

## 남한지역 구상나무와 분비나무 집단에서의 nSSR 표지 유전 변이

홍용표<sup>1\*</sup> · 안지영<sup>1</sup> · 김영미<sup>1</sup> · 양병훈<sup>2</sup> · 송정호<sup>1</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원 산림유전자원과, <sup>2</sup>산림청 산림환경보호과

### Genetic Variation of nSSR Markers in Natural Populations of *Abies koreana* and *Abies nephrolepis* in South Korea

Yong-Pyo Hong<sup>1\*</sup>, Ji-Young Ahn<sup>1</sup>, Young-Mi Kim<sup>1</sup>,  
Byeong-Hoon Yang<sup>2</sup> and Jeong-Ho Song<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-847, Korea

<sup>2</sup>Forest Environment Conservation Division, Korea Forest Service, Daejeon 302-701, Korea

**요 약:** 구상나무 3개 집단과 분비나무 5개 집단에 존재하는 유전변이량과 집단간 유전분화를 추정하기 위해서 5개 nSSR 표지를 분석하였다. 유전자좌당 대립유전자가 과다하게 관찰된 1개 유전자좌를 제외한 나머지 유전자좌를 대상으로 통계분석을 실시한 결과, 평균 이형접합체 빈도 기대값( $H_e$ )이 구상나무는 0.292, 분비나무는 0.220으로 계산되어 구상나무의 유전변이량이 더 큰 것으로 나타났다. 집단내 고정지수( $F$ )는 구상나무가 평균 0.065, 분비나무가 평균 0.095로 양의 값을 나타내어 두 수종 공히 집단 내 동형접합체가 H-W 평형상태에서의 기대 개체수 보다 많은 것으로 나타났다. 집단 간 유전분화를 분석한 결과, 분비나무 집단들에 비해서( $F_{ST}=0.039$ ) 구상나무 집단간 유전분화( $F_{ST}=0.063$ )가 더 심화된 것으로 나타났다. 두 수종간의 유전분화( $F_{PT}$ )는 0.049로 나타나 유전변이의 대부분이 두 수종 간에 공유되고 있음이 확인되었다. 집단간 유전적 유연관계를 분석한 결과, 구상나무의 2개 집단(덕유산, 한라산)이 분비나무 집단들과 분리되어 나타났으나 지리산집단은 분비나무 집단들과 그룹을 형성하고 있는 것으로 나타났다. 결론적으로 분석된 대부분의 집단들이 빙하기 이후의 기온 상승으로 산 정상부에 국소적으로 남겨지게 됨에 따라 집단 크기가 점진적으로 감소되어 초래된 유전적 부동과 근친교배의 결과 동형접합체가 증가되었으며, 두 수종의 종분화 과정이 비교적 최근에 일어났으나 아직 충분히 분화되지 못한 상태인 것으로 추정할 수 있었다.

**Abstract:** To estimate level of genetic variation and genetic differentiation among populations of 3 populations in *Abies koreana* and 5 populations in *Abies nephrolepis*, 5 nSSR markers were analyzed. Except 1 locus where too many alleles were observed excessively, population genetic parameters were recalculated with 4 loci. Mean expected heterozygosities ( $H_e$ ) were 0.292 in *A. koreana* and 0.220 in *A. nephrolepis*, respectively. In both species, positive fixation coefficient was estimated ( $F=0.065$  for *A. koreana* and  $F=0.095$  for *A. nephrolepis*), which suggests that there is an excess of homozygotes relative to Hardy-Weinberg expectations within populations. Relatively high degree of population differentiation was observed in *A. koreana* ( $F_{ST}=0.063$ ), compared to that of *A. nephrolepis* ( $F_{ST}=0.039$ ). From 3-level Hierarchical estimation of  $F$ -statistics, only 4.9% of the genetic variation was allocated between species ( $F_{PT}$ ), which suggested that most of genetic variation was shared between two species. On the basis of results from analysis of genetic relationships among populations, 2 populations of *A. koreana* (Mt. Halla and Mt. Deogyu) were genetically distinct from the populations of *A. nephrolepis* but a population of Mt. Jiri was allocated within a group of populations of *A. nephrolepis*. Populations of both species seemed to have undergone genetic drift due to gradual decrease in population size induced by global warming after the last glacier, which resulted in increase of homozygotes by inbreeding. It could be also postulated that these species might be diverged recently and It is likely that the two species have not fully speciated yet.

**Key words :** *Abies koreana*, *Abies nephrolepis*, nSSR, genetic diversity, genetic structure

\*Corresponding author  
E-mail: yphong@forest.go.kr

## 서 론

구상나무(*Abies koreana* E.H. Wilson), 분비나무(*Abies nephrolepis* Maxim.)는 우리나라에 자생하는 전나무속 (Genus *Abies*) 수종이다. 구상나무는 Wilson에 의해 제주도에서 최초 발견되어 새로운 종으로 명명되었고(Wilson, 1920) 한반도 남부지역인 덕유산, 지리산, 가야산, 한라산 고산지대에 분포한다(임중환 등, 2007). 현재 구상나무는 생태적으로 건전한 숲을 형성하지 못하고 개체수가 감소되고 있어 2006년 국제자연보존연맹(IUCN)의 희귀 및 멸종위기 식물 분류군에서 위협근접종으로 등재된 바 있다(송정호 등, 2007; 김찬수 등, 2007). 한라산과 지리산의 구상나무의 나이테 성장쇠퇴도를 조사한 결과, 조사 대상의 약 70%가 성장쇠퇴현상을 보이고 있다고 보고하면서 쇠퇴의 원인을 겨울 기온의 상승으로 광합성에 필요한 수분 공급의 불균형 때문이라 보고 하였다(구경아 등, 2001). 20세기 후반기에 들어와서 생장이 둔화되고 상당히 많은 수의 나무들이 고사되고 있으며 우점범위 또한 줄어들고 있는 실정으로 유묘나 치수의 수가 다른 수종에 비해 적어 발아와 치수생장이 억제되고 있다고 보고된 바 있다(김갑태와 추갑철, 2000). 분비나무는 한반도 중부 이북, 만주, 시베리아 지역까지 널리 분포하는 고산 수종으로 펄프재나 장식용으로 사용되는 경제수종으로 우리나라에서는 속리산 이북의 해발 700 m 이상에서 생육하는데 혼효림 형태로 고산 지역에 고립되어 분포한다. 펄프재 및 기타 목재로 많이 이용되는 등 경제적으로 가치가 높아 미래를 위해 보존대책이 절실한 상황이다(Lee *et al.*, 2008). 고산대 및 아고산대 산림생태계는 자연생태계의 잔존임분으로 과거 넓은 산록부에서 이주한 종과 빙하기에 고위도 지방으로부터 이주한 유존종들로 이루어져 있다. 이러한 종은 서식지의 열악한 기후 조건 때문에 상대적으로 생산력이 낮아 식생 간섭과 파괴가 진행되면 원래 상태로의 회복이나 복원이 거의 불가능하거나 긴 시간을 필요로 한다(조현제 등, 2004).

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP), Inter Simple Sequence Repeats (ISSR), Simple Sequence Repeats (SSR) 또는 microsatellite) 등과 같이 핵 DNA 상의 변이를 분석하는 표지들과 chloroplast DNA (cpDNA)와 mitochondria DNA (mtDNA) 처럼 세포소기관에 존재하는 genome 상의 변이를 분석하는 다양한 DNA 표지들이 개발되어 집단유전학 분야에서 사용되고 있다(Liewlaksaneeyanawin *et al.*, 2004). 이중 RAPD, ISSR과 같은 표현형상 우성표지(dominant marker)들은 2배체 인 핵 DNA를 대상으로 분석을 수행할 경우 gel 상에서 모든 유전자형의 파악이 불가능하여 별도의 통계처리를 통해 유전변이량을 추정

해야하는 단점이 있다(이석우 등, 1997). Nuclear Simple Sequence Repeats(nSSR)는 핵 genome 상에 소수의 염기 서열이 반복되는 형태로 존재하는 부위로 반복단위 수에 따른 변이체가 다양하게 관찰된다(Weiguo *et al.*, 2007). 대부분의 nSSR 부위는 전체 genome 상에 분포하고 있고 다른 부위에 비해 돌연변이율이 높기 때문에 개체별 차이를 관찰하기 용이하며 집단을 대상으로 한 유전변이 연구에 많이 사용되고 있다(Altukhov and Salmenkova, 2002). 표현형상 우성표지인 RAPD, ISSR 과는 다르게 2배체 DNA를 대상으로 한 분석으로부터 동형접합체 및 이형접합체의 표현형을 식별할 수 있는 공우성(codominant) 특성을 가지며, 유사 종간에 동일한 marker를 공유할 수 있어 적용범위가 넓은 장점이 있다(Struss and Plieske, 1998). 현재까지 구상나무와 분비나무에 대해서는 주로 외부 형태적 형질과 관련된 분류학적 연구가 이루어졌으며(이강영과 김현권, 1982; 김영두와 김삼식, 1983; 송정호 등, 2007; 송정호 등, 2008), 유전변이에 대한 연구는 우성 DNA 표지(dominant DNA marker)를 이용하여 이루어진 바 있다(김인식과 현정오, 2000; 강범용, 2002; Lee *et al.*, 2008). 우성표지의 경우 2배체 식물을 분석하는데 유전자형의 구별이 이루어질 수 없기 때문에 집단유전 통계량 계산 시에 제약이 따르므로 분석결과 해석 시 많은 주의가 요구된다(Lynch and Milligan, 1994; Nybom and Bartish, 2000; Lybom, 2004). 엽록체 DNA 내 *trn-L/trn-V*와 *trn-F/trn-T* 부위의 변이체인 haplotype 분석을 통해서 구상나무 3개 집단(한라산, 덕유산, 지리산)과 분비나무 1개 집단(태백산)에 대한 연구가 수행된 바 있는데(Kormutak *et al.*, 2007), 엽록체 DNA는 핵 DNA에 비해 돌연변이율이 낮고 한쪽 부모로만 유전되어 재조합이 발생되지 않아 수종 및 개체 간 변이가 핵 DNA보다 적은 특성이 있기 때문에 종 및 집단분화가 적게 관찰되는 수종을 대상으로한 연구에서는 정밀한 결과를 기대할 수 없는 약점이 있다(홍용표 등, 2006). 따라서 본 연구는 공우성 표지(codominant DNA marker)인 nSSR 표지 분석을 통하여 구상나무와 분비나무의 유전다양성을 파악하고 두 수종의 유전 분화도와 유연관계를 알아보고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 채취 및 DNA 추출

구상나무는 3개의 집단(한라산, 지리산, 덕유산)에서, 분비나무는 5개의 집단(계방산, 오대산, 설악산, 소백산, 태백산)에서 침엽을 채취하였다. 각 집단 당 20개체를 선발하여 시료를 수집하였으며 개체간 거리는 30 m 이상의 간격을 두어 유연관계에 있는 개체가 선발되는 것을 최소화하였다. 채취된 침엽은 일정한 분량(30 mg/개체)을 파쇄

기를 이용하여 분쇄한 후 DNeasy Plant Mini kit (QIAGEN 사)를 이용하여 DNA를 추출하였다.

### 2. nSSR 표지 분석

*Abies alba*에서 개발된 13개의 nSSR primer (Cremer *et al.*, 2006)를 이용하여 예비실험을 통해 다형성이 관찰된 5개의 primer를 선발하여 사용하였다. 각 primer의 forward sequence의 5'에는 19 bp 길이의 M13 oligonucleotide를 붙여 주어 PCR 과정에서 합성된 DNA template를 이용한 추가적인 DNA 합성 과정에 형광 dye FAM/HEX를 붙인 M13 FAM/HEX dye-labeled primer (5'-CACGACGTTG-TAAAACGAC-3')가 DNA template에 붙게 하였다. 증폭 산물은 11 µL의 총 반응액에 14 ng Template DNA, 0.2 µM Primer mix, 1×reaction buffer, 0.1 mM dNTP mix, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.04 µM M13(-29) FAM/HEX dye-labeled primer, 1U *Taq* polymerase가 들어가도록 조성하였다. 증폭을 위해 94°C에서 초기 열변성 5분, 94°C에서 열변성 1분, 60°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 2분간 증폭이 이루어지는 과정을 10회 반복시킨 다음 94°C에서 열변성 30초, 50°C에서 annealing 30초, 72°C에서 1분간의 증폭이 이루어지는 과정을 25회 반복한 후 72°C에서 최종 증폭시켰다. 증폭산물의 분석은 Prism 3130 xL Genetic Analyzer (ABI)를 이용하되, 증폭산물 크기 결정을 위해 Gene Scan™-500 Rox™ size standard를 같이 넣어주었다. 증폭산물 분석은 Gene Mapper analysis software를 이용하였으며 증폭산물 크기를 기준으로 대립유전자를 확인하고 유전자형을 결정하였다.

### 3. Data 분석

각 개체들 별 유전자형 자료를 기초로 다형적 유전자좌 비율(*P*), 유전자좌당 대립유전자의 수(*A*), 유효대립유전자의 수(*A<sub>e</sub>*), 이형접합도 관찰치(*H<sub>o</sub>*), 이형접합도 기대치(*H<sub>e</sub>*)를 계산하였다. 대립유전자 빈도 분포의 집단간 동질성 검정은  $\chi^2$  검정 및 *G* 검정에 의해 수행되었으며, Wright의 (1978) *F* 통계치(*F<sub>IS</sub>*, *F<sub>IT</sub>*, *F<sub>ST</sub>*)와 Weir(1990)의 방법에 따른 3개의 계층구조(중간, 중내 집단간, 집단내 개체간)에 따른 분화정도를 추정하고 Nei(1972)의 유전적 거리를 구

**Table 1. Nuclear SSR primer sequences used in this study.**

Primer		DNA Sequences (5'→3')
SF 1	F	TTG ACG TGA TTA ACA ATC CA
	R	AAG AAC GAC ACC ATT CTC AC
SF b5	F	AAA AAG CAT CAC TTT TCT CG
	R	AAG AGG AGG GGA GTT ACA AG
SF 50	F	CAT TTG GTG CGG TTC ATT TC
	R	AGT GGC ATT TCA CTT ATT GG
SF 83	F	AGC AGC ATA ACC AAG GGT CAA
	R	TCT GAA TTT CTA AAG GCG GC
SF 324	F	TTT GAA CGG AAA TCA AAT TCC
	R	AAG AAC GAC ACC ATT CTC AC
M13 labeled primer (FAM/HEX)-CACGACGTTG-TAAAACGAC		

하였다. 이상의 통계 분석은 POPGENE 1.31(Yeh *et al.*, 1999) 프로그램을 이용하였다. 유전자좌에서의 null allele 존재 유무를 확인하기 위하여 Micro-Checker 프로그램 (Oosterhout *et al.*, 2004)을 이용하였고, 최근의 분포집단 감축으로 인한 유전적 부동(genetic drift) 영향 여부를 검증하기 위해서 BOTTLENECK 프로그램(Piry *et al.*, 1999)을 이용하여 Wilcoxon sign-rank test를 통한 유의성 검증을 실시하였다. 집단 간 유연관계를 분석하기 위해 Nei의 유전적 거리를 기초로 Phylip v3.5(Felsenstein, 1993)를 이용해서 UPGMA법에 의해 Dandrogram을 얻었다. 집단 간 지리적 거리와 유전적 거리에 따른 상관관계를 검증하기 위해서 IBD(Isolation by Distance) 프로그램을 이용하여 Mantel test를 수행했다.

### 결과 및 고찰

구상나무의 다형적 유전자좌 비율(*P*)은 60%~100%로 평균 73.3%, 집단 별 대립유전자 수(*A*)는 2.8개(한라산)~3.8개(지리산)로 평균 3.4개, 유효대립유전자 수(*A<sub>e</sub>*)는 1.7개(한라산)~2.4개(덕유산)로 평균 2.0개로 나타났다. 이형접합도 기대치(*H<sub>e</sub>*)는 평균 0.381 [0.334(지리산)~0.405(한라산)]로 이형접합도 관찰치(*H<sub>o</sub>*=0.317) 보다 높았다(Table 2). 분비나무의 다형적 유전자좌 비율(*P*)은 60%~100%로 평균 68%, 집단 별 대립유전자 수(*A*)는 3.2개(소백산)~3.8

**Table 2. Genetic diversity in natural population of *A. koreana* based on 5 and 4 loci (exception of SF50 locus).**

Population	N	A		<i>A<sub>e</sub></i>		<i>P</i> (%)		<i>H<sub>o</sub></i>		<i>H<sub>e</sub></i>	
		5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci
Mt. Deogyo	20	3.6	2.3	2.4	1.7	60	33.3	0.280	0.225	0.404	0.300
Mt. Jiri	20	3.8	2.5	1.9	1.3	60	33.3	0.280	0.213	0.334	0.226
Mt. Halla	20	2.8	2.3	1.7	1.6	100	100	0.390	0.350	0.405	0.349
Mean	20	3.4	2.4	2.0	1.4	73.3	55.6	0.317	0.263	0.381	0.292

*A*=number of alleles per locus; *A<sub>e</sub>*=effective number of alleles per locus; *P*=percentage of polymorphic loci; *H<sub>o</sub>*=observed heterozygosity; *H<sub>e</sub>*=expected heterozygosity

**Table 3. Genetic diversity in natural population of *A. nephrolepis* based on 5 and 4 loci (exception of SF 50 locus).**

Population	N	A		$A_e$		P(%)		$H_o$		$H_e$	
		5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci	5 loci	4 loci
Mt. Gyeong	20	3.4	2.3	1.8	1.4	60	50	0.300	0.238	0.313	0.214
Mt. Odae	20	3.8	3	1.9	1.4	100	100	0.206	0.170	0.346	0.244
Mt. Seorak	20	3.4	3	1.5	1.4	60	50	0.190	0.163	0.282	0.213
Mt. Sobaek	20	3.2	1.8	2.3	1.4	60	50	0.250	0.200	0.342	0.214
Mt. Taebaek	20	3.6	2.3	1.9	1.4	60	50	0.170	0.150	0.324	0.213
Mean		3.5	2.5	1.9	1.4	68	60	0.223	0.184	0.321	0.220

A=number of alleles per locus;  $A_e$ =effective number of alleles per locus; P=percentage of polymorphic loci;  $H_o$ =observed heterozygosity;  $H_e$ =expected heterozygosity

개(오대산)로 평균 3.5개, 유효 대립유전자 수( $A_e$ )는 1.5개(설악산)-2.3개(소백산)로 평균 1.9개이었다. 이형접합도 기대치( $H_e$ )는 평균 0.321 [0.282(설악산)-0.346(오대산)] 로 이형접합도 관찰치( $H_o=0.223$ ) 보다 높았다(Table 3). 5개 유전자좌에서 추정된 고정계수(fixation coefficient) 값은 구상나무가 평균 0.111, 분비나무가 평균 0.176로 H-W평형상태일 때 보다 동형접합체 빈도가 이형접합체보다 빈도보다 높은 것으로 나타났다(Table 5). 동형접합체 빈도가 높게 관찰된 현상에 대해 여러 요인들이 있을 수 있는데 본 연구에 사용된 microsatellite 표지 사용시 null allele들로 인해 실제보다 동형접합체가 과다하게 관찰될 가능성이 높을 수 있다고 보고되고 있어(Echt *et al.*, 1999, Chapuis and Estoup, 2007), 본 연구에 사용된 모든 유전자좌에서 확인된 대립유전자들을 대상으로 null allele 존재 유무를 확인한 결과 5개의 유전자좌들 중 SF50 유전자좌에서만 한라산 집단을 제외한 나머지 집단들 내에 null allele의 존재 가능성이 확인되었고 나머지 유전자좌에서는 null allele이 확인되지 않았다(데이터 미제시). 그리고 유전자좌들 중 SF1과 SF324 에서 고정계수 값이 음의 값을 나타내거나 0의 값을 나타내고 있어 유전자좌 간 차이가 큰 것으로 나타났다(Table 5). 따라서 집단 당 분석된 20개체에서 관찰된 유전자형 종류가 각 집단내 실제로 존재하는 전체 유전자형에 대한 대표성의 결여로 인해서 야기된 오류일 가능성이 높은 것으로 생각되었다. 일반적으로 집단 내 유전변이량을 정확하게 추정하기 위해서는 생

**Table 4. Observed number of alleles in each population.**

Population	SF1	SFb5	SF324	SF50	SF83	Species
Mt. Deogyo	1	4	1	9	3	<i>A. koreana</i>
Mt. Jiri	1	6	1	9	2	<i>A. koreana</i>
Mt. Halla	2	3	2	5	2	<i>A. koreana</i>
Mt. Gyeong	1	4	1	8	3	<i>A. nephrolepis</i>
Mt. Odae	2	5	3	7	2	<i>A. nephrolepis</i>
Mt. Seorak	1	5	1	5	5	<i>A. nephrolepis</i>
Mt. Sobaek	1	3	1	9	2	<i>A. nephrolepis</i>
Mt. Taebaek	1	4	1	9	3	<i>A. nephrolepis</i>
Mean	2	4.25	3	7.63	5	

성된 모든 유전자형을 반복적으로 확인할 수 있어야 하는데 nSSR 표지는 유전자좌 당 관찰되는 대립유전자 수가 다른 표지에 비해 많기 때문에 이들의 조합에 의해서 생성 가능한 유전자형의 수도 많아지게 된다. 그러나 시료를 채집하는 과정에서 대상이 되는 집단 내 개체수를 충분히 확보하지 못하게 되면 모든 유전자형을 고르게 확인할 수 없는 sampling error가 발생할 수 있다. 예를 들면 이번 연구에서 확인된 최대 대립유전자 수는 SF50 유전자좌에서 관찰된 14개(집단당 5-9개, 평균 7.63개; Table 4)로 평균 대립유전자 수인 7개로부터 임의조합에 의해서 이론적으로 생성이 가능한 유전자형 조합의 수는 총 28개이다. 그러나 본 연구에서는 집단 당 20개체만을 대상으로 분석을 수행했기 때문에 이들 28개 유전자형을 집단별로 모두 관찰하기조차 불가능하다. 따라서 유전자형

**Table 5. Estimates of Wright's F statistics and Fixation coefficient(F) based on 5 and 4 loci (exception of SF 50 locus).**

Locus	<i>A. koreana</i>				<i>A. nephrolepis</i>			
	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	F	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	F
SF1	-0.071	-0.071	0.143	-0.062	-0.027	-0.005	0.021	0
SFb5	0.170	0.170	0.053	0.177	0.225	0.240	0.020	0.241
SF324	-0.250	-0.071	0.143	-0.062	-0.041	-0.008	0.032	0
SF50	0.260	0.287	0.037	0.293	0.465	0.497	0.060	0.499
SF83	0.175	0.203	0.034	0.210	0.085	0.134	0.053	0.138
Mean (5 loci)	0.148	0.193	0.053	0.111	0.288	0.322	0.049	0.176
Mean (4 loci)	0.076	0.135	0.063	0.065	0.078	0.125	0.039	0.095

sampling error를 줄이기 위해서 집단 별 대립유전자 수가 과다하게 관찰된 SF50 유전자좌를 제외하고 나머지 유전자좌만을 대상으로 집단유전 통계분석을 수행한 결과 구상나무의 다형적 유전자좌 비율( $P$ )은 평균 66.7%, 이형접합도 기대치( $H_e$ )는 평균 0.292로 나타났으며, 분비나무의 다형적 유전자좌 비율( $P$ )은 평균 60%, 이형접합도 기대치( $H_e$ )는 평균 0.220로 나타났다(Table 2, Table 3 등). 구상나무와 분비나무를 대상으로 기존에 수행된 연구에서 RAPD 표지 분석결과 구상나무의 유전다양성( $H_e$ )은 0.418로 보고되었으며(김인식과 현정오, 2000), ISSR 표지 분석결과 구상나무의 유전다양성( $H_e$ )은 0.237, 분비나무는 0.240로 보고된 바 있다(Lee *et al.*, 2008). 비록 동일한 수종을 대상으로 DNA 변이분석이 이루어지더라도 분석 표지의 종류에 따라 관찰되는 변이체의 특성이 다르고 이들 변이체에 의해서 계산되는 이형접합도의 추정 값들도 달라질 수 있다(홍용표 등, 2006). 따라서 기존의 연구에서 분석된 표현형상 dominant marker의 특성을 지닌 RAPD와 ISSR 표지로부터 계산된 수치와 본 연구에서 분석된 codominant marker인 nSSR 표지로부터 계산된 결과를 직접 비교하는 것이 다소 불합리한 면이 있으나 두 수종간의 유전다양성 정도를 비교해 볼 때 ISSR 표지 분석결과와 달리 구상나무가 분비나무에 비해 유전다양성이 다소 높은 것으로 나타났다. Codominant 특성을 지닌 nSSR 표지가 분석된 다른 침엽수종의 연구결과를 살펴보면 *Picea abies*의 유전다양성은 0.815(Maghuly *et al.*, 2006), *Pinus sylvestris*의 유전다양성은 0.810(Scarfi *et al.*, 2009), *Pinus pinaster*의 유전다양성은 0.734(Mariette *et al.*, 2001), *Picea jezoensis*의 유전다양성은 0.406(Moriguchi *et al.*, 2009), *Abies ziyuanensis*의 유전다양성은 0.337(Tang *et al.*, 2008)로 보고되어 구상나무와 분비나무가 다른 침엽수종들에 비해 상대적으로 유전변이가 적게 존재하는 것으로 나타났다. 집단 내 유전변이는 그 집단의 생식기 원이나 지리적 분포 특성, 교배양식의 영향을 받으며 임목의 경우 지리적 분포 범위와 유전다양성이 높은 상관성을 가진다고 알려져 있다(Hamrick *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 2006; Korshikov *et al.*, 2005). 다른 침엽수종들에 비해 낮은 유전변이를 보유하고 있는 것으로 나타난 구상나무와 분비나무 같은 전나무속 수종은 한대성 수종으로 한반도에서는 플라이토세 빙하기 이후에 한랭한 환경에 적응하면서 제4기 플라이토세 후기에 분포 범위가 확장되었다가 기온이 상승하면서 고산지대로 서식지가 한정 되어 온 것으로 알려져 있다(Kong, 1998). BOTTLENECK 프로그램을 이용하여 Wilcoxon sign-rank test를 통한 유의성 검증을 실시한 결과, 통계적으로 유의한 집단을 관찰할 수 없었다(데이터 미제시). 따라서 현재 유전변이 분포양상은 최근의 급격한 분포집단 크기 감소에 의해 초래되었다기 보

다는 마지막 빙하기까지 생존했던 구상나무와 분비나무 집단들이 빙하기 이후 현재 상태에 이르는 과정에서 저지대 집단들이 개화결실 능력의 약화로 후대 생식에 어려움을 겪음에 따라 서서히 소멸되었고 현존하는 고산지대에 잔존된 집단의 경우에도 집단의 크기가 점진적으로 감소되면서 발생하는 유전적 부동의 영향을 피할 수 없었던 간접증거라고 생각된다. 집단간 유전분화 정도를 나타내는  $F_{ST}$ 값은 0.053(구상나무)과 0.049(분비나무)로 나타났으며 null allele가 관찰된 SF50을 제외한 4개의 유전자좌에서 추정된 집단 간 유전분화 정도를 나타내는  $F_{ST}$ 값은 0.063(구상나무)과 0.039(분비나무)로 나타나 구상나무의 경우 전체 유전변이 중 6.3%, 분비나무의 경우 3.9%만이 집단 간 유전적 차이에 기인한 것이고 나머지는 전체 집단 내 개체 간에 공유하는 유전변이에 기인한 것으로 나타났다(Table 5). SF50 유전자좌를 포함시켰을 때와 포함시키지 않았을 때  $F_{ST}$ 값의 차이는 0.01로 유전분화정도는 1%밖에 차이가 나지 않았다. 기존에 연구된 RAPD 분석결과(구상나무;  $G_{ST}=0.081$ , 김인식과 현정오, 2000)와 ISSR 분석결과(구상나무;  $G_{ST}=0.099$ , 분비나무;  $G_{ST}=0.082$ , Lee *et al.*, 2008)보다 다소 낮은 수치이며 분비나무 집단 간 보다 구상나무 집단 간에 유전적으로 더 차이가 나는 것으로 나타났는데 이는 기존의 ISSR 분석결과와 일치하나 그 차이가 더 크게 나는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 알려진 임목집단 간 유전적 차이는 10% 이하로 나타나고 대부분의 유전변이가 집단 간에 공유되고 있다는 기존의 결과와 일치한다(Hong *et al.*, 2004). 일반적으로 분포범위가 넓고 연속적일 경우 유전분화가 적은 반면 분포범위가 좁고 연속적이지 못할 경우 유전분화가 많이 일어나는 것으로 알려져 있으며(Tang *et al.*, 2008), 구상나무와 분비나무의 유전분화 정도는 고산 및 아고산 지역에 고립된 상태로 소수의 집단들이 분포하고 있는 주목(ISSR 분석;  $\phi_{ST}=0.102$ , Kwon and Kim, 2002) 및 가문비나무(nSSR 분석;  $F_{ST}=0.102$ , Moriguchi *et al.*, 2009)와 비교하면 작은 유전분화 양상을 보였으나 유전분화의 정도에만 국한해서 비교하면 구상나무와 분비나무는 가문비나무와 빙하기 이후에 유사한 진화의 과정을 겪었을 것으로 생각되며 현존하는 집단들이 고립되어 분포하고 있지만 집단들 간 분화시기가 이들 종 진화의 역사시기에 비추어 상대적으로 짧은 것으로 생각된다.  $F$ 통계치(Weir, 1990)를 이용하여 계층적 구조에 따른 분화 정도를 추정 한 결과 종내 집단 간 유전적 분화정도( $F_{IT}=0.210$ )에 비해 종 간 유전적 분화정도가 매우 작게 나타나( $F_{PT}=0.049$ ) 아직까지 이 두 수종의 종 분화가 충분히 이루어지지 못한 것으로 추정되었다(Table 6).

집단 간 유전적 유연관계를 분석한 결과, 구상나무 집



Figure 1. Location of populations sampled for nSSR analysis in *A. koreana* and *A. nephrolepis* in South Korea (1: Mt. Deogyu, 2: Mt. Jiri, 3: Mt. Halla, 4: Mt. Gyebang, 5: Mt. Odae, 6: Mt. Seorak, 7: Mt. Sobaek, 8: Mt. Taebaek).

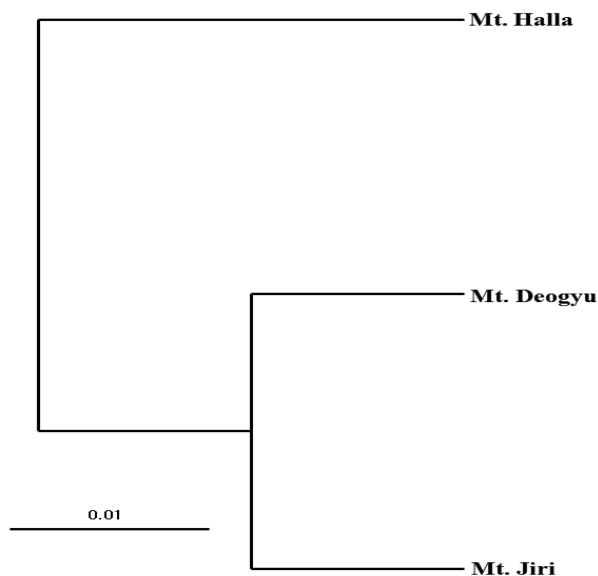


Figure 2. Genetic relationships of populations among populations of *A. koreana* constructed by UPGMA.

단들의 경우 지리적으로 가까운 집단이 유전적으로도 가까운 것으로 나타났으나(Figure 1과 2), 분비나무 집단들에서는 유전적 거리에 따른 지리적 경향이 관찰되지는 않았다(Figure 1과 3). 이는 지리적 거리와 유전적 거리에 따른 상관관계를 볼 수 있는 Mantel test를 수행했을 때 적은 양의 상관관계를 보인 결과와 일치한다( $r=0.5591$ ,  $p=0.03$ ). 두 수종의 집단들을 통합하여 유집분석을 수행한 결과 구상나무 한라산 집단이 나머지 구상나무 및 분비나무 집단들로부터 유전적으로 가장 많이 분화된 것으로 나타났다. 분비나무 계방산 집단은 특이하게 나머지 분비나무 집단

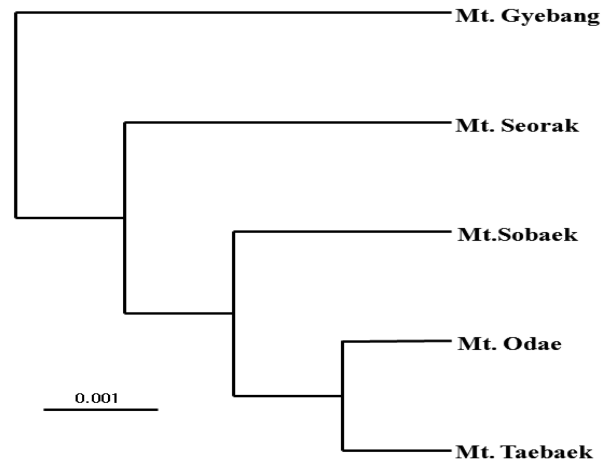


Figure 3. Genetic relationships among populations of *A. nephrolepis* constructed by UPGMA.

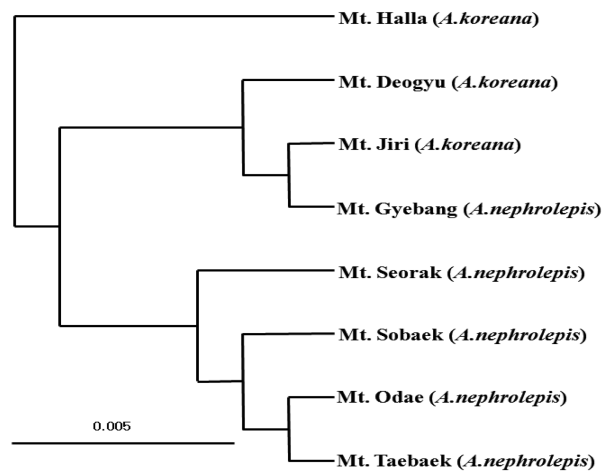


Figure 4. Genetic relationships among populations of *A. koreana* and *A. nephrolepis* constructed by UPGMA.

Table 6. Estimates of Wright's *F*-statistics at 3-level sampling hierarchy including whole populations of *A. koreana* and *A. nephrolepis*.

Comparison	<i>F</i> -statistics (4 loci)
Among Species	$F_{PT} = 0.049$
Among Populations within species	$F_{ST} = 0.085$
Within Population	$F_{IT} = 0.210$

들과 분리되어 구상나무 덕유산 집단 및 지리산 집단과 단일 분지군을 형성하는 것으로 나타났다. 이는 두 수종의 불완전한 종분화의 간접적인 증거로 이러한 현상은 계층적 구조에 따른 유전분화 분석결과와 일치하는 것으로 나타났다(Figure 4, Table 6). 그러나 동일 수종에 대한 RAPD 표지 분석결과에서는 구상나무와 분비나무가 서로 별개의 분지군으로 대별되었다고 보고된 바 있고(김인식, 1998), cpDNA 변이체 분석에서 구상나무 집단인 한라산, 지리산, 덕유산이 하나의 분지군을 형성하며 분비나무인 태백산과 대별되어 나타나고 있음이 보고된 바

있어(Kormutak *et al.*, 2007) 표지 차이에 의해 유전 분화 양상이 다르게 나타날 수 있는 것으로 생각된다.

## 결론

본 연구를 통해서 기존의 연구결과와 달리 구상나무가 분비나무에 비해 유전다양성이 다소 높은 것으로 나타났으나 두 수종 집단간 유전분화 정도는 분비나무 집단간 보다 구상나무 집단간에 유전적으로 더 차이가 나는 것으로 나타났다. 두 수종 간 유전분화 정도는 매우 작게 나타났으며 분비나무 계방산 집단이 구상나무 지리산 집단, 덕유산 집단과 하나의 분지군을 형성하고 있는 것으로 나타나 이 두 수종의 종 분화가 충분히 이루어지지 못한 것으로 생각된다. 따라서 유전적으로 매우 가까운 구상나무와 분비나무 집단에 대한 보다 구체적인 정보를 수집하기 위해서는 향후 보다 많은 codominant 표지를 대상으로 연구를 수행할 필요가 있다고 생각된다. 그러나 본 연구에 사용된 nSSR 표지의 경우 RAPD 표지나 cpDNA 표지에 비해 상대적으로 다수의 대립유전자가 관찰되는 특성이 있으므로 집단 내 분포하는 정확한 유전자형 빈도를 추정하기 위해서는 전체 집단에서 관찰된 대립유전자 수로부터 조합이 가능한 유전자형들이 집단 내 시료에서 충분히 반복될 수 있는 개체수 이상의 시료를 확보해야 될 것으로 생각된다.

## 인용문헌

- 강범용. 2002. 구상나무 천연집단의 공간적 유전구조와 교배양식 및 유전자원 보전전략. 서울대학교 대학원 박사학위논문.
- 구경아, 박원규, 공우석. 2001. 한라산 구상나무의 연륜 연대학적 연구(기후변화에 따른 성장변동 분석). 한국생태학회지 24(5): 281-288.
- 김갑태, 추갑철. 2000. 지역별 구상나무 생육현황 비교. 한국환경생태학회지 14(1): 80-87.
- 김영두, 김삼식. 1983. 한국산 *Abies*속의 내외형태학적 특성에 관한 연구. 한국임학회지 62: 68-75.
- 김인식. 1998. RAPD marker에 의한 국내 전나무류의 유전적 구조와 유연관계. 서울대학교 박사학위논문. 서울대학교 대학원. pp. 99.
- 김인식, 한정오. 2000. RAPD 분석에 의한 구상나무 천연집단의 유전적 다양성. 한국육종학회지 32(1): 12-18.
- 김찬수, 이석우, 고정균. 2007. 한라산의 구상나무. 제주특별자치도 한라산연구소. pp. 89-141.
- 이강영, 김현권. 1982. 구상나무 천연집단의 침엽형질 변이. 한국임학회지 57: 39-44.
- 이석우, 김용울, 한정오, 김진수. 1997. 동위효소 및 RAPD 분석에 의한 소나무 천연집단의 유전변이 비교. 한국육종학회지 29: 72-83.
- 이창복. 1970. 구상나무와 새로 발견된 품종. 한국임학회지 10: 5-6.
- 임종환, 우수영, 권미정, 김용울. 2007. 한라산 구상나무 건재개체와 쇠약개체의 항산화효소활성 및 토양특성. 한국임학회지 96(1): 14-20.
- 송정호, 이정주, 이갑연, 이재천, 김용울. 2007. 분비·구상나무 천연집단의 침엽특성 변이. 한국임학회지 96(4): 387-392.
- 송정호, 이정주, 강규석. 2008. 구상나무 천연집단의 구과, 종자, 포침특성 변이. 한국임학회지 97(6): 565-569.
- 조현제, 배관호, 이창석, 이충화. 2004. 아고산 지역 상록침엽수림 종조성과 구조. 한국임학회지 93(5): 372-379.
- 홍용표, 권해연, 김용울. 2006. 국내 소나무 집단에 있어서 cpSSR 표지자 변이체의 분포양상. 한국임학회지 95(4): 435-442.
- Altukhov, Y.P. and Salmenkova, E.A. 2002. DNA Polymorphism in Population Genetics. Russian Journal of Genetics 38(9): 989-1008.
- Chapuis, M.P. and Estoup, A. 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. Molecular Biology Evolution 24(3): 621-631.
- Cremer, E., Liepelt, S., Sebastiani, F., Buonamici, A., Michalczyk, I.M., Ziegenhagen, B. and Vendramin, G.G. 2006. Identification and characterization of nuclear microsatellite loci in *Abies alba* Mill. Molecular Ecology Notes 6: 374-376.
- Echt, C.S., Vendramin G.G., Nelson C.D. and Marquardt P. 1999. Microsatellite DNA as shared genetic markers among conifer species. Canadian Journal of Forest Research 29: 365-371.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP(Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics. University of Washington. Seattle. WA. U.S.A.
- Hamrick, J.L., Godt M.J.W. and Sherman-Broyles, S.L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests 6: 95-124.
- Hansen, O.K., Kjaer, E.D. and Vendramin, G.G. 2005. Chloroplast microsatellite variation in *Abies nordmanniana* and simulation of causes for low differentiation among populations. Tree Genetics & Genomes 1: 116-123.
- Hartl, D.L. and Clark, A.G. 2007. Principles of population genetics. 4th ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. pp. 66-67.
- Hong, Y.P., Kwon, H.Y. and Kim, I.S. 2004. I-SSR markers revealed inconsistent phylogeographic patterns among populations of Japanese red pine in Korea. Silvae Genetica 56(1): 22-26.
- Kong, W.S. 1998. The Alpine and subalpine Geocology of the Korean Peninsula. Korean Journal of Ecology 21(4): 383-387.
- Kormutak, A., Hong, Y.P., Kwon, H.Y. and Kim, C.S. 2007. Variation in *trn-L/trn-V* and *trn-F/trn-T* spacer regions of cpDNA in *Abies koreana* Wilson and *A. nephrolepis*

- Traut./Maxims. Journal of Korean Forest Society 96(2): 131-137.
27. Korshikov, I.I., Pirko, N.N. and Pirko, Y.V. 2005. Genetic variation and differentiation of *Abies alba* Mill. populations from Ukrainian Carpathians Russian. Journal of Genetics 41(3): 275-283.
28. Kwon, H.Y. and Kim, Z.S. 2002. ISSR variation within and among Korean populations in *Taxus cuspidata*. Journal of Korean Forest Society 91(5): 654-660.
29. Lee, S.W., Hong, Y.P., Kwon, H.Y. and Kim, Z.S. 2006. Population Genetics Studies on Indigenous Conifer in Korea. Forest Science and Technology 2(2): 137-148.
30. Lee, S.W., Yang, B.H., Han, S.D., Song, J.H. and Lee, J.J. 2008. Genetic variation in natural populations of *Abies nephrolepis* Max. in South Korea. Annual Forest Science 65(302): 1-7.
31. Liewlaksaneeyanawin, C., Ritland, C.E., El-Kassaby, Y.A. and Ritland, K. 2004. Single-copy, species-transferable microsatellite markers developed from loblolly pine ESTs. Theoretical and Applied Genetics 109: 361-369.
32. Lynch, M. and Milligan, B.G. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Molecular Ecology 3: 91-99.
33. Maghuly, F., Pinsker, W., Praznik, W. and Fluch, S. 2006. Genetic diversity in managed subpopulations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). Forest Ecology Management 222: 266-271.
34. Mariette, S., Chagne, D., Lezier, C., Pastuszka, P., Raffin, A., Plomion, C. and Krener, A. 2001. Genetic diversity within and among *Pinus pinaster* populations: comparison between AFLP and microsatellite markers. Heredity 86: 469-479.
35. Moriguchi, Y., Kang, K.S., Lee, K.Y., Lee, S.W. and Kim Y.Y. 2009. Genetic variation of *Picea jezoensis* populations in South Korea revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers. Journal of Plant Research 122: 153-160.
36. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist 106: 283-292.
37. Nybom, H. and Bartish, I. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plant. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 3(2): 93-114.
38. Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology 13: 1143-1155.
39. Oosterhout, C.V., Hutchinson, W.F., Wills, P.M. and Shiply, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4: 535-538.
40. Piry, S., Luikart G. and Cornuet, J.M. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reduction in the effective population size using allele frequency data. Journal of Heredity 90: 502-503.
41. Scalfi, M., Piotti, A., Rossi, M. and Piovani, P. 2009. Genetic variability of Italian southern Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations: the rear edge of the range. European Journal of Forest Reserch 128: 377-386.
42. Struss, D. and Plieske, J. 1998. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. Theoretical and Applied Genetics 97: 308-315.
43. Tang, S., Dai, W., Li, M., Zhang, Y., Geng, Y., Wang, L. and Zhong, Y. 2008. Genetic diversity of relictual and endangered plant *Abies ziyuanensis*(Pinaceae) revealed by AFLP and SSR markers. Genetica 133: 21-30.
44. Weiguo, Z., Zhihua, Z., Xuexia, M., Yong, Z., Sibao, W., Jianhua, H., Hui, X., Yile, P. and Yongping, H. 2007. A comparison of genetic variation among wild and cultivated *Morus* species (Moraceae: *Morus*) as revealed by ISSR and SSR markers. Biodiversity and Conservation 16: 275-290.
45. Weir, B.S. 1990. Genetic Data Analysis. Sinauer Associates, Sinderland, MA. pp. 156-159.
46. Wilson, E.H. 1920. Four new conifers from Korea. Journal of Arnold Arboretum 1: 186-190.
47. Wright, S. 1978. Variability within and among Natural Populations. Vol. 4. The University of Chicago Press, Chicago.
48. Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. 1999. POPGENE ver. 1.31-Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. Department of Renewable Resources, University of Chicago Press. Chicago. U.S.A.

---

(2011년 5월 30일 접수; 2011년 8월 30일 채택)