다(Fig. 1; Fig. 4). 이것은 AMOVA 결과에서 원산지보다는 군락간 유전변이가 크게 나타난 결과(Table 4)와 주성분분석에서 러시아산과 중국산이 국내 군락들과 혼재된 양상을 보이는 결과(Fig. 3)와도 일치한다. 따라서 본 연구에서 조사된 국내산 가시오갈피 군락들은 각각이 독특한 유전적 구조를

보유하고 있으며, 군락간에도 상당한 유전적 차이를 보이고 있기 때문에 자생지의 보호와 더불어, 현지의 유전자원보존(*ex situ* conservation) 측면에서 군락당 다수의 개체를 수집하는 것보다는 군락당 소수 개체씩 다수의 군락을 보존하는 것이 효과적이라 생각된다(Center for Plant Conservation, 1991).

가시오갈피 10개 군락, 67개체에서 얻어진 149개 ISSR 증폭산물에 대한 주성분분석에서 제1 주성분의 설명력은 11.3%으로 매우 낮았으며, 제2 주성분까지의 누적에서 20.6%, 그리고 제5 주성분까지 포함하여도 40%를 넘지 못했다. 제1-제2 주성분을 이용한 주성분분포도(Fig. 3)에서 제1 주성분을 기준으로 창촌군락, 정선군락과 기타 군락들의 세 부류를, 그리고 제2 주성분에서 계방산 군락과 백석산군락간을 쉽게 구별하였다. 또한 제1 주성분의 고유벡터(Eigenvector)가 0.1 이상 되는 ISSR 증폭산물은 UBC Primer No. 825, 856과 880 primer에서 주로 나타났고, UBC Primer No. 866 primer는 제1, 제2 주성분에서 고르게 영향을 미치는 증폭산물을 생성하여 군락 구별에 효율적인 primer로 판명되었다. 이와 같이 주성분들을 조합하여 사용하면, 비록 10개 군락을 소수의 ISSR 표지자로 한번에 구별할 수는 없지만, 각 군락을 차례로 구별하고, 군락간 구별에 유용한 ISSR primer를 선별할 수도 있었다. 군락 구분에 이용하는 다형성 ISSR 표지자 수를 늘리면 통계적 변별력이 향상되는 대신에 실험비용 증가와 실험결과 해독에 어려움이 생겨 오히려 많은 증폭산물의 이용은 혼란의 요인이 될 수도 있는데(Broschat, 1979; Coppenolle等, 1993), 주성분분석을 이용하면 자료의 축약과 정리를 통하여 손쉬운 해석이 가능하였다.

### 결론

가시오갈피 군락의 유전변이를 파악하기 위하여 국내산 8개 군락과 러시아산, 중국산 각 1개 군락등 총 10개 군락, 67개체에 대한 ISSR 표지자 분석을 실시하였다.

국내산 가시오갈피의 ISSR 표지자 분석에서 76%의 다형성 증폭산물(primer당 평균 11.5개)을 확인했으며, 가시오갈피 수집종에 대한 RAPD 표지자 분석(Kim等, 1998)의 다형성 비율 57% (primer당 평균 5.7개)보다 높게 나타나서, 가시

오갈피의 경우에는 ISSR 표지자 분석이 RAPD 표지자 분석보다 많은 정보를 제공할 수 있었다.

국내 가시오갈피 8개 군락의 유전변이분석에서 군락간 유전변이가 62.8%로 매우 높게 나타났는데, 이러한 결과는 가시오갈피 자생지의 좁은 면적과 무성번식에 의한 군락 유지기작에 기인하는 것으로 생각된다.

또한 본 연구의 제한된 시료수도 높은 군락간 유전변이의 원인이 될 수 있지만, 가시오갈피 군락의 번식특성과 분포양상을 고려할 때 유전적 해석에 미치는 영향은 미미할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서 가시오갈피의 높은 군락간 유전변이는 무성번식과 좁은 면적의 습한 고산지대라는 자생지 조건에서 기인하는 것이라 하겠다.

가시오갈피의 유연관계분석에서는 자생지의 지리적 위치와 군락의 유전적 연관성을 찾을 수 없었으며, 이러한 유전구조의 지리적 불일치는 원산지 구분이 무의미하게 나타난 AMOVA 결과 및 일부 군락간에 혼재된 양상을 보인 주성분분포도에서도 유추할 수 있었다. 따라서 국내 가시오갈피의 유전자원보존을 위해서는 자생지 보호와 더불어 현지외(*ex situ*)에 군락당 소수 개체를 다수의 군락에서 선발하는 군락 위주의 보존이 효과적일 것이다.

가시오갈피 군락에 대한 주성분분석에서 소수의 ISSR 표지자로 國內·外産 10개 군락을 한번에 구별할 수는 없었지만, 여러 주성분을 조합하여 사용함으로써 군락간 구별에 유용한 ISSR primer를 선발할 수 있었다.

### 인용 문헌

- Ahn, J. K., W. Y. Lee, S. J. Oh, Y. H. Park, S. D. Hur, and M. S. Choi. 2000. The contents of Chlorogenic acid and Eleutheroid E in *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms. J. Korean For. Soc. 89(2) : 216-222. (in Korean).
- Ahn, S. D. 1993. Study on the propagation of *Acanthopanax* plants-II. Characteristics of seed and growth of embryo in stratifying treatment. Korean J. Medicinal Crop Sci. 1 (1) : 16-23. (in Korean).
- Amstrong, J., A. Gibbs, R. Peakall and G. Weiller. 1994. The RAPDistance Package (version 1.04). Distributed by the author. Australian National Univ., Canberra, Australia.
- Brown, A. H. D. and J. D. Briggs. 1991. Sampling strategies for genetic variation in *ex situ* collections of endangered plant species. In Genetics and Conservation of Rare Plants. Ed by D. A. Falk and K. E. Holsinger. Oxford University Press, Inc., NY, USA. p99-119.
- Broschat, T. 1979. Principal component analysis in horticultural research. HortScience 14 : 114-117.
- Center for Plant Conservation. 1991. Genetic sampling guidelines for conservation collections of endangered plants. In Genetics and Conservation of Rare Plants. Ed by D. A. Falk and K. E. Holsinger. Oxford University Press, Inc., NY, USA. p225-238.
- Coppenolle, B., I. Watanabe, C. Hove and S. McCouch. 1993. Genetic diversity and phylogeny analysis of *Azolla* based on DNA amplification by arbitrary primers. Genome 36 : 686-693.
- Excoffier, L., P. Smouse and J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131 : 479-491.
- Excoffier, L. 1995. AMOVA (version 1.55). Distributed by the author. Dept. of Anthropology and Ecology, Univ. Geneva, Switzerland.
- Godwin, I. D., E. A. B. Aitken and L. W. Smith. 1997. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) makers to plant genetics. Electrophoresis 18 : 1524-1528.
- Gupta M., Y-S. Chyi, J. Romero-Severson and J. L. Owen . 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. Theor. Appl. Genet. 89 : 998-1006.
- Hamrick, J., M. Godt and S. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. In Population Genetics of Forest Trees. Ed by W. Adams *et al.* Kluwer Academic Publishers Inc., Netherlands. p95-124.
- Huff, D., R. Peakall and P. Smouse. 1993. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.).



- Theor. Appl. Genet. 86 : 927-934.
14. Hong, K. N. 1997. Molecular phylogeny of section *Leuce* and genetic variation of natural populations of *Populus davidiana* in Korea based on RAPD marker analysis. Seoul National University, Ph.D. thesis paper. 87pp. (in Korean).
  15. Hong, Y. P., K. J. Cho, Y. Y. Kim, E. M. Shin and S. K. Pyo. 2000. Diversity of I-SSR variants in the populations of *Torreya nucifera*. J. Korean For. Soc. 89 (2) : 167-172.
  16. Kim, C. H. 1997. Systematics of *Eleutherooccus* and related genera (Araliaceae). Chonbuk National University, Ph.D. thesis paper. 263pp. (in Korean).
  17. Kim, I. S. and J. O. Hyun. 1999. Genetic variation in the natural populations of *Abies holophylla* Max. based on RAPD analysis. J. Korean For. Soc. 88(3) : 408-418. (in Korean).
  18. Kim, S., K. Y. Kim, M. S. Park, S. Y. Choi and S. J. Yun. 1998. Intraspecific relationship of *Eleutherooccus senticosus* Max. by RAPD markers. Korean J. Medicinal Crop Sci. 6(3) : 165-169. (in Korean).
  19. Kim, Y. J., H. K. Park, M. S. Park, S. Kim and K. G. Choi. 1997. Morphological and anatomical characteristics of five *Eleutherooccus* species. Korean J. Breed. 29(1) : 56-63. (in Korean).
  20. Kojima, T., T. Nagaoka, K. Noda and Y. Ogihara. 1998. Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 96 : 37-45.
  21. Lee, W. T. 1979. Distribution of *Acanthopanax* Plants in Korea. Korean J. Pharmacognosy 10(3) : 103-107. (in Korean).
  22. Lu, J., M. R. Knox, M. J. Ambrose, J. K. M. Brown and T. H. N. Ellis. 1996. Comparative analysis of genetic diversity in pea assessed by RFLP- and PCR-based methods. Theor. Appl. Genet. 93 : 1103-1111.
  23. Park, H. K. 1997. Morphology, germination and growth characteristics of Kasiogalpi (*Eleutherooccus senticosus* Max.). Chonbuk National University, MS thesis paper. 80pp. (in Korean).
  24. Prevost, A. and M. J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theor. Appl. Genet. 98 : 107-112.
  25. Ratnaparkhe, M., D. K. Santra, A. Tullu, and F. J. Muehlbauer. 1998. Inheritance of inter-simple sequence-repeat polymorphisms and linkage with a fusarium wilt resistance gene in chickpea. Theor. Appl. Genet. 96 : 348-353.
  26. Salimath, S. S., A. C. de Oliveira, I D. Godwin, and J. L. Bennetzen. 1995. Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers. Genome 38 : 757-763.
  27. Sherman-Broyles, S. L., J. P. Gibson, J. L. Hamrick, M. A. Bucher, and M. J. Gibson. 1992. Comparisons of allozyme diversity among rare and widespread *Rhus* species. Systematic Botany 17 : 551-559.
  28. SAS Institute Inc.. 1989. SAS/STAT User's Guide, version 6, 4th edition, volume 2. SAS Institute Inc., USA. 846 pp.
  29. Usberti, J. A., and S. K. Jain. 1978. Variation in *Panicum maximum* : a comparison of sexual and asexual populations. Botanical Gazette 139 : 112-116.
  30. Tuskan, G. A., K. E. Francis, S. L. Russ, W. H. Romme, and M. G. Turner. 1996. RAPD markers reveal diversity within and among clonal and seedling stands of aspen in Yellowstone National Park, USA. Canadian J. Forest Research 26 : 2088-2098.
  31. Wang, G., R. Mahalingam, and H. T. Knap. 1998. (C-A) and (G-A) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean, *Glycine max* (L.) Merr. Theor. Appl. Genet. 96 : 1086-1096.
  32. Wolff, K., E. Zietkiewicz, and H. Hofstra. 1995. Identification of *Chrysanthemum* cultivars and stability of DNA fingerprint patterns. Theor. Appl. Genet. 91 : 439-447.
  33. Zietkiewicz, E., A. Rafalski, and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20 : 176-183.

**Appendix 1.** The information on the ISSR primers used in this experiment.

UBC SSR Primer Number	Primer sequence	Number of amplified bands	Polymorphic rate (%)
807	(AG) <sub>8</sub> T	14	64
812	(GA) <sub>8</sub> A	18	89
822	(TC) <sub>8</sub> A	7	43
823	(TC) <sub>8</sub> C	18	89
825	(AC) <sub>8</sub> T	17	82
827	(AC) <sub>8</sub> G	10	40
835	(AG) <sub>8</sub> YC *	15	87
836	(AG) <sub>8</sub> YA	27	74
842	(GA) <sub>8</sub> YG	10	70
846	(CA) <sub>8</sub> RT *	9	67
856	(AC) <sub>8</sub> YA	22	77
866	(CTC) <sub>6</sub>	12	83
880	GGA (GAG) <sub>2</sub> AGG AGA	17	82
average		15	76

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