

고유종 꼬리말발도리의 생식특성과 동위효소 유전다양성

장진성¹ · 김 휘^{2*}

¹서울대학교 산림과학부(부속수목원), ²목포대학교 한약자원학과(한방산업연구소)

Breeding System and Allozyme Genetic Diversity of *Deutzia paniculata* Nakai, an Endemic Shrub in Korea

Chin-Sung Chang¹ and Hui Kim^{2*}

¹Department of Forest Sciences and The Arboretum, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

²Department of Medicinal Plants Resources, Mokpo National University and Institute of Oriental Medicine, Mu-an-gun 534-729, Korea

요약: 고유식물인 꼬리말발도리는 팔공산, 달음산, 가지산과 운문산 등 경상남북도에 제한적으로 분포한다. 본 연구대상인 4개 집단의 크기는 달음산의 최소 100개체에서 운문산 집단이 최대 3,500개체까지이다. 인공수분실험 결과, 생식양식은 완전 타가수분이며, 주요 관찰 화분매개자는 *Lasioglossum exiliceps* (Vachal)과 호리꽃등에 [*Allograpta balteata* (de Geer)]였다. 동위효소로 유전적 다양성을 측정한 결과, 종 수준에서의 평균적인 유전다양성은 유전자좌당 평균 대립유전자수(A_s)는 1.33, 유전다양성(H_{es})은 0.110으로 이미 보고된 고유식물종의 유전다양성과 비슷한 값을 보였다. 달음산 집단은 모든 개체에서 동일한 유전적 조성을 보였으며, 이 집단의 전체 개체가 클론으로 추정된다. 유전자좌의 비율(P)과 유전자좌당 평균 대립유전자(A_p)의 수는 팔공산 집단이 가장 높았다. 집단 간의 전체 유전 고정지수(F_{IT})는 집단 내 지수(F_{IS})보다 높아 집단 내 이형접합자의 비율은 높지만, 종 전체 이형접합자 부족현상이 확인되었다. 집단 간의 유전적 분화의 정도를 나타내는 F_{ST} 값은 0.223, 각 집단 간의 유전적 거리는 평균 0.047(0.011-0.066)로 단형성을 갖는 유전자가 많아 실제 분화는 일부 유전자좌에 국한된 결과이다. 꼬리말발도리의 유전다양성의 감소는 집단의 유효집단 크기 감소와 관련이 있으며, 현존의 생육지 보전과 함께 현지의 보전을 위해 각 집단 별로 최대 유전 다양성을 확보하는 전략이 필요하다.

Abstract: *Deutzia paniculata* is an endemic species, which is geographically restricted within southern part of Korea. Four populations of *D. paniculata* were sampled across its natural range, from the smallest population, Mt. Dalum, which held less than 100 individuals, to the largest, Mt. Unmun, over 3,500 individuals. Artificial pollination study showed that *D. paniculata* had an obligate outcross breeding system. Major pollinators were two bee species, *Lasioglossum exiliceps* and *Allograpta balteata* (de Geer). The breeding system and patterns of allozyme variation of *D. paniculata* were investigated to understand the population biology and to explain on reserve designs and management proposals relevant to this species. *D. paniculata* held relatively low genetic variation at the eight allozyme loci surveyed. Measures of genetic variation in this species alleles per locus ($A_s=1.33$), proportion of polymorphic loci ($P=23.85\%$), and expected heterozygosity ($H_{es}=0.110$) were similar to values reported for endemic species. Mt. Dalum population (DAL) was composed with one clone based on allozyme data. Individuals of *D. paniculata* were frequently included in root connected clusters. Population genetic structure between and within four populations was probably the result of shrinking effective population size and the extinctions of intervening populations. For the conservation of genetic diversity, maximum number of different genotype need to be protected based on genetic structure and mating system.

Key words: allozyme, breeding system, *Deutzia paniculata*, endemic, genetic diversity

서론

한국 고유종인 꼬리말발도리(*Deutzia paniculata* Nakai)는 매화말발도리절(sect. *Deutzia* C.K. Schneid.), 애기말발

도리열(*ser. Gracilis*)로(Zaikonnikova, 1966), 근연종인 일본 *D. gracilis* Siebold & Zucc.에 비해 반 이하로 작으며, 잎의 모양이 난형으로 장타원형인 *D. gracilis*와 구별된다. 북한 원산이 최초 기재된 채집지이고, 현재는 경상남도 동부 산지와 대구 팔공산과 경상북도 남부 일부 산지에 분포한다(Chung and Shin, 1986). 꼬리말발도리의 제

*Corresponding author
E-mail: huikim@mokpo.ac.kr

한된 분포 특성을 고려할 경우, Rabinowitz et al.(1986)이 구분한 희귀식물의 일곱 가지 유형 중 지리적으로 좁게 분포하면서 특정 생육지에서 국지적으로 좁은 면적을 점유하는 유형이다. Chang et al.(2001)은 IUCN 적색목록의 범주(category)와 평가기준(criteria)에 의해 꼬리말발도리를 멸종을 제외한 멸종위협이 되는 범주 중 위급(CR, Critically Endangered)으로 판정하여 보전의 위급성을 밝혔다.

최근 외국에서의 보전활동의 경우, 종에 대한 정보수집의 범위는 분류학적 판단 이외에도, 분포와 관련된 정보, 생활형, 고도분포, 생육지의 다양성 및 경제적 이용 등 다양하다(Young, 2007). 국내에서 다양한 고유식물종에 대한 유전변이 연구가 있었으나, 이를 보전에 적극적으로 활용하지는 못하고 있다(Chung et al., 2010; Park et al., 2010). 최근 희귀멸종위기 식물의 복원에 대한 연구는 이러한 유전정보에 기초하지 않고 클론(clone) 번식으로 단순 증식 만에 의존하고 있다(Bae et al., 2012). 특히, 산림청은 고유식물을 관리하기 위한 관련 종을 법률로 지정하는 작업을 실시하였는데(Park et al., 2013), 고유종의 보전을 위해서는 국가 단위의 국경선을 중심으로 한 특정 지역의 고유성 목록을 단순 제시하기 보다는 종의 위협상황에 대한 모니터링과 희귀성에 대한 유형분석, 멸종위기와 관련된 환경적 인자에 대한 역동적인 실태가 필요하다(Park et al., 2013; Kruckerberg and Rabinowitz, 1985). 구체적인 모니터링의 목표는 해당 종에 대한 명확한 종 풍부도의 증감에 대한 자료를 제시함과 함께 종의 분포 및 위협 원인에 대한 평가를 해야 한다(Pauli et al., 2012).

멸종위기종의 야생집단에 대한 유전구조 연구는 집단 간/집단 내 유전 변이를 이해할 수 있을 뿐만 아니라 집단 내, 집단 간 변이의 분포, 그리고 집단 내 유효집단의 크기(effective population size)와 집단 간의 유전자이동에 대한 정보를 얻을 수 있다(Given, 1994). 집단 유전분석을 통한 표본추출의 체계화는 잘 계획된 희귀식물의 복원방법으로서 성공가능성이 매우 높다(Barrett and Kohn, 1991). 특히, 단순한 개체 확보보다는 유전다양성에 근간을 둔 집단복원 방법은 장기적으로 종 보전의 성공 가능성이 높다(Aavik et al., 2012).

본 연구는 현지내 보전(*in situ* conservation) 계획 수립 및 체계화된 현지외(*ex situ*) 보전을 위해 유전다양성을 조사하여 집단의 유전구조에 대한 자료를 확보하고 이를 근간으로 자생지에서의 보전 방안을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 생식특성

집단 내 유전구조에 영향을 주는 교배양식(breeding

system)과 화분매개곤충(pollinator)을 확인하기 위하여 운문산 지역과 팔공산 지역에서 매개 곤충을 포획 동정을 하였다. 화기가 가장 정점에 이른 시기에 오전부터 오후까지 일정한 면적의 꼬리말발도리 집단에 8시간이상 꼬리말발도리의 꽃을 찾아 수분행동을 보이는 곤충을 채집하였다. 방화곤충 중 단순 방화행동을 보이는 종과 구별하기 위하여 꼬리말발도리의 화분을 모으는 종을 주요 화분매개충으로 결정하였다. 꼬리말발도리의 교배양식(breeding system)연구를 위하여, 운문산 지역에서 개화된 개체들을 대상으로 수분 실험을 실시하였다. 교배양식은 4가지 처리(outcrossing, selfing, geitonogamy, bagging)를 10반복으로 실시하였다. 각각의 교배처리를 위하여 이미 완전개화한 꽃은 제거하였고, 개체 당 아래 4가지 교배 처리를 한 후 색깔이 서로 다른 라벨로 표기하였다. 완전자가수분(selfing)의 경우 동일한 꽃의 수술로부터 얻은 꽃가루를 암술에 수분을 실시하였으며, 개체 내 다른 꽃으로부터 수분(geitonogamy)은 동일한 개체의 다른 꽃으로부터 얻은 꽃가루를 암술에 수분을 실시하였고, 완전타가수분(outcrossing)은 수술 제거 후 집단 내 100 m 이상 떨어진 개체로부터 얻은 꽃가루를 암술에 수분을 실시하였다. 또한

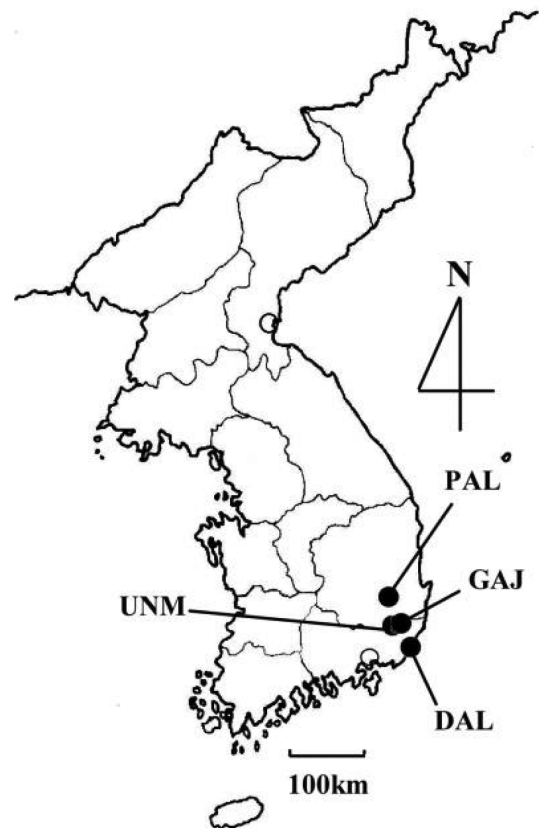


Figure 1. Four populations (●) of *D. paniculata* in south Korea for allozyme analysis. Several known locations (○) based on Nakai (1921) and Chung and Shin (1986) are presented here.

Table 1. Sample localities of *D. paniculata*. Population names are accompanied by acronyms that are used to refer to the populations elsewhere.

Populations with acronyms	Localities
Unmunsan (UNM), Milyangsi, Gyongsangnam-do	N35°36'44.7" E128°57'43.2"
Dalumsan (DAL), Gijanggun, Busan	N35°14'34.1" E129°11'49.5"
Palgongsan (PAL), Daegu	N36°01'05.6" E128°41'07.7"
Gajisan (GAJ), Unyangeup, Ulsan	N35°38'27.5" E129°02'36.2"

수분 매개자 배제(bagging)는 같은 수의 반복을 실시하였으며, 대조구(control)의 경우 화서만을 같은 반복수로 표기하였다.

2. 유전다양성

집단 유전 분석을 위해 경상남도 밀양시 운문산(UNM), 부산광역시 기장군 달음산(DAL), 대구광역시 팔공산(PAL), 울산광역시 울주군 언양읍 가지산(GAJ) 등 4개 지역에서 시료를 채취하였다(Figure 1, Table 1). 현지 내에서의 시료 채취는 집단 내에서 개체 간 최소 20 m 간격으로 최대 50 개체에서 최소 45 개체씩 시료를 채취하였으나, 달음산(DAL)집단의 경우만 예외로 발견된 100여 개체에서 50여 개체를 채취하였다. 채집된 시료는 Phosphate buffer (50 mM), Mercaptoethanol(14 mM), PVP-40(5%), 그리고 Bovine serum albumin(0.1%)를 이용하여 효소를 추출하여 Whatman chromatography paper에 흡수시킨 후 전기영동 실험을 하기 전까지 -70°C에 보관하였다.

전기영동은 12%의 전분 젤을 이용하여 모두 다섯 가지 조합의 Gel/electrode buffer를 이용하였다. 조사한 효소는 catalase(CAT), glutamine dehydrogenase(GDH), glutamate oxalacetate transaminase(GOT), glucose 6-phosphate dehydrogenase(G6PDH), leucine amino peptidase(LAP), malate dehydrogenase(MDH), malic enzyme(ME), phosphoglucoisomerase(PGI), phosphoglucomutase(PGM), peroxidase(PER), isocitrate dehydrogenase(IDH), 6-phosphogluconic acid dehydrogenase(6GPD), shikimic acid dehydrogenase(SKD), menadione reductase(MNR) 등 모두 14개의 동위효소를 분석하여 22개의 유전자좌를 확인할 수 있었다. Gel/electrode buffer의 조합은 다음과 같다(Conkle, 1982); A-Lithium-borate, B-Sodium-borate, C-Tris-citrate, D-Morpholine-citrate, H-Histidine-citrate.

동위효소의 염색방법은 Conkle et al.(1982)의 방법을 이용하였고, 밴드에서 나타나는 추정상의 유전자좌(locus)는 가장 양극 쪽으로 이동한 것부터 1번, 2번 등으로 정하였다. 추정상의 유전자좌의 대립유전자도 또한 가장 양극에 가까운 것부터 a, b, c 등으로 표시하였다. 모든 효소의 구조와 밴드의 유전적 해석은 Kephart(1990)의 방법을 따랐다. 종 수준 및 집단 수준의 유전다양성을 나타내는 다형

성(polymorphism)을 보이는 유전자좌의 비율(percentage of polymorphic loci; *P*)과 유전자좌당 유효유전자의 수(effective number of alleles per locus; *A_e*), 유전자좌당 평균 대립유전자의 수(mean number of alleles per locus; *A*)를 측정하였으며, 집단 간의 변이(interspecific variation)를 측정하는 데는 2가지 방법이 이용하는데, 대립유전자 빈도에 근거한 표준 변이에 대한 집단들 간의 대립유전자 빈도를 계산하는 Wright(1951)의 *F*-statistic을 계산하였다. 그리고 기대이형접합률(*H_e*)를 구하고, *F*-statistics, χ^2 -test를 통해 Hardy-Weinberg 법칙에 따르는 지를 집단별로 조사하며, genetic identity(*I* distance, Nei, 1973; 1978) 등을 계산하였다.

유전자 이동자수(Gene flow)는 Wright의 공식(Wright, 1951)을 이용하여 유전자 이동자수(*N_m*)를 구하였으며, Wright의 공식(Wright, 1951)을 변형시킨 Crow and Aoki (1984)의 공식 $F_{st} = 1/(4Nma+1)$ 을 이용한 유전자 이동자수(gene flow)도 계산하였다($\alpha=[n(n-1)]^2$, *n*은 집단의 수). 유전자형 빈도(genotypic frequency)는 Hardy-Weinberg 법칙에 따라 기대이형접합도와 어떤 차이를 보이는지 확인하였다. 모든 자료의 분석은 BIOSIS-1 program(Swofford, 1989)을 이용하여 분석하였다. 또한, Crow and Kimura (1970)의 공식을 이용 현재의 기대이형접합률(*H_e*)을 유지하기 위한 유효집단의 크기(effective population size; $N_e = H_e/[4\mu(1-H_e)]$)를 제시하였다.

결 과

1. 생식특성

꼬리말발도리의 화분매개충을 파악하기 위하여 운문산과 팔공산지역에서 장기간 관찰한 결과 주요 화분매개자는 벌목(Hymenoptera)의 꿀벌과(Apidae)의 *Lasioglossum exiliceps* (Vachal)이었고 파리목(Diptera)의 꽃등에과(Syrphidae) 호리꽃등에 [*Allograpta balteata* (de Geer)] 등이 가장 중요한 화분 매개충으로 확인되었다. 후자의 경우 적극적인 화분수집은 미약하고 벌종류와는 달리 화분을 몸에 따로 저장하는 기능이 미약하여 2차적 중요 방화곤충으로 확인되었다. 꼬리말발도리의 교배양식을 파악하기 위하여 운문산 지역의 개체들을 대상으로 수분 실험을

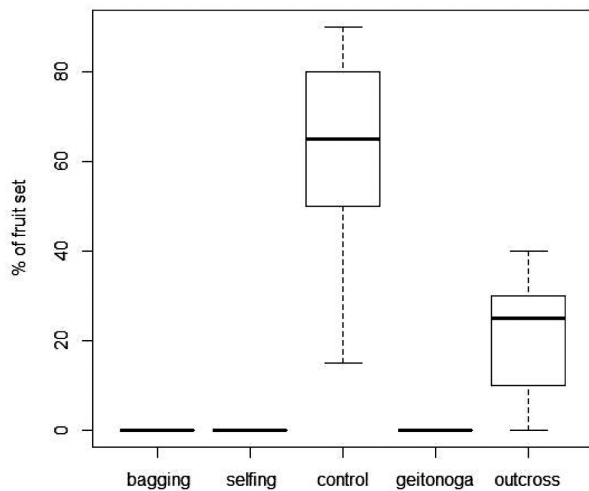


Figure 2. Pollination type and percentage fruit set in wild population of *D. paniculata*.

실시한 결과 각 처리(outcrossing, selfing, geitonogamy, bagging) 중 3가지 처리인 완전자가수분(selfing), 개체내 다른 꽃으로부터 수분(geitonogamy), 수분매개자 배제(bagging)에서는 전혀 결실된 종자를 얻을 수 없었다. 완전타가수분(outcrossing)을 전체 10개의 반복에서 평균 3개 교배가 성공된 것을 확인하였다(Figure 2). 완전타가수분과 대조구에서만 교배가 성공한 것으로 확인되어 꼬리말발도리의 교배양식은 자가수분이 배제되는 타가수분이 주요 교배양식임을 확인하였다.

2. 유전다양성

22개의 유전자좌중 8개의 유전자좌(GOT-2, PGI-2, GDH-1, MNR-1, PER-1, PER-2, PGM-2, 6PGD-2)에서 종 수준의 다형성(polymorphism)을 확인하였다. 다형성을 보이는 유전자좌의 대립유전자의 수는 최대 3개였으며, 유전자좌당 평균 대립유전자수(A_s)는 1.33, 유전다양성(H_{cs})은 0.110이었다(Table 2). 부산 기장군의 달음산 집단(DAL)은 모든 개체에서 8개의 다형성 동위효소 유전형으로는 동일 유전형으로 보여 단일 클론 일 가능성이 높다(Table 3). 유전자좌를 이용 다형성을 나타내는 유전자좌의 비율(P)은 전혀 유전다양성을 보여 주고 있지 않은 달음

산 집단(종 수준에서 가장 높은 다형성을 보이는 PER-1에서 모두 동일 이형접합자)이 최소치인 4.2% (DAL)의 값을 보인 반면, 다른 집단에서는 최대 31.8% (UNM)로 집단 간 많은 차이를 보였다(평균=23.85%). 8개 다형성 유전자좌를 이용한 각 개체별 유전형을 비교한 결과 달음산 집단을 제외한 143개 개체중 132개의 고유유전형(unique genotype)이 확인되었다. 고유유전형을 각 집단내에서 분석한 결과 운문산 집단은 50개 개체중 4개(8%) 개체가 유전형이 중복이었으며, 팔공산집단의 경우 48개 개체에서 집단내 고유유전형을 보였고, 가지산집단의 경우 45개 개체중 6개(13.3%) 유전형이 중복이었다. 전체 유전자좌 당 대립유전자 수(A_p)는 최대 1.5(PAL)에서 최소 1.0(DAL)으로 나타났다(평균=1.33).

각 집단별로 직접 관찰된 이형접합자(Heterozygotes)의 값(H_o)은 달음산 집단(DAL)의 최소 0.045에서 팔공산 집단(PAL)의 최대 0.144로 확인되었다(평균=0.110). 또한, Hardy-Weinberg 평형에 의해 예상되는 이형접합자의 추정비율(H_e)의 경우, 최소 0.023(DAL)에서부터 최대 0.157(PAL)까지 확인할 수 있었다. Hardy-Weinberg의 기대치와의 유의한 편차($P < 0.05$)가 22개 중 4개(18.18%)에서 발견되었으며, 이중 두 개의 유전자좌는 양의 값을 나머지 두 개의 유전자좌는 음의 값을 나타내고 있었다(Table 3). 이처럼 양과 음의 값으로 나뉜 것과 유의성이 있는 유전자좌의 숫자가 극히 적은 점은 현재 조사된 꼬리말발도리의 집단내의 유전적 조성 중 실제 이형접합자의 비율이 Hardy-Weinberg의 유전적 기대치와 비슷한 값을 갖고 있기 때문이다.

조사된 집단 크기와 유전자좌당 대립유전자의 수($r_s=0.7$, spearman rank correlation; Siegel, 1959), 다형성 유전자좌의 비율($r_s=0.8$) 및 이형접합자 기대치($r_s=0.8$) 모두에서 높은 상관 관계를 보여주었다. 꼬리말발도리의 3개 집단내에서의 고정지수인 F_{IS} 값(0.051)은 0에서 크게 벗어나지 않은 것으로 확인되었다. 집단 전체의 고정지수인 F_{IT} 값이 모두 크게 나타나서 집단 내 이형접합자의 비율은 평형을 이루나 종 전체에서는 이형접합자 부족을 보였다(Table 4). 이를 바탕으로 집단 간의 유전적 분화의 정도(F_{ST})를 측정된 결과, 0.132-0.550(평균=0.223)의 값을 보여

Table 2. Genetic variabilities at eight polymorphic loci and mean identity values for four population of *D. paniculata*.

Population	Pop. size	N	A	P	H_o	H_e	I
UNM	3500	50	1.4	31.8	0.130	0.136	0.048
DAL	100	50	1.0	4.5	0.045	0.023	0.242
PAL	2300	48	1.5	31.8	0.144	0.157	0.041
GAJ	1500	45	1.4	27.3	0.107	0.139	0.044
Mean	1,480	48.25	1.33	23.85	0.11	0.110	0.090

Estimates of genetic variation within four populations. Abbreviations: N , number of individuals examined; P , percent polymorphic loci; A , mean number of allele per locus; A_e , effective number of alleles per locus; H_o , observed heterozygosity; H_e , expected heterozygosity.

Table 3. Allele frequencies of polymorphic loci in *D. paniculata*.

Locus	Population			
	UNM	DAL	PAL	GAJ
GOT-2				
A	0.380	0	0.625	0.389
B	0.620	1.000	0.375	0.611
PGI-2				
A	0.810	1.000	0.479	0.567
B	0.190	0	0.417	0.433
C	0	0	0.104	0
GDH-1				
A	0.380	1.000	1.000	1.000
B	0.620	0	0	0
MNR-1				
A	0.770	1.000	0.740	0.989
B	0.230	0	0.260	0.011
PER-1				
A	0.680	0.500	0.104	0.089
B	0.320	0.500	0.344	0.411
C	0	0	0.552	0.500
PER-2				
A	0	0	0.250	0.267
B	1.000	1.000	0.750	0.733
PGM-2				
A	0.140	0	0.135	0.133
B	0.640	1.000	0.604	0.311
C	0.220	0	0.260	0.566
6PG-2				
A	0.270	0	0.396	0.567
B	0.730	1.000	0.604	0.433

Table 4. Wright(1931)'s F -statistics for eight polymorphic loci in *D. paniculata*.

Locus	No. of alleles	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
GOT-2	2	-0.108	0.137	0.221
PGI-2	3	0.148	0.301	0.180
GDH-1	2	0.066	0.580	0.550
MNR-1	2	-0.050	0.088	0.132
PER-1	3	-0.034	0.185	0.212
PER-2	2	0.101	0.234	0.149
PGM-2	3	0.184	0.346	0.199
6PG-2	2	0.108	0.287	0.200
Mean	2.11	0.051	0.263	0.223

집단 간의 분화 정도가 높은 것을 알 수 있다. 즉, 집단내의 변이가 전체 변이의 77.7%로 존재한다. F_{ST} 를 이용한 집단 간 유전자이동(Nm) 값은 0.64로 나타나 집단 간 유전적 이동량이 낮음을 알 수 있다.

각 집단 간의 유전적 거리는 0.011-0.066(평균=0.047)의 값을 나타내, 집단 간 차이가 상대적으로 낮았다. 지리적 거리와 유전적 거리간의 관계는 상관 관계($r_s=0.214$)가 없는 것으로 확인되었다. Nei's(1978) genetic identity에 근거

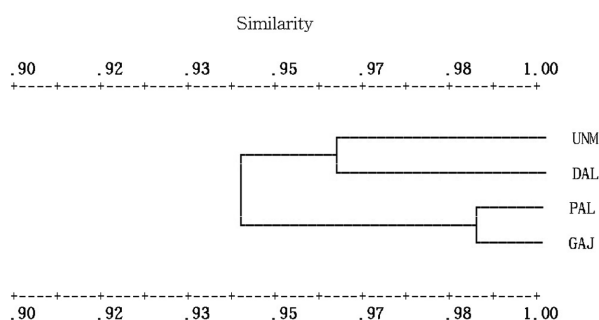


Figure 3. UPGMA phenogram based on Nei's (1978) genetic identities among four populations of *D. paniculata*.

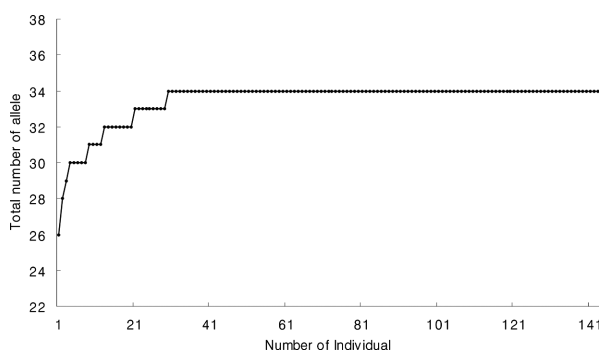


Figure 4. Changes in genetic diversity, total number of alleles with changes in the number of individuals of *D. paniculata*.

한 UPGMA(unweighted pair-group method) phenogram 결과(Figure 3), 대구시 팔공산과 언양읍의 가지산의 유전적 거리가 가장 가까운 것으로 나타났다. 한편, 밀양시의 운문산과 하나의 유전형으로 이루어진 기장군의 달음산과 유전적으로 유사하였다. 각 집단별 기대이형접합율은 차이를 보이고 특히, 팔공산 집단이 가장 높았다. 기대이형접합율을 이용하여 유효집단 크기(N_e)를 간접 추정할 수 있다. 특히, Crow and Kimura(1970)의 공식에서 돌연변이율(10^{-3})을 가장 높게 잡았을 때, 팔공산 집단의 경우 42에서부터 달음산 집단의 12까지 나타났다. 돌연변이율(10^{-7})을 가장 낮게 잡을 경우에는 117,801부터 420,560까지 나타난다. 유전다양성의 확보를 위해 선발된 개체로부터 유전다양성 누적치를 계산한 결과, 전체 집단을 합한 상태에서 유전형을 선발하는 방식으로는 약 30 번째 개체에서 최대 대립유전자(allele)를 얻을 수 있었다(Figure 4).

고찰

1. 생식특성

수분실험 결과, 꼬리말발도리는 타가수정을 주로 하는 식물로 확인되었다. 인공교배가 타식보다 결실율이 높은 것은 수분매개자에 의한 자연교배 보다 화분의 전달효율이 높았기 때문으로 판단된다. 높은 타가수정의 교배전략

을 선택한 식물종에서는 강한 근교약세가 존재하는 것으로 알려져 있다(Charlesworth and Charlesworth, 1978; Chang and Rausher, 1999; Sipes and Wolf, 1997). 꼬리말발도리처럼 완전한 타가수정을 하는 종은 자가수정(selfing), 또는 자가화합성을 보이는 식물보다 개화기간이 길며, 긴 개화기간은 각 개체들이 종자성숙에 필요한 자원 축적을 가능하게 한다(Rathcke and Lacey, 1985). 일반적으로 자가수정과 무성번식에 의존하는 종의 유전다양성은 유전자이동에 의한 재조합과 타가수정(outcrossing) 등의 방식과는 달리 돌연변이(mutation)라는 진화적 인자에 기인하며, 유전형들의 생태적 차이와 생육지의 이질성에 의해 국지적 클론 다양성이 유지될 가능성이 높다. 꼬리말발도리의 유성생식에 의한 개체군의 도입율과 무성번식에 의한 도입율에 대한 정보는 없으나 본 연구에서 관찰한 바에 의하면 단일 유전형이 확인된 집단의 경우 무성번식만이 유일하게 집단을 유지하는 생식 전략이 된다.

2. 유전다양성

동위효소를 marker로 이용한 집단유전학 연구가 축적됨에 따라 분포, 생활사, 생식양식 및 생활형 등 생태적 특징에 따라 식물종의 유전다양성과 유전구조에 대한 예측이 가능해졌다(Hamrick and Godt, 1989). 일반적으로 축적된 자료를 이용한 예측은 종 수준에서는 지리적 범주가, 집단 수준에서는 지리적 분포범주와 교배양식이 잘 반영한다(Hamrick and Godt, 1996). 따라서, 특정한 종에서 나타나는 유전다양성과 유전구조는 이러한 축적자료와의 비교를 통한 종의 특성에 대한 해석이 가능하다. 꼬리말발도리의 경우, 이전의 연구 자료 중 지리적 분포범위에서는 고유종(endemic)과 자가수분(selfing)하는 종 및 영양번식을 하는 종의 평균 유전다양성에 비해서 모두 매우 낮은 유전다양성을 보였다. 따라서, 꼬리말발도리는 타가수분을 하는 생식양식(breeding system)의 특징을 갖는 종임에도 불구하고 매우 낮은 유전변이를 나타낸다. 일반적으로 꼬리말발도리와 같이 낮은 유전다양성을 보이는 유사한 고유종들은 진화의 과정에서 생태적으로 제한된 작은 집단으로 구성되어 있기 때문에 유전적 병목현상과 유전적 부동에 의해서 유전다양성을 잃기 쉽다(Bouzat, 2010).

꼬리말발도리는 집단의 크기가 지역별로 큰 차이를 보이며, 모든 집단에서 뿌리로 무성번식하는 것이 확인되었다(personal observation). 특히, 달음산 집단은(Table 3) 대부분의 개체가 하나의 영양번식체(clone) 집단일 것으로 추정된다. 현재 확인된 집단 크기와 유전다양성(*A*, *P*, *He*)은 높은 양의 상관관계를 보였고, 집단 간의 유적 분화 값이 높게 나타났다. 이처럼 집단의 크기와 유전다양성이 상관관계를 갖는 것은 꼬리말발도리의 각각의 집단들이 완전타가수분이라는 생식양식(breeding system)으로 인하여,

자가수분이 제외된 상태에서 집단의 규모가 일정한 수준 이하(유효집단크기)로 떨어질 경우, 유전적 부동(genetic drift)에 의해 유전다양성을 잃었기 때문인 것으로 판단되며, 실제 유전자좌당 대립유전자의 수와 이형접합자 기대치 모두에서 높은 상관 관계를 보여주는 것은 집단의 급격한 감소에 따른 유전자 병목현상보다는 집단 내 유전자 부동(협의)이 꼬리말발도리의 유전다양성에 영향을 준 중요한 원인으로 추정된다(Ellstrand and Elam, 1993; Hamrick and Godt, 1996).

꼬리말발도리의 경우 각 집단들의 크기가 제한적이며 점유면적과 크기가 가장 작은 집단이 유전다양성이 전혀 없는 취약한 클론집단이라는 점이 확인 되었다. 꼬리말발도리는 완전타가방식의 생식양식을 선호하지만, 현실적으로 모든 생육지에서 좁은 면적에 높은 밀도로 유전적으로 유사한 개체들이 고립되어 있어 결과적으로 유효집단 크기 감소로 인한 개체간의 근친근교(biparental inbreeding)가 일어날 수 있다(Coates and Sokolowski, 1992; Wagenius et al., 2010). 이러한 근교는 유전다양성을 잃게 할 수 있으나(Hamrick and Godt, 1989), 목본식물과 같은 다년생 식물의 경우 집단 내에 여러 개의 다른 cohort이 존재할 경우 하나의 집단이 각 세대별 유전변이를 보유하고 있다. 이러한 특징이 무성번식과 함께 집단에 여러 세대의 유전다양성을 제공하는 완충역할을 할 수 있어 집단의 급격한 유전 다양성 감소를 방지한다(Baker, 1989; Fiedler, 1987; Silvertown and Doust, 1993). 그러나 클론만으로 이루어진 집단은 환경적 변화에 대한 완충능력은 진화적으로는 제한적이며, 이러한 변화가 급격한 경우 절멸에 쉽게 도달하게 된다. 유전다양성의 소실로 인한 근교약세현상 등에 대한 세밀한 연구가 필요하며 특히 단일 유전형을 보인 달음산집단에 대한 지속적인 모니터링을 시도할 예정이다.

3. 집단간의 유전분화

꼬리말발도리는 전체 유전변이는 집단간 변이가 약 22.3%를 나타내고 있다. 이러한 집단의 분화정도는 이전의 연구 축적 자료 중에서 자가수정하는 식물과 자가수정과 타가수정을 겸하는(mixed mating) 식물의 중간 값을 보이고, 타가수분양식에 비해 집단 간의 분화가 더 높은 값을 보였다. 특히, PGI-2, GDH-1, PER-1, PER-2 등의 유전자좌는 한 두 개의 집단에만 다양성을 보이고, 나머지는 두, 세 개 집단은 특정 allele에 고정되어 있어(Table 3), 작은 집단의 크기와 격리와 유전적 부동을 통한 이형접합성, 대립유전자가 감소된 것으로 생각된다. 꼬리말발도리의 집단 간 유전자이동은 종자 및 화분의 낮은 이동성에 의해 제한되어 있고, 현재의 집단 간의 고립 정도로 본다면, 가지산과 운문산 집단을 제외하고는 집단 간의 유전적 교류(gene flow)는 불가능하다(Figure 1). 이러한 지형적 특

성은 높은 F_{ST} 값을 갖게 하며(Wright, 1965; Slatkin, 1993), N_m 값은 0.64로 최근의 집단 간에 유전자 이동은 무시할 수 있을 정도로 매우 낮게 일어났으며, 집단 간의 격리가 상대적으로 오래 전에 이루어 졌음을 알 수 있다. 꼬리말발도리는 개체마다 종자의 결실량과 결실 빈도가 다르고 종자의 이동은 섭식에 의존하지 않고 순수하게 바람과 중력으로 제한된다. 따라서 종자의 이동은 수 m에서 수십 m 내로 제한되어 있을 것으로 생각된다. 그러나 화분의 이동은 주요 화분매개충인 *Lasioglossum exiliceps* (Vachal)의 행동반경인 수 십 m 내에서 주로 이루어졌다. 높은 밀도를 갖는 집단 내 개체들이 동시에 개화하는 것은 수분매개자의 꽃에 대한 접근 가능성을 높여주며(Rathcke, 1983), 이러한 수분매개자의 이동 거리 제한은 화분의 장거리 이동을 제한하였을 것이다. 조사된 집단 중 최소 거리를 유지하고 있는 가지산과 운문산 (7.8 km)의 집단 간의 유전적 분화가 거리가 훨씬 먼 팔공산 집단 (48 km)보다 높은 것으로 보아 가지산과 운문산의 집단 간의 유전적 교류가 거의 없는 것으로 판단된다.

현재의 꼬리말발도리 집단은 모든 생육지가 해발고도 200-900 m에 위치하고 있으며, 지리적으로 최소 7.8 km에서 최대 98 km이상 떨어져 있으며, 생육지간의 환경적 차이는 없었다. 각 집단의 유전구조가 지리적 분포 및 거리와는 상관관계를 나타내지 않으면서, 고립된 집단이 갖는 독립적인 유전적 특성을 가지고 있었다. 고립된 꼬리말발도리 집단의 형성과정에 대한 가설로는 과거에 각 집단들이 연속적으로 넓게 분포하다가 지사적(geological history) 변천에 의해 현재의 생육지에 제한적 분포를 보인다는 것이다. 구체적으로 환경변이가 각 집단들의 개체군에 대한 사망률 증가로 이어져 고립된 집단들의 유효집단의 크기가 줄어들어 근교 약세로 이어졌을 가능성이 높다. 반대가설로는 작은 집단에서 출발한 개체들이 장거리 비산으로 인한 개체군의 확장이 있을 수 있다. 꼬리말발도리의 종자 구조특성상 동물의 먹이, 부착, 혹은 자체 날개로 인한 장거리 비산에 의한 확장은 무리한 것으로 판단된다. 이와 같이 내제적인 원인에 의한 집단들의 감소로 특정한 생육지 조건 내에서 고립되거나 절멸되었을 것으로 보이며, 따라서, 집단의 생존성에 큰 영향을 준 것은 집단 자체적인 문제 즉, 유전자이동, 집단의 크기, 지리적 격리로 판단된다(Delgado et al., 1999).

4. 보전전략

고유종 꼬리말발도리는 경상도 지역에 국한되어 분포하며, 각 집단의 크기가 작고 심하게 분절화되어 있다. 현재의 희귀성에 대한 평가는 분포 면적 및 점유면적으로만 판단된 것이지만(Chang et al., 2001), 최근 발견된 신불산과 천성산 등의 집단을 추가해도 분포범위는 늘어나지 않

고 점유면적만 조금 늘어나 크게 희귀성 평가(IUCN 적색 목록 평가방법)에 영향을 주지 않는다. 생육지의 특성에 대한 구체적인 조사는 별개 연구에서 시도하고 있으며, 현재 관찰한 바에 의하면 점유지역이 제한되어 있으며, 식생의 차이도 크지 않다는 점에서 생육환경인자가 중요한 분포의 제한요소로 작용할 수 있다.

Crow and Kimura(1970)의 공식으로부터 추정된 꼬리말발도리 집단의 유효집단 추정치(N_e)는 최대 42로 이 값은 전체 집단을 합한 상태에서 최대 대립유전자(total number of alleles)에 도달하는데 30개체라는 값보다는 높았다(Figure 4). 팔공산 집단의 경우, 최대 유전다양성을 얻기 위해서는 유전적으로 다른 30개체 이상의 서로 다른 유전형의 개체 선발이 필요하나, 이형접합자의 수를 유지하고 유전부동을 고려한 유효집단크기로 보전에는 최소 42개 이상의 개체가 필요하다는 것이다. 42개 개체는 이론적인 유효크기에 의한 이론적 숫자이며, 30개는 8%의 중복클론을 고려한 실제 유전형이 다른 개체를 얻기 위한 숫자로 차이가 있다. 또한, 각 집단의 유효집단 유지를 위해서는 최대 대립 유전자의 숫자를 늘리는 방향이 필요한데, 유전다양성이 낮은 집단의 경우에는 현지내 보전을 위해 다른 집단의 개체를 확보한 이식이 필요하다. 즉, 다양성이 높은 팔공산 집단을 중심으로 다른 집단의 다양한 유전형 개체와 상호 교배를 통해 소위 집단 간 교배를 통한 유전 다양성 증가가 필요하다.

희귀식물의 현지의 보전을 위한 이식(transplantation)은 집단을 최소 생존가능 크기로 유지하거나, 국지적 유전다양성의 향상에 도움이 되는 관리방안으로 인식되고 있다(Fahselt, 1988; Aavik et al., 2012). 그러나 서로 이질적인 집단을 섞어서 이식할 경우 가장 문제가 되는 부분은 타식약세(outbreeding depression; Frankham et al., 2010) 현상이다. 타식약세의 원인은 상대적으로 유전적 거리가 먼 집단 내에서 지역 적응에 따른 분화가 심화된 경우나, 혹은 염색체 분화에 의한 집단 간 이질화 현상이 심화된 경우인데(Allendorf et al., 2013), 현재 꼬리말발도리의 경우, 이런 원인 요소와는 관련이 없다고 판단되며, 실제 집단 내에서 상당부분 클론 번식을 하고 있어 타식약세에 의한 소멸의 가능성은 거의 없다.

10년간의 지속적인 모니터링의 결과(personal observation), 현재의 4개 집단은 모두 증감없이 유지되는 것으로 확인되었고, 최근 추가로 발견된 2개 집단 모두 국공유림 내에 존재하고 있어 생태적인 원인에 의한 소멸 가능성은 없는 것으로 판단된다. 그러나 이들 집단에 대한 현지내 보전을 위해서는 지속적인 모니터링 작업을 통한 장기간의 생존성 분석이 필요하며, 미션나무 수준의 보호지정 및 생육지 보전이 필요하다(Given, 1994; Chang et al., 2001).

References

- Aavik, T., Edwards, P.J., Holderegger, R., Graf, R., and Biller, R. 2012. Genetic consequences of using seed mixtures in restoration: A case study of a wetland plant *Lychnis flos-cuculi*. *Biological Conservation* 145: 195-204.
- Allendorf, F.W., Luikart, G., and Aitken, S.N. 2013. *Conservation and the Genetics of Populations*. Wiley-Blackwell, Oxford, U.K.
- Avise, J.C. and Hamrick, J.L. 1996. *Conservation genetics, case histories from nature*. Campman and Hall. New York, U.S.A.
- Bae, K.H., Kim, K.J., Kim, N.Y., and Song, J.M. 2012. In vitro culture of rare plant *Bletilla striata* using Jeju magma seawater. *Journal of Plant Biotechnology* 39: 281-287.
- Baker, H.G. 1989. Some aspects of the natural history of seed banks. pp. 9-21. In: M.A. Leck, V.T. Parker, and R.L. Simpson, eds. *Ecology of Soil Seed Banks*, Academic Press. New York, U.S.A.
- Barrett, S.C.H. and Kohn, J.R. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: Implications for conservation. pp. 3-30. In: D.A. Falk and K.E. Holsinger, eds. *Genetics and Conservation of Rare Plants*, eds. Oxford University Press. New York, U.S.A.
- Bouzat, J.L. 2010. Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection, and history. *Conservation Genetics* 11(2): 463-478.
- Chang, C.-S., Kim, H., and Kim, Y.S. 2001. Reconsideration of rare and endangered plant species in Korea based on the IUCN Red List Categories. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 31: 107-142.
- Chang, S.-M. and Rausher, M.D. 1999. The role of inbreeding depression in maintaining the mixed mating system of the common morning glory, *Ipomoea purpurea*. *Evolution* 53: 1366-1376.
- Charlesworth, B. and Charlesworth, D. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *American Naturalist* 84: 665-671.
- Chung, M.Y., Nason, J.D., Sun, B.-Y., Moon, M.-O., Chung, J.M., Park, C.-W., and Chung, M.G. 2010. Extremely low levels of genetic variation in the critically endangered monotypic fern genus *Mankyua chejuense* (Ophioglossaceae) from Korea: Implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 888-896.
- Chung, Y.H. and Shin, H. 1986. Monographic study of the endemic plants in Korea. VI. taxonomy and interspecific relationships of the Genus *Deutzia*. *Korean Journal of Botany* 29: 207-231.
- Coates, D.J. and Sokolowski, R.E.S. 1992. The mating system and patterns of genetic variation *Bankia cuneata* A.S. George (Proteaceae). *Heredity* 69: 11-20.
- Conkle, M.T., Hodgskiss, P., Nunally, L., and Hunter, S. 1982. *Starch Gel Electrophoresis of Conifer Seeds: A laboratory Manual General Technical Report PSW-64*. USDA Forest Service. Pacific Southwest and Range Experiment Station. California, U.S.A.
- Crow, J.F. and Aoki, K. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: Estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 81: 6073-6077.
- Crow, J.F. and Kimura, M. 1970. *An introduction to population genetics theory*, Harper and Row. New York, U.S.A.
- Delgado, D., Piñero, D., Chaos, A., Pérez-Nasser, N., and Alvarez-Buylla, E.R. 1999. High population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine *Pinus rzedowskii* (Pinaceae). *American Journal of Botany* 86: 669-676.
- Ellstrand, N.C. and Elam, D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Review Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Fahselt, D. 1988. The dangers of translocation as a conservation technique. *Natural Areas Journal* 8: 238-241.
- Fiedler, P.L. 1987. Life history and population dynamics of rare and common mariposa lilies (*Calochortus*: Liliaceae). *Journal of Ecology* 75: 977-995.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Eldridge, M.D.B., Lacy, R.C., Ralls, K., Dudash, M.R., and Fenster, C.B. 2010. Predicting the Probability of Outbreeding Depression. *Conservation Biology* 25(3): 465-475.
- Given, D.R. 1994. *Principles and Practice of Plant Conservation*. Timber Press. Portland, U.S.A.
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. pp. 43-63. In: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler, and B.S. Weir, eds. *Plant Population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer, Sunderland. Massachusetts. U.S.A.
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plants species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 351: 1291-1298.
- Hamrick, J.L., Godt, M.J.W., Murawski, D.A., and Loveless, M.D. 1991. Correlations between species traits and allozyme diversity: Implications for conservation biology. pp. 76-86. In: D.A. Falk and K.E. Holsinger, eds. *Genetics and Conservation of Rare Plants*, eds. Oxford University Press. New York, U.S.A.
- Kephart, S.R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozyme: a comparative analysis of techniques. *American Journal of Botany* 75: 1114-1119.
- Kruckeberg, A.R. and Rabinowitz, D. 1985. Biological aspects of endemism in high plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 447-479.
- Li, H., Xie, G., Blum, M.J., Zhen, Y., Lin, M., and Guo, P. 2011. Genetic diversity of the endangered Chinese endemic plant *Monimopetalum chinense* revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Biochemical Sys-*

- tematics and Ecology. 39: 384-391.
- Liu, Y., Wang, Y., Liu, S., and Huang, H. 2010. Allozyme variation of the endangered endemic plant *Myricaria laxiflora*: Implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 463-470.
- Meffe, G.K. and Carroll, C.R. 1994. *Principles of Conservation Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 70: 3321-3323.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterogeneity and genetic distance a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Park, J., Kim, J.M., and Park, K.-R. 2010. Genetic variation in endangered *Scrophularia takesimensis* (Scrophulariaceae) from Ulleung Island. *Botanical Studies* 51: 371-376.
- Park, S.K., Gil, H.Y., Kim, H., and Chang, C.-S. 2013. A Reconsideration of the List of National Endemic Plants (appendix 4-1) Under the Creation and Furtherance of Arboretums Act Proposed by Korea Forest Service. *Journal of Korean Forest Society* 102: 1-21.
- Pauli, H., Gottfried, M., Dullinger, S., Abdaladze, O., Akhalkatsi, M., Alonso, J.L.B., Coldea, G., Dick, J., Erschbamer, B., Calzado, R.F., Ghosn, D., Holten, J.I., Kanka, R., Kazakis, G., Kollár, J., Larsson, P., Moiseev, P., Moiseev, D., Molau, U., Mesa, J.M., Nagy, L., Pelino, G., Puscas, M., Rossi, G., Stanisci, A., Syverhuset, A.O., Theurillat, J.-P., Tomaselli, M., Unterluggauer, P., Villar, L., Vittoz, P., and Grabherr, G. 2012. Recent Plant Diversity Changes on Europe's Mountain Summits. *Science* 336(6079): 353-355.
- Rathcke, B. 1983. Competition and facilitation among plants for pollination. pp. 305-329. In : L. Real, ed. *Pollination Biology*. Academic Press. New York, U.S.A.
- Rathcke, B. and Lacey, E.P. 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. *Annual Review Ecology and Systematics* 16: 179-214.
- Rabinowitz, D., Cairns, S., and Dillon, T. 1986. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of the British Isles. pp. 182-204. In : M. Soulé, ed. *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Siegel, S. 1959. *Nonparamatic Statistics*. McGraw-Hill Kogakusha. Tokyo, Japan.
- Silvertown, J.W. and Doust, J.L. 1993. *Introduction to plant population biology*. Blackwell Science. London, U.K.
- Sipes, S.D. and Wolf, P.G. 1997. Clonal structure and patterns of allozyme diversity in the rare endemic *Cycladenia humilis* var. *jonesii* (Apocynaceae). *American Journal of Botany* 84: 401-409.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- Sworford, D.L. 1989. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 7. Illinois National History Survey.
- Wagenius, S., Hangelbroek, H., Ridley, C.E., and Shaw, R.G. 2010. Biparental inbreeding and interremnant mating in a perennial prairie plant: fitness consequences for progeny in their first eight years. *Evolution* 64: 761-771.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by *F*-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Young, B.E. 2007. Endemic species distribution on the east slope of the Andes in Peru and Bolivia. NatureServe, Arlington, Virginia, U.S.A.
- Zaikonnikova, T. I. 1966. *Deutzias Ornamental Shrubs. A Monographs of Genus Deutzia*. Nauka. Moscow, U.S.S.R. (in Russian)