

# 한국 특산식물 매미꽃(*Coreanomecon hylomeconoides* Nakai) 집단의 유전다양성 및 구조

손성원, 정재민, 김은혜, 최경수<sup>1</sup>, 박선주<sup>1\*</sup>

국립수목원 산림자원보존과, <sup>1</sup>영남대학교 생명과학과

## Genetic Diversity and Structure of the Korean Endemic Species, *Coreanomecon hylomeconoides* Nakai, as Revealed by ISSR markers

Sung-Won Son, Jae-Min Chung, Eun-Hye Kim, Kyoung-Su, Choi<sup>1</sup> and SeonJoo, Park<sup>1\*</sup>

Plant Conservation Division, Korea National Arboretum, Pochon 487-821, Korea

<sup>1</sup>Department of Life Science, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

**Abstract** - The genetic diversity and structure of eight populations of *Coreanomecon hylomeconoides* Nakai, an endemic Korean plant, were investigated using 50 ISSR loci from eight primers. The average percentage of polymorphic loci was 47.3%. The Shannon's index ( $SI=0.218$ ) and gene diversity ( $h=0.142$ ) were relatively lower than those of other long-lived perennials. The Sancheong ( $SI=0.233$ ,  $h=0.153$ ), Gwangyang ( $SI=0.263$ ,  $h=0.171$ ), and Suncheon ( $SI=0.241$ ,  $h=0.159$ ) populations showed greater genetic diversity than the Namhae and Gwangju populations, which are on the edge of the distribution. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that 18% of the total variation could be attributed to differences among populations, and 82% to differences within populations, indicating moderate gene flow among adjacent populations. These results were supported by value of  $Nm$  (2.184). The UPGMA conducted using the genetic distance and Bayesian cluster analysis showed a remarkable geographic trend structured into east and west regions. Overall, the results indicate that the Sancheong and Gwangyang populations, which had a large population size and higher degree of genetic diversity, should be the focus of *in situ* conservation.

**Key words** - *Coreanomecon hylomeconoides*, Genetic diversity, Endemic plant, *In situ* conservation, ISSR

### 서 언

우리나라의 특산식물은 한반도의 고유한 자연환경에 적응 진화해온 세계적으로 한국에만 분포하는 유일하고도 독특한 식물로서 국가적으로 매우 중요한 생물 유전자원이라 할 수 있다(Kim, 2004). 특히 우리나라 내에서도 일부지역에 제한적인 분포를 보이는 특산식물의 경우 자연적 및 인위적 요인으로 인한 멸종위험에 크게 노출되어 있어 보전생물학적으로 매우 중요한 의미를 지닌다고 할 수 있다. 따라서 희귀 및 멸종위기식물의 보전생물학적 연구를 위한 대상 중 선정 시 이러한 특산식물은 우선적으로 고려되어야 할 것이다.

매미꽃(*Coreanomecon hylomeconoides* Nakai)은 양귀비과(Papaveraceae)에 속하는 다년생 초본으로, Nakai (1935)에 의해 1속 1종으로 기재된 단기준속(monotypic genus)의 특산식물이다(Lee and Kim, 1984; Kim *et al.*, 1999). 전 세계적으로 유일하게 한반도의 남부지역에만 제한적으로 분포하는데, 지리산과 백운산 및 그 주변지역을 분포의 중심지로 하고 있으며, 경상남도과 전라남도에 걸쳐 비교적 연속적인 분포양상을 보이고 있다(Son *et al.*, 2012). 또한 과거 일부 문헌 자료에 의하면 제주도의 한라산과 울릉도에도 분포하였다는 기록도 존재한다(Lee, 1980; Lee, 1996; Oh, 1985). 매미꽃은 한반도 내 근연식물인 피나물(*Hylomecon vernalis* Maxim.)에 비해 잎이 없는 화경의 정단에 여러 개의 꽃이 모여 나고(Kim *et al.*, 1999), 12 산구형(12-pericarpate)의 발아구를 가지는 화

\*교신저자(E-mail) : sjpark01@ynu.ac.kr

분구조(Lee and Kim, 1984), 그리고 봄부터 가을까지 지속적으로 개화와 결실이 이루어지는 특징들을 가지고 있다.

매미꽃의 자생 집단은 주로 산림 내 계곡을 따라 형성되어 있으며, 과거에는 나출지나 2차 천이의 초기 단계에 해당하는 지역에서 비교적 연속적인 군락 분포양상을 보였다. 하지만 최근 산림식생의 천이에 따라 교목층이 발달하면서 상층수관의 밀도 증가에 의한 초본층에 도달하는 수광량 감소가 매미꽃의 개화 및 결실 부실로 이어져 개체군의 쇠퇴에 영향을 주고 있다(Son *et al.*, 2012). 이에 따라 현재 산림청 희귀식물목록집에 Least Concerned (LC)로 지정되어 있으며(Korea National Arboretum, 2008), 환경부 식물구계학적 특정식물 IV급으로 지정되어 있기도 하다(Ministry of Environment of Korea, 2006).

현재까지 매미꽃에 관한 연구는 주로 분류학적 연구가 주를 이루었으나(Lee, 1973; Lee and Kim, 1984; Kim *et al.*, 1999), 최근 보전생물학적 연구의 일환으로 매미꽃 집단의 분포 및 자생지 환경특성과 보전지위 평가에 관한 연구가 이루어진 바 있다(Son *et al.*, 2012).

생물 종 집단에 대한 유전 다양성 및 구조에 대한 이해는 유전자 흐름이나 집단의 적응 능력 등 해당 분류군의 진화 역사에 대한 새로운 시각을 제공해준다(Avise, 1994; Hartl and Clark, 1997). 특히 분포가 제한적이거나 자생지 집단이 파편화 되어있는 희귀 및 멸종위기식물이나 특산식물의 경우 유전적 부동(genetic drift), 병목현상(bottleneck effects), 근친교배(inbreeding) 등의 원인으로 유전 다양성이 감소되고 이는 생식 및 생존능력의 감소와 함께 변화하는 환경에 대한 적응능력의 감소로도 이어진다(Barrett and Kohn, 1991; Hilfiker *et al.*, 2004; Jeong *et al.*, 2010). 따라서 식물 집단의 유전적 정보들은 희귀 및 멸종위기식물에 대한 이해를 넓혀주며 향후 적절한 보전대책 수립을 위한 소중한 자료가 될 수 있다.

본 연구는 다른 우성마커에 비해 높은 재현성을 나타내고 비교적 실험방법과 자료 분석이 용이하여 최근 식물 집단의 유전다양성 연구에 많이 사용되고 있는 ISSR(Inter simple sequence repeat) 마커를 이용하여, 우리나라 특산식물인 매미꽃 집단의 유전적 다양성 및 구조에 대한 이해를 넓히고, 집단 및 지역 간 유전적 분화 양상 및 유연관계를 추정함으로써 매미꽃 자생 집단의 보전대책 수립을 위한 정보를 제공하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 자생지 특성

본 연구에서는 매미꽃의 분포 중심지로 알려진 지리산 및 백운산의 일부 집단과 매미꽃 분포의 변두리 집단에 속하는 남해와 광주 집단을 포함하여 총 8개 집단, 224개체를 선정하였다. 각 집단은 지리적으로 약 15-87 km 정도 떨어져 있으며, 해발 227-744 m, 경사 5-11 범위의 계곡 부를 따라 인접한 사면의 중하부 지역에 불연속적인 개체군을 형성하고 있었다. 산청, 하동, 광양, 보성 집단은 울창한 낙엽활엽수림의 계곡부를 따라 분포하고 있었으며, 고흥과 순천 집단은 조림지역으로 숲 가꾸기와 간벌 등의 산림사업으로 피압목 제거와 수광량 증가로 개체군의 밀도가 매우 높게 나타났다. 이에 반해 광주와 남해 집단은 등산로 주변의 조림지 및 나출지로 탐방객의 답압과 탐방로 건설에 의한 자생지 훼손이 심각한 편이었다. 이처럼 다양한 생물환경을 가지는 매미꽃 8집단에 대한 유전특성을 분석하기 위해 각 집단을 대표할 수 있도록 개체간의 거리를

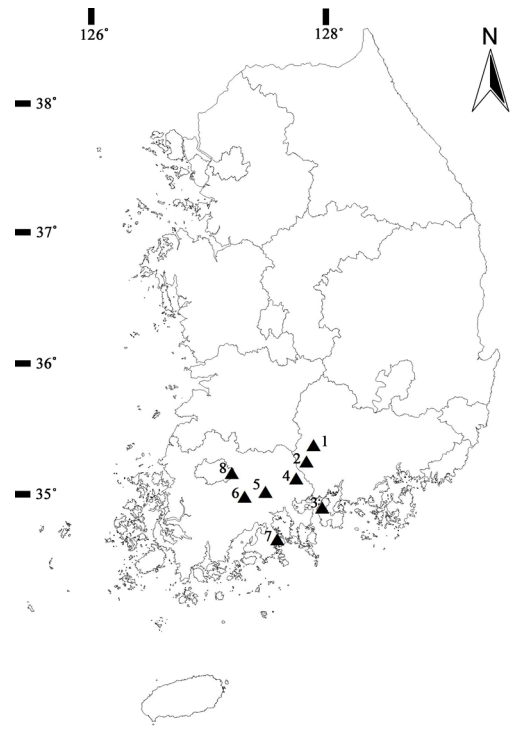


Fig. 1. Location of eight sampling sites of *C. hylomeconoides* (1. Sancheong; 2. Hadong; 3. Namhae; 4. Gwangyang; 5. Suncheon; 6. Boseong; 7. Goheung; 8. Gwangju).

Table 1. Population size and geographical characteristics on sampling sites of *C. hylomecoides* Nakai

Populations	Estimated population size	Altitude(m)	Slope degree(°)	Bare rock(%)	Direction	Topography
Sancheong	>5,000	563	7	21	SW	V
Hadong	>2,000	227	5	36	W	V
Namhae	~300	236	7	12	NW	V
Gwangyang	>5,000	744	9	16	W, NE	V
Suncheon	>8,000	268	4	9	W, NE	V, LS
Boseong	>6,000	321	5	9	NE, N	V
Goheung	>10,000	392	11	14	NW, E	V, MS
Gwangju	~50	625	7	5	W	MS

V, valley; LS, low slope; MS, middle slope.

최소 2m 이상 유지하면서 집단 크기에 따라 소량의 잎을 채취하였다(Fig. 1). 각 개체군의 크기 및 지리적 특성은 Table 1과 같다.

#### DNA 추출 및 ISSR PCR

DNA 추출은 Doyle and Doyle(1987)의 CTAB 방법을 수정한 Saghai-Marroof *et al.*(1984)의 방법에 따라 추출하였다. 50개의 UBC ISSR primer(Biotechnology Laboratory, University of British Columbia) 중에서 재현성이 높고 변이가 풍부한 7개(#815, #823, #824, #835, #843, #855, #857)를 선정하였다. Polymerase chain reaction(PCR)은 주형 DNA 5–10 ng, 1X PCR reaction buffer, 0.1 mM dNTPs, 0.0025% BSA, 0.6 unit Taq DNA polymerase, 0.375  $\mu$ M의 primer에 total volume이 총 15  $\mu$ l 되도록 증류수를 조절하여 첨가하였다. 이러한 반응액을 94°C에서 5분 동안 initial denaturation 후 deanturation 94°C 30초, annealing 50–54°C 30초, extension 72°C 1분으로 구성된 반응을 45회 반복한 후 최종적으로 72°C에서 10분간 extension하여 수행하였다. 증폭산물은 1X TBE buffer를 사용하여 1.6% agarose gel에서 3시간 동안 전기영동한 후, EtBr(Ethidium Bromide)로 정색 후 UV 조명 아래서 밴드의 유무를 판정하여 data matrix를 작성하였다.

#### 자료 분석

UV 조명하에 촬영된 사진 자료로부터 재현성이 높고 다형성을 보이는 band만을 유전분석에 이용하였다. 각 size 별로 관찰된 band를 유전자좌의 산물로 간주하였으며,

band의 존재 유무에 따라 “1(출현)”과 “0(비출현)”으로 코딩하여 단일유전자좌의 두 가지 표현형(dominant, null)의 빈도를 근거로 data matrix를 작성하였다. 하지만 다른 연구 결과와의 비교를 위해서 열성 표현형의 관찰 빈도를 이용하여 Hardy-Weinberg 평형 가정 하에 기대되는 대립유전자의 빈도를 추정하여 Nei’s(1973) 유전자 다양도(*h*)를 추정하였다. POPGENE 프로그램(Yeh *et al.*, 1999)을 이용하여 다형적 유전자좌의 비율(*P*)과 유전자좌당 대립유전자수(*A*), 유전자좌당 유효대립유전자 수(*A<sub>e</sub>*), Shannon’s information index(*S<sub>i</sub>*) (Shannon and Weaver, 1949)를 각각 계산하였다. 유전다양성의 집단 내 또는 집단 간의 계층적 분포양상을 알아보기 위해 Arlequin 3.1(Excoffier and Schneider, 2005)을 이용하여 AMOVA(analysis of molecular variance) 분석을 수행하였다. 집단 간 유연관계를 알아보기 위해 유전적 거리를 근거로 PHYLIP v3.5c (Felsenstein, 1993)의 NEIGHBOR 프로그램에서 UPGMA (Sneath and Sokal, 1973)방법으로 유집한 후 최종적으로 FigTree v.1.3. 프로그램을 이용해서 dendrogram을 산출하였다. 또한 매미꽃 집단의 유전적 cluster의 존재 여부를 파악하기 위해서 STRUCTURE ver 2.3 (Pritchard *et al.*, 2007) 프로그램을 이용하여 Bayesian clustering 분석을 수행하였다. 연관된 대립유전자의 빈도의 가정 하에 admixture model (F model; Falush *et al.*, 2003)을 이용하여 적절한 cluster의 수를 찾기 위해 가상의 cluster 수 *K*를 1부터 10까지 각각 10회 반복하여 simulation을 수행하였다. 이때 각 simulation에서 최대 반복 횟수(MCMC, Markov Chain Monte Carlo)는 200,000으로 설정하였고 최초 샘플링된 100,000개의 추정치는 모형의 안정성을 위

해 제외하였다(burn-in). 최적의 K값을 결정하기 위해  $\Delta K$ 가 최대인 K=2를 선정하였다(Evanno *et al.*, 2005).

## 결과

### 매미꽃 집단의 유전적 다양성 및 구조

매미꽃 집단의 유전다양성 분석에 사용된 8개의 ISSR 프라이머에서 총 50개의 증폭산물이 관찰되었으며 이 중 37개에서 다형성을 보였다. 이 중 한 집단에서만 나타나는 고유 밴드는 2개였으며, 산청 집단과 고흥 집단에서 각각 1개씩 관찰되었다. 매미꽃의 종 수준에서의 다형적 유전자 좌의 비율( $P$ )은 74%로 비교적 높게 나타났으나, 각 집단에

서 계산된 평균은 47.3%로 나타났다. 각 집단별로는 광양 집단이 56%로 가장 높게 나타났으며, 광주 집단이 36%로 가장 낮은 값을 보여 주었다. 유전자좌당 평균 대립유전자 수( $A$ )는 광양집단이 1.56으로 가장 높았으며, 광주 집단이 1.36으로 가장 낮게 나타났고, 유효대립유전자수( $A_e$ ) 역시 광양 집단이 1.28로 가장 높은 값을 보여주었다. 종 수준에서 매미꽃 집단에 대한 Nei's genetic diversity ( $h$ )와 Shannon index ( $SI$ )는 각각 0.177, 0.278로 나타났지만, 집단수준에서는 평균 0.142 ( $h$ ), 0.218 ( $SI$ )로 나타남으로써 다소 차이를 보여주었다. 집단별 유전적 다양성은 광양 ( $h = 0.171$ ,  $SI = 0.263$ ) 집단이 가장 높은 값을 보여주었으며, 남해( $h = 0.116$ ,  $SI = 0.183$ )와 광주( $h = 0.121$ ,  $SI = 0.181$ ) 집단이 다른 집단에 비해 비교적 낮은 값을 나타내었다(Table 2).

Table 2. Genetic variability at 50 ISSR loci in eight populations of *C. hylomeconoides*

No.	Pop.	$N$	$P$	$A$	$A_e$	$SI$	$h$
1	Sancheong	35	52	1.52	1.26	0.233	0.153
2	Hadong	30	46	1.46	1.24	0.212	0.140
3	Namhae	24	44	1.44	1.18	0.183	0.116
4	Gwangyang	36	56	1.56	1.28	0.263	0.171
5	Suncheon	36	48	1.48	1.27	0.241	0.159
6	Boseong	35	52	1.52	1.24	0.226	0.144
7	Goheung	38	44	1.44	1.23	0.201	0.133
8	Gwangju	20	36	1.36	1.22	0.181	0.121
	Mean	31.8	47.3	1.47	1.24	0.218	0.142
	Overall	254	74	1.74	1.29	0.278	0.177

$N$  number of individuals analyzed,  $P$  percentage of polymorphic loci,  $A$  number of alleles per locus,  $A_e$  effective number of alleles per locus,  $SI$  Shannon and Weaver (1949) index,  $h$  Nei's(1973) genetic diversity.

### 매미꽃 집단의 유전적 분화 및 유연관계

조사된 8개의 집단에 대한 AMOVA 분석 결과 전체 유전 변이의 약 18%가 집단 간 차이에 기인하는 것으로 설명되었고, 나머지 82%는 집단 내 개체 간에 존재하는 것으로

Table 3. Analysis of molecular variance (AMOVA) at the ISSR in eight populations of *C. hylomeconoides*

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation (%)
Among population	7	204.627	0.807	18
Within population	246	922.046	3.748	82
Total	253	1126.673	4.555	100

Table 4. Geographic distance (above diagonal; km) and Nei's genetic distance (below diagonal)

Pop.	Sancheong	Hadong	Namhae	Gwangyang	Suncheon	Boseong	Goheung	Gwangju
Sancheong	-	15	54	32	58	74	87	74
Hadong	0.0276	-	45	19	45	62	74	65
Namhae	0.0439	0.0395	-	34	51	68	47	84
Gwangyang	0.0427	0.0342	0.0420	-	29	47	55	56
Suncheon	0.0461	0.0345	0.0456	0.0383	-	18	42	33
Boseong	0.0625	0.0403	0.0586	0.0552	0.0172	-	46	23
Goheung	0.0594	0.0583	0.0648	0.0576	0.0315	0.0528	-	69
Gwangju	0.0472	0.0379	0.0545	0.0475	0.0225	0.0217	0.0404	-

나타났다(Table 3). 각 집단 간 유전적 거리는 고흥과 남해 집단이 0.0648로 가장 높았으며, 순천과 보성 집단이 0.0172로 가장 낮은 것으로 조사되었다. 하지만 지리적 거리가 가장 먼 고흥과 산청 집단의 유전적 거리는 0.0594로 나타났으며, 지리적 거리가 가장 가까운 산청 집단과 하동

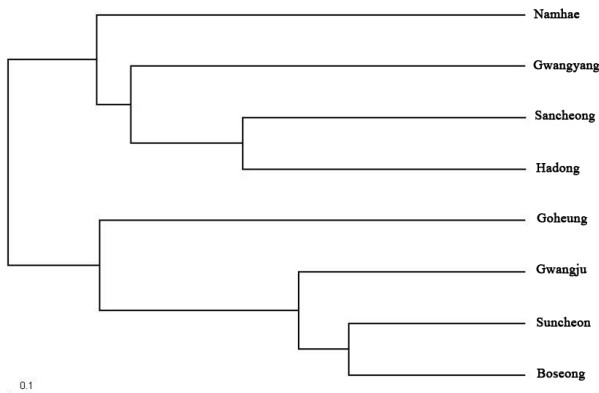


Fig. 2. Dendrogram using the UPGMA method based on Nei's (1978) genetic distance for eight populations of *C. hylomeconoides*.

집단은 0.0276으로 나타났다(Table 4). 이처럼 지리적 거리와 유전적 거리는 일치하지 않았는데 Mantel test를 통한 상관관계에서도 유의성이 인정되지는 않았다( $r=0.136$ ,  $P=0.313$ ). 한편 집단 간 유전적 거리를 기초로 UPGMA (Sneath and Sokal, 1973)법에 의한 유집분석을 실시한 결과 크게 두 개의 그룹으로 분리되었는데, 지리산 권역인 산청과 하동 집단이 먼저 유집되어 소그룹을 형성하였고 다시 광양 집단과 남해 집단과 차례로 유집되면서 한 그룹을 형성하였고, 다음으로 보성과 순천 집단이 먼저 유집되어 소그룹을 형성하고 광주집단과 고흥집단과 차례로 유집되면서 나머지 그룹을 형성하였다(Fig. 2).

조사된 8집단의 유전적 cluster의 존재 여부를 알아보기 위해 Bayesian cluster 분석을 실시한 결과  $\Delta K$  값이 2일 때 최대값을 보여 최적의 cluster 수를 각각 2로 판단하고 모든 개체를 대상으로 각 cluster에 대한 membership coefficient를 구하였다. 특히  $K=2$ 일 때 하동, 산청, 광양, 남해 집단의 개체들과 순천, 보성, 광주, 고흥 집단의 개체들은 각각 cluster 1과 cluster 2에 대체로 포함되어 UPGMA 유집 분석 결과와 일치하는 결과를 보여주었다(Fig. 3, Table 5).

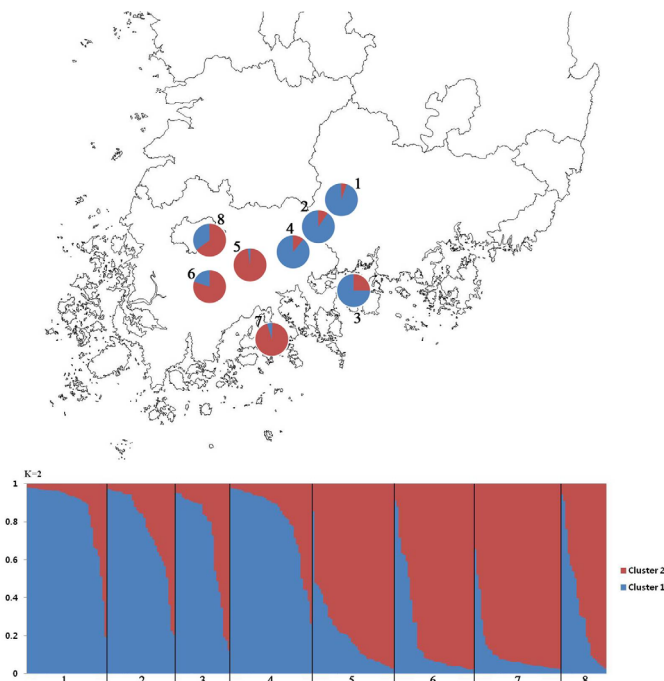


Fig. 3. Classification of individuals from 8 populations of *C. hylomeconoides* into cluster ( $K=2$ ) identified using the STRUCTURE method (Pritchard *et al.*, 2007). The map (above) and each vertical bar in the histograms (below) represents the proportion of the membership coefficients to the  $K$  clusters in each individual (1, Sancheon; 2, Hadong; 3, Namhae; 4, Gwangyang; 5, Suncheon; 6, Boseong; 7, Goheung; 8, Gwangju).

Table 5. The means of the cluster membership coefficient of eight populations of *C. hylomeconoides* by K value

Cluster	Sancheong	Hadong	Namhae	Gwangyang	Suncheon	Boseong	Goheung	Gwangju
Cluster 1	0.866	0.767	0.722	0.823	0.202	0.207	0.108	0.345
Cluster 2	0.134	0.233	0.278	0.177	0.798	0.793	0.892	0.655

### 고찰

ISSR, RAPD, AFLP 등의 우성마커를 통해 분석된 동일 식물 집단의 유전적 변이는 비슷한 수준으로 나타나는 것으로 알려져 있으며, 따라서 이들 간의 직접적인 비교도 가능하다(Nybom, 2004; Kim *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2010). 다년생 초본 식물인 매미꽃 8 집단에서 조사된 집단 수준의 유전적 다양성의 평균( $P=47.3\%$ ,  $SI=0.218$ ,  $h=0.142$ )은 RAPD 마커에 의해 조사된 다년생 초본류의 평균( $h=0.242$ )보다 월등히 낮았으며, 일반적으로 제한된 분포영역을 가지는 특산식물의 평균( $h=0.191$ ) 보다도 낮은 수준이었다(Nybom and Bartish, 2000). 특히 매미꽃과 같이 한반도 특산의 단기준속(monomotypic genus)이며 집단의 파편화에 의한 유전적 부동현상이 관찰되는(Jeong *et al.*, 2010) 다년생 초본식물인 모데미풀(*Megaleranthis saniculifolia* Ohwi) 집단에 대한 ISSR 마커의 유전다양성의 평균( $SI=0.180$ ,  $h=0.135$ , Jeong *et al.*, 2010)보다는 다소 높은 수준으로 나타났다. 이처럼 우성 마커를 이용한 다른 식물 집단과의 유전 변이 비교에서도 알 수 있듯이 매미꽃의 집단 수준에서 관찰되는 유전다양성은 비교적 낮은 수준인 것으로 판단할 수 있다. 식물 집단의 유전다양성 및 구조는 여러 가지 요인들에 의해 결정되는데 식물에 따라 서로 다른 생활형이나 분포 및 집단 발달 역사를 가지기 때문에 다양한 수준의 유전변이를 보인다(Helenurm *et al.*, 2005; Jeong *et al.*, 2010). 매미꽃은 전 세계적으로 한반도의 남부지방에 제한적으로 분포하는 우리나라 특산 식물이다(Lee, 1996; Oh *et al.*, 2005; Son *et al.*, 2012). 특산식물의 경우는 과거에 광범위하게 분포하던 종이 여러 환경요인에 의해 분포역이 좁아지게 된 잔존고유종이거나, 혹은 인근 분류군으로부터 새로운 국지적 종 분화에 의해 형성된 신고유종이다(Oh *et al.*, 2005). 매미꽃이 포함된 양귀비과(Papaveraceae s. str.)에 대한 분자계통학적 분석결과 매미꽃과 가장 유연관계가 높은 근연 분류군은 피나물(*Hylomecon vernalis* Maxim.)인 것으로 나타났다(S.W. Son *et al.*, unpubl. data). 또한 매미꽃은 집단 간

파편화가 심하지 않고 비교적 연속적인 분포를 보이며, 근연 분류군인 피나물과의 분포범위가 일부 중복된다는 점으로 미루어 보아 잔존고유종이기보다는 근연 분류군으로부터 종분화에 의해 형성된 신고유종일 것으로 추정할 수 있다. 이러한 종분화 역사를 가지는 특산식물들은 비교적 제한된 분포범위들의 영향으로 인해 집단 수준에서 낮은 유전다양성을 보이는 경우가 많다(Hamrick and Godt, 1996). 한반도 특산식물인 매미꽃 또한 이러한 종분화 과정을 통해 새로운 분류군으로 형성되어 한반도 남부지역에 제한적인 분포를 보인 것으로 추정할 수 있으며 이러한 생물종 발달 역사가 매미꽃의 낮은 유전다양성에 영향을 미친 것으로 유추 할 수 있다. 하지만 매미꽃 집단의 유전다양성을 좀 더 객관적으로 조사하기 위해서는 매미꽃의 생활사 및 수분기작 등의 구체적인 종 생물학적 특성조사와 더불어 근연 분류군을 포함하여 다양한 마커를 이용한 추가적인 조사가 더 필요할 것으로 보인다.

각 집단별로 유전 다양성을 비교해 보면 주로 산청( $SI=0.233$ ,  $h=0.153$ ), 광양( $SI=0.263$ ,  $h=0.171$ ), 순천( $SI=0.241$ ,  $h=0.159$ ) 등의 분포 중심지에 해당하는 집단이 남해( $SI=0.183$ ,  $h=0.116$ )나 광주( $SI=0.181$ ,  $h=0.121$ ) 등의 변두리 집단보다는 비교적 높은 유전다양성을 유지하는 것으로 나타났다. 일반적으로 집단의 크기가 제한적인 식물의 경우 유전적 부동(genetic drift), 병목현상(bottleneck effects) 및 근친교배(inbreeding) 등의 원인으로 인해 낮은 유전다양성을 보유하는 경우가 많은 것으로 보고되고 있다(Barrett and Kohn, 1991; Hilfiker *et al.*, 2004). 남해나 광주 집단은 50-100개체 미만의 소수의 개체들이 약 100m<sup>2</sup>의 좁은 면적에 잔존해 있었는데, 이들 집단은 사찰과 등산로에 인접해 있어서 탐방객의 답압과 탐방로 건설에 의해 자생지가 크게 교란되고 있었다. 본 연구와 동일한 집단을 대상으로 진행한 식생환경조사 결과에서도 남해와 광주 집단의 종풍부도(species richness)와 종다양도(species diversity)가 다른 집단에 비해 매우 낮았는데, 이들 집단이 탐방로에 인접한 조림지와 나출지로서 답압과 탐방로 건설 등 인위적 교란으로 자연식생이 크

Table 6. Structural properties of the vegetation on natural populations of *C. hylomeconoides*(Son et al., 2012)

Populations	Species richness	Species diversity	Evenness	Dominance
Sancheong	91	1.67	0.85	0.15
Hadong	71	1.57	0.85	0.15
Namhae	56	1.41	0.81	0.19
Gwangyang	82	1.59	0.83	0.17
Suncheon	66	1.49	0.82	0.18
Boseong	71	1.52	0.82	0.18
Goheung	100	1.68	0.84	0.16
Gwangju	35	1.20	0.78	0.22
Average	71.5	1.52	0.83	0.18

게 훼손된 결과로 추정할 수 있다(Table, 6; Son et al., 2012). 따라서 이들 두 집단이 지속적인 외부 교란과 자생지 환경변화의 영향으로 개체군 크기가 급격히 줄어들었으며 이는 유효 집단의 크기(effective population size) 감소로 이어짐으로써 이들 두 집단에 대한 유전적 구조에 영향을 미친 것으로 생각된다.

AMOVA 분석 결과에 의해 매미꽃 유전변이의 분포 양상 및 집단 간 분화정도를 추정한 결과, 전체 유전변이의 약 18%가 집단 간 유전적 차이에 기인하였으며, 나머지 82%가 집단 내 개체간의 차이에 기인하는 것으로 나타남으로써 집단 간 분화가 크지 않은 것으로 판단된다. RAPD 마커를 이용한 식물 집단 간 유전적 분화정도( $\Phi_{ST}$ )는 다년생 초본류의 경우 0.25, 타가수분과 자가수분을 하는 식물이 각각 0.27, 0.65, 그리고 특산식물이나 제한된 분포를 보이는 식물들이 0.26-0.34 정도인 것으로 보고되고 있다(Nybo, 2004). 또한 ISSR 마커를 통해 조사된 희귀식물의 경우는 유전적 분화정도( $\Phi_{ST}$ )가 일반적으로 0.5 이상을 보이는 경우가 많다(Qiu et al., 2004; Xia et al., 2005; Kim et al., 2010; Jeong et al., 2010). 이처럼 식물 집단 간 유전적 분화(genetic differentiation)는 다년생 초본이고 넓은 분포역을 가지며, 타가수분을 하는 식물에서 비교적 낮게 나타난다고 할 수 있다. 매미꽃은 한반도의 남부 지역이라는 제한적인 분포범위를 가지지만 분포의 변두리 지역 일부를 제외하고 집단 간 파편화가 심하지 않으며 아직까지는 비교적 풍부한 개체수를 가지는 것으로 알려져 있다(Son et al., 2012). 이러한 분포 패턴으로 미루어 보

아 매미꽃은 인접한 집단 간의 유전자 이동이 비교적 원활할 것으로 유추할 수 있는데, 실제로 매미꽃 집단에 대한  $Nm$  (estimate of gene flow from  $G_{st}$ )이 2.184로 (표로 제시되지 않음) 나타남으로써 집단 간 유전자 교류가 원활히 이루어지고 있음을 뒷받침하였다.

매미꽃은 인근 집단 간 비교적 빈번한 유전자 교류의 영향으로 비록 집단수준에서 높은 유전적 분화를 나타내지는 않았지만 Bayesian cluster 분석 결과 조사 집단이 동서 두 지역으로 cluster를 형성하면서 구조화 되는 경향을 보여주었는데, 이러한 결과는 유전적 거리에 기초한 UPGMA 분석 결과와도 일치하였다. 앞에서도 언급하였듯이 집단 간 빈번한 유전자 교류가 이루어지지만 매미꽃 집단들이 지역별로 구조화 되는 현상은 지리적 분포 패턴과 관련이 있을 것으로 추정된다. Bayesian cluster 분석 결과 주로 cluster 2에 비교적 높은 membership coefficient을 보인 광주, 보성, 순천 집단은 주로 호남정맥을 따라 위치하고 있으며, 반면 cluster 1에 높은 membership coefficient 값을 나타낸 산청, 하동 집단은 백두대간의 끝자락에 위치한 지리산권역의 집단들이다. 특히 지리산 집단들과 높은 유연관계를 보인 광양 집단은 비록 호남정맥의 끝자락에 포함되기는 하지만 지리적으로 백두대간에 위치하는 지리산 집단들과 연속적인 분포 패턴을 보이는 반면 지리적 거리는 비교적 멀지 않지만 순천집단과는 고속도로나 철도 등이 지나고 있는 만큼 큰 산들이 없으며 이들 두 지역 사이에는 연속적인 분포를 보이지 않는 것으로 보아 이러한 지리적 분포 특성이 매미꽃 집단의 유전자 흐름을 제한하여 유전적으로 구조화가 이루어진 것으로 추정할 수 있다. 하지만 한반도 내 매미꽃 집단의 유전적 구조 및 지리적 분화 패턴을 보다 객관적으로 파악하기 위해서는 본 조사지 뿐만 아니라 더욱 다양한 집단을 포함할 필요가 있을 것으로 보이며 우성 마커와 더불어 공우성 마커를 통한 추가 분석이 요구된다고 볼 수 있다.

한반도 특산식물인 매미꽃은 특산속인 매미꽃속(*Coreanomecon* Nakai)의 단일 종으로 유전자원으로서의 보전 가치가 매우 높다고 할 수 있다. 비록 아직까지는 풍부한 개체수를 유지하고 있지만, 이들 식물의 분포 범위가 매우 제한적이고 기후변화에 의한 산림식생 천이계열의 가속화로 인한 자생지 생태환경의 변화와 주변식생에 의한 피압 및 난개발과 답압 등 인위적 교란으로 인해 일부 집단의 파편화와 더불어 지속적인 개체 수 감소가 이루어지고 있어

(Son *et al.*, 2012) 적절한 현지 내의 보전전략을 수립할 필요가 있다. 희귀 및 멸종위기식물의 유전다양성과 구조에 관한 정보는 효율적인 보전전략을 마련하는데 유용하게 활용될 수 있는데(Ellstrand and Elam, 1993; Godt *et al.*, 2005; Gaudeul *et al.*, 2000; Rasmussen and Kollmann, 2008; Tero *et al.*, 2003; Xiao *et al.*, 2004), 집단 내 간 유전변이의 양과 분포양상을 추정하고, 근친교배의 영향이나 유효집단크기 등을 추정함으로써 집단의 적응 능력을 평가하고 보전에 우선순위를 두어야 할 집단을 식별할 수 있기 때문이다. 식물종의 효과적인 현지 내 보전을 위해서는 모든 집단 및 개체를 대상으로 보전대책을 수립하는 것이 가장 효과적이거나 경제적 비용 및 기술적 어려움 등으로 인해 적절한 수의 개체나 집단이 선발될 수 있도록 합리적인 표본추출 전략의 수립이 선행되어야 한다(Kim *et al.*, 2009). 식물 집단의 경우 일반적으로 유전적 다양성이 높은 집단을 현지 내 보전의 우선순위로 두는 것이 종 보전 전략상 더 유리하다고 할 수 있다(Milligan *et al.*, 1994; Hamrick and Godt, 1996; Kim *et al.*, 2009). 따라서 매미꽃 역시 분포의 중심에 해당하고 비교적 풍부한 개체수와 높은 유전다양성을 유지하고 있는 지리산(산청, 하동) 집단과 백운산(광양) 집단에 대해 우선적인 현지 내(*in situ*) 보전전략이 수립되어야 할 것이다. 특히 지리산 집단들의 경우 대부분 자생지가 국립공원내에 위치하고 있으므로 매미꽃의 보전가치에 대한 이들 기관의 인식 제고도 필요하다. 이외에도 다른 집단이 가지고 있지 않는 고유의 유전 특성을 보유하고 있는 고흥집단 또한 현지 내 보전대상으로 고려되어야 할 것이다. 한편, 매미꽃 집단 유전적 공간구조에 대한 구멍을 통해 효과적인 보전을 위한 집단 내 유효집단크기(effective population size)와 최소 개체수 산정도 필요할 것으로 보이며 이러한 자료를 바탕으로 적절한 수의 종자 저장 등의 현지 외(*ex situ*) 보전 방안도 고려해야 할 것이다.

## 적요

우리나라 특산식물인 매미꽃(*Coreanomecon hylomeconoides* Nakai) 집단의 유전적 다양성 및 구조를 조사하기 위해 8집단 224개체에 대한 ISSR(Inter Simple Sequence Repeat) 분석이 수행되었다. 총 8개의 ISSR 프라이머를 이용하여 50개의 증폭산물을 관찰하였으며 집단

수준에서의 유전적 다양성의 평균은  $P$  (Percentage of polymorphic loci) = 47.3%,  $SI$ (Shannon's information index) = 0.218,  $h$  (Nei's genetic diversity) = 0.142로 다년생 초본류의 평균보다는 월등히 낮게 나타났다. 집단 별로는 분포의 중심에 해당하는 산청( $SI=0.233$ ,  $h=0.153$ ), 광양( $SI=0.263$ ,  $h=0.171$ ), 순천( $SI=0.241$ ,  $h=0.159$ ) 집단이 남해( $SI=0.183$ ,  $h=0.116$ )나 광주( $SI=0.181$ ,  $h=0.121$ )의 변두리 집단보다는 비교적 높은 유전다양성을 유지하는 것으로 나타났다. AMOVA 분석 결과 전체 유전변이의 약 18%가 지역 간에 나머지 82%가 집단 내 개체간의 차이에 기인하는 것으로 나타났는데 이는 집단 간에 유전자 교류가 원활히 이루어지기 때문으로 판단된다. 유전적 거리를 이용한 UMGMA 유집분석과 Bayesian cluster 분석 결과, 매미꽃 집단은 동서 두 지역으로 구조화 되는 경향을 보여 주었는데 이는 집단의 지리적 분포 패턴의 영향인 것으로 추정할 수 있다. 본 연구 결과, 조사된 다른 집단보다 풍부한 개체수와 높은 유전 다양성을 유지하고 있는 지리산 및 백운산의 산청, 광양 집단들에 대한 적극적인 현지 내(*in situ*) 보전대책 수립이 요구된다.

## 사사

이 논문은 국립수목원 '희귀특산식물 보존 및 복원 인프라 구축(KNA1-2-10, 10-1)' 연구개발사업의 지원으로 수행되었습니다. 또한, 통계분석에 도움을 주신 정지희 박사님께 감사의 뜻을 전합니다.

## 인용문헌

- Avise, J.C. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York, USA.
- Barrett, S.C.H. and J.R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants; Implications for conservation: *In* Falk, D.A. and K.E. Holsinger (eds.), Genetics and Conservation of Rare Plants, Oxford University Press, Oxford, U.K. pp. 3-30.
- Doyle, J.J. and J.A. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure of small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull. Bot. Soc. Amer.* 19:11-15.
- Ellstrand, N.C. and D.R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size; Implication for plant



- conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24:217-242.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14:47-50.
- Excoffier, L.G.L. and S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0.: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* 1:47-50.
- Falush, D., M. Stephens and J.K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1564-1587.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP v3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Gaudeul, M., P. Taberlet and I. Till-Bottraud. 2000. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Mol. Ecol.* 9:1627-1637.
- Godt, M.J.W., F. Caplow and J.L. Hamrick. 2005. Allozyme diversity in the federally threatened golden paintbrush, *Castilleja levisecta* (Scrophulariaceae). *Conserv. Genet.* 6:87-99.
- Hamrick, J.L. and M.J.W. Godt. 1996. Conservation genetics of endemic plant species: In Avise, J.C. and J.L. Hamrick (eds.), *Conservation Genetics*, Chapman and Hall, New York. pp. 281-304.
- Hartl, D.L. and A.G. Clark. 1997. *Principle of Population Genetics*. Sinauer Association Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 524.
- Helenurm, K., R. West and S.J. Burckhalter. 2005. Allozyme variation in the endangered insular endemic *Castilleja grisea*. *Ann. Bot. London* 95:1221-1227.
- Hilfiker, K., F. Gugerli, J.P. Schütz, P. Rotach and R. Holderegger. 2004. Low RAPD variation and female-biased sex ratio indicate genetic drift in small populations of the dioecious conifer *Taxus baccata* in Switzerland. *Conserv. Genet.* 5:357-365.
- Jeong, J.H., E.H. Kim, W. Guo, K.O. Yoo, D.G. Jo and Z.S. Kim. 2010. Genetic diversity and structure of the endangered species *Megaleranthis saniculifolia* in Korea as revealed by allozyme and ISSR markers. *Plant Syst. Evol.* 289:67-76.
- Kim, M.Y. 2004. *Korean Endemic Plants*. Solkwahak, Seoul, Korea. p. 12 (in Korean).
- \_\_\_\_\_, S.Y. Kwon and K.R. Park. 1999. Reexamination the generic status of the Korean endemic *Coreanomecon* within subfamily Chelidinioideae (Papaveraceae). *Korean J. Pl. Taxon.* 29:295-305 (in Korean).
- Kim, S.Y., Y.D. Kim, J.S. Kim, B.H. Yang, S.H. Kim and B.C. Lee. 2009. Genetic diversity of *Forsythia ovata* Nakai (Oleaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR). *Korean J. Pl. Taxon* 39:48-54 (in Korean).
- Kim, Z.S., D.G. Jo, J.H. Jeong, Y.H. Kim, K.O. Yoo and K.S. Cheon. 2010. Genetic diversity and structure of *Pulsatilla tongkangensis* as inferred from ISSR markers. *Korean J. Plant. Res.* 23(4):360-367 (in Korean).
- Korea National Arboretum. 2008. *Rare Plants Data Book in Korea*. Korea National Arboretum, Pocheon, Korea. p. 224 (in Korean).
- Lee, S.T. and M.Y. Kim. 1984. A palynotaxonomic study of *Coreanomecon hylomeconoides* Nakai (Papaveraceae) and its closely related species. *Korean J. Pl. Taxon* 14:181-186 (in Korean).
- Lee, T.B. 1980. *Illustrated Flora of Korea*. Hyangmunsa, Seoul, Korea (in Korean).
- Lee, W.T. 1996. *Lineamenta Florae Koreae*. Academy Publishing Co., Seoul, Korea (in Korean).
- Lee, Y.N. 1973. Taxonomic study on genus *Hylomecon*. *J. Korean Res. Inst. Better Living* 11:127.
- Milligan, B.G., J. Leebens-Mack and A.E. Strand. 1994. Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. *Mol. Ecol.* 12:844-855.
- Ministry of Environment of Korea. 2006. *A Guide to the Third National Natural Environment Research* pp. 114-155 (in Korean).
- Nakai, T. 1935. *Coreanomecon hylomeconoides* Nakai. *J. Jap. Bot.* 11:151.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 70:3321-3323.
- Nybom, H. and IV. Bartish. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers on plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 3:93-114.
- \_\_\_\_\_. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity on plant. *Mol. Ecol.* 13:1143-1155.
- Oh, B.U., D.G. Jo, K.S. Kim and C.G. Jang. 2005. *Endemic Vascular Plants in the Korean Peninsula*. Korea National Arboretum, Pocheon, Korea (in Korean).
- Oh, S.Y. 1985. The enumerative and phytogeographical studies of Papaveraceae in Korea. *Res. Rev. Kyungpook Nat. Univ.*

- 40:99-133 (in Korean).
- Pritchard, J.K., X. Wen and D. Falush. 2007. Documentation for structure software: version 2.2. University of Chicago, Chicago, pp. 1-36.
- Qiu, Y.X., D.Y. Hong, C.X. Fu and K.M. Cameron. 2004. Genetic variation in the endangered and endemic species *Changium smyrnioides* (Apiaceae) Biochem. Syst. Ecol. 32:583-596.
- Rasmussen, K.K. and J. Kollmann. 2008. Low genetic diversity in small peripheral population of a rare European tree (*Sorbus torminalis*) dominated by clonal reproduction. Conserv. Genet. 9:1533-1539.
- Saghai-marooif, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamic. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:8014-8018.
- Shannon, C.E. and W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, Illinois.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy, Freeman San Francisco, CA. pp. 573.
- Son, S.W., J.M. Chung, J.K. Shin, B.C. Lee, K.W. Park and S. Park. 2012. Distribution, vegetation characteristics and assessment of the conservation status of a rare and endemic plant, *Coreanomecon hylomeconoides* Nakai. Korean J. Pl. Taxon 42:116-125 (in Korean).
- Tero, N., J. Aspi, P. Siikamäki, A. Jäkäläniemi and J. Tuomi. 2003. Genetic structure and gene flow in a metapopulation of an endangered plant species, *Silene tatarica*. Mol. Ecol. 12:2073-2085.
- Xia, T., S. Chen, S. Chen and X. Ge. 2005. Genetic variation within and among population of *Rhodiola alsia* (Crassulaceae) native to the Tibetan Plateau as detected by ISSR marker. Biochem. Genet. 43:87-101.
- 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.
- Yeh, F.C., R.C. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE. Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis. Release 1.31. University of Alberta, Edmonton.

(Received 4 March 2013 ; Revised 19 April 2013 ; Accepted 25 April 2013)