

황벽나무 자연집단의 유전다양성 및 유전구조 분석

이제완^{1*} · 홍경낙¹ · 강진택²

¹국립산림과학원 산림유전자원과, ²국립산림과학원 기후변화센터

Genetic Diversity and Genetic Structure of *Phellodendron amurense* Populations in South Korea

Jei-Wan Lee^{1*}, Kyung-Nak Hong¹ and Jin-Taek Kang²

¹Division of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

²Center for Forest & Climate Change, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

요약: 본 연구는 ISSR 표지자를 이용하여 국내 분포하는 황벽나무 7개 집단의 유전다양성과 유전구조를 분석하였다. 6개의 ISSR primer를 이용하여 분석한 결과 primer 당 평균 4.5개의 다형성 band를 확인하였고, 각 집단의 다형성 유전자좌의 비율은 평균 78.8%로 나타났다. Shannon의 유전다양성 지수(I)는 0.421로 나타났고, 이형접합체 기대치(H_e)는 평균 0.285로 베이즈 방법을 이용한 평균 이형접합체 기대치($h_s=0.287$)와 유사하였다. AMOVA에서 전체 유전변이의 92.4%가 집단내 개체간 차이에 기인하며, 7.6%는 집단간 차이에 기인하였다. 베이즈 방법을 이용한 유전분화(θ^H)는 0.066으로 추정되었으며, 전체 집단의 근친교배율(f)은 0.479로 계산되었다. 유연관계 분석과 베이즈 군집분석결과 우리나라 황벽나무 집단은 가평, 화천, 봉평, 용평이 하나의 군집을 형성하였고, 산청 지역의 2개 집단(삼장 및 시천)이 다른 하나의 군집을 형성하였으며, 무주 집단이 산청지역의 집단과 지리적으로 근접함에도 불구하고 독립적인 군집을 나타내었다. Mantel's test 결과 집단간 유전적 유연관계와 지리적 분포의 상관성은 나타나지 않았다. 황벽나무의 유전자원보존을 위한 대상 집단 선정 시 생태적 및 생활사적 특징과 함께 본 연구결과에서 나타난 유전다양성과 군집구조 분석결과를 고려하는 것이 효과적일 것으로 사료된다.

Abstract: Genetic diversity and genetic structures were estimated in seven natural populations of *Phellodendron amurense* Rupr in South Korea using ISSR markers. The average of polymorphic loci per primer and the proportion of polymorphic loci per population were 4.5 and 78.8% respectively with total 27 polymorphic loci from 6 ISSR primers. The Shannon's diversity index(I) was 0.421 and the expected heterozygosity(H_e) was 0.285, which was similar to the heterozygosity ($h_s=0.287$) inferred by Bayesian method. In AMOVA, 7.6% of total genetic variation in the populations was resulted from the genetic difference among populations and the other 92.4% was resulted from the difference among individuals within populations. Genetic differentiation(θ^H) and inbreeding coefficient(f) for total population were estimated to be 0.066 and 0.479 by Bayesian method respectively. In Bayesian clustering analysis, seven populations were assigned into three groups. This result was similar to the results of genetic relationships by UPGMA and PCA. The first group included Hwachoeng, Gapyeong, Bongpyeong and Yongpyeong population, and the second included two populations in Sancheong region. Muju population was discretely assigned into the third group in spite of the geographically short distance from the Sancheong region. There was no significant correlation between genetic relationship and geographic distribution among populations in Mantel's test. For conservation of the phellodendron trees, it would be effective to consider the findings resulted from this study with ecological traits and life histories of this species.

Key words : *Phellodendron amurense*, genetic diversity, genetic structure, genetic resources, conservation, ISSR, Bayesian inference, AMOVA

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

서론

인위적인 환경파괴와 기후변화는 생물 종 또는 자연집단의 환경에 대한 적응성에 영향을 미칠 가능성이 있다. 그러나 어떠한 생물 종 또는 자연집단이 환경변화로 인한 새로운 적응성을 요구하는 선발압에 노출될지를 예상하는 것은 쉬운 일이 아니다. 또한, 어떠한 변이체가 그러한 환경변화에 적응하기 위한 가치가 있는지 직접적으로 판단할 수도 없다(Jump et al., 2008). 자연집단에 현존하는 유전 변이체들은 과거의 진화과정을 거치며 현재 환경에 적응한 가치 있는 유전변이체로서 존재하며, 그러한 변이체들은 변화하는 자연 환경에서도 각자의 종 또는 집단을 적응시키기 위한 잠재적인 가치가 있다고 할 수 있다(Jump et al., 2008). 유전 변이체 구성의 정도를 나타내는 척도로서 유전다양성은 생물다양성의 근간이 되는 요소이며 종과 생태계 다양성을 유지하기 위한 가장 기본적인 구성요소가 된다(Spielman et al., 2004). 생물종 내 유전다양성과 지역적인 분포 및 유전구조의 특성 평가는 환경변화에 대한 잠재적인 적응성을 평가하는 척도가 될 수 있으며, 생물다양성 보존을 위한 효율적인 전략을 제시할 수 있다(Hughes et al., 2008).

황벽나무(*Phellodendron amurense* Rupr.)는 운향과(Rutaceae) 황벽나무속의 낙엽 활엽 교목으로 한국, 중국 북동부, 일본, 극동러시아 등지에 자생하며, 습하고 비옥한 산골짜기나 계곡부에 주로 분포한다. 황벽나무는 자웅이주의 충매화이며, 4월~6월에 개화하고, 검은색의 열매는 핵과로 둥글고 7월~10월에 성숙한다(Korea National Arboretum, 2010). 열매 당 2~5개 종자가 형성되고, 종자는 주로 새와 소동물에 의하여 분산된다(Zhe and Dong, 1990). 수피는 연한 회색 또는 회갈색으로 코르크가 잘 발달하여 깊이 갈라지고, 내피가 황색을 띠어 황경피(黃梗皮)나무로 불리기도 한다. 목재는 코르크, 건축재, 가구재, 기구재로 이용하였고, 코르크를 제거하여 납작하게 건조한 수피를 황백(黃柏)이라 하여 건위제(健胃劑)로 이용하였으며, 황색을 내기 위한 염료로도 이용하였다(Ma et al., 2006).

황벽나무에 대한 연구는 주로 추출물의 항균성 및 항산화 활성 연구(Jo et al., 2008; Kim et al., 2010), 조직배양을 통한 황벽나무 대량증식을 위한 증식조건 및 토양순화 조건 구명 연구(Kim et al., 1992), 황벽나무 종자 발아에 대한 침수 및 예냉처리의 영향에 대한 연구(Choi and Seo, 2009) 등이 수행되었다. 또한, 식물상 조사 연구의 일환으로 일부지역에서 황벽나무의 분포여부 및 생태적 입지환경이 조사된 바 있으나(Bae et al., 2009; Jang et al., 2008), 국내에 분포하는 황벽나무 자생 집단의 유전다양성과 유전구조에 관한 연구는 아직까지 이루어지지 않았다.

황벽나무는 인간의 접근이 용이한 완만한 경사의 계곡부에 주로 자생하기 때문에 줄기나 종자를 약용하기 위하여 무분별하게 채취하는 인위적인 간섭에 노출될 가능성이 높으므로, 유전자원 보존을 위한 대책 마련이 시급한 실정이다.

본 연구는 황벽나무 유전자원보존을 위하여 Inter Simple Sequence Repeats(ISSR) 분자표지자를 이용하여 자연집단의 유전다양성을 평가하고 유전구조를 밝혀냄으로써 황벽나무 유전자원의 효율적인 보존 대책 수립에 활용하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. ISSR PCR 분석

본 연구는 화천(Hwacheon), 무주(Muju), 가평(Gapyeong), 산청 삼장면(Samjang), 평창 봉평면(Bongpyeong), 산청 시천면(Sicheon), 평창 용평면(Yongpyeong) 지역의 황벽나무 7개 자연집단을 분석대상으로 하였다(Figure 1). 집단 내 개체목으로부터 유엽을 채취하고, DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. PCR 분석은 총 40개의 ISSR primer를 이용하여 하여 황벽나무에 대한 ISSR PCR 조건을 탐색하였고, 그 중, 증폭산물의

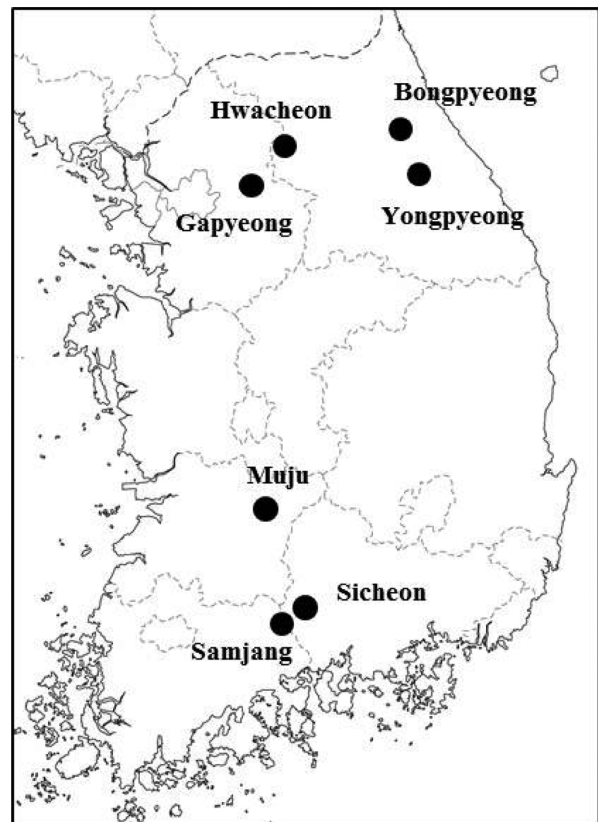


Figure 1. Locations of 7 *Phellodendron amurense* populations sampled in South Korea.

재현성이 우수하고 다형적인 증폭산물이 관찰된 6개의 primer(#807, 810, 811, 815, 822, 825)를 선정하여 분석하였다. 모든 ISSR 산물은 2% agarose gel 전기영동을 이용하여 분획하였다.

2. 유전 통계 분석

ISSR 분석으로부터 관찰된 다형성 변이체를 대상으로 POPGENE 3.2 program(Yeh and Boyle, 1997)을 이용하여 황벽나무 집단의 유전다양성 통계를 구하였으며, GenAlEx 6.2(Peakall and Smouse, 2006)을 이용하여 AMOVA를 수행하여 집단간 유전적 분화 정도를 계산하였다. PYHLIP 3.65(Felsenstein, 2005)를 이용하여 Nei's genetic distance에 기초한 UPGMA와 GenAlEx 6.2를 이용한 주성분 분석을 통하여 집단의 유연관계를 분석하였다. GenAlEx 프로그램을 이용하여 집단의 지리적 거리와 유전적 거리간의 상관성을 분석하기 위한 Mantel's test를 수행하였다. 집단의 Hardy-Weinberg 평형에 대한 가정과 집단내 근친교배의 정도에 대한 사전정보 없이 우성 표지자로부터 집단간 분화정도를 추정할 수 있는 베이지 추론

은 다음과 같이 수행하였다. HICKORY 1.0(Holsinger and Lewis, 2003)을 이용하여 집단간 유전분화(θ^H) 정도와, 집단내 근친교배율(f)을 추정하였으며, ABC4F(Foll et al., 2008)을 이용하여 각 집단내 근친교배율(population-specific F_{IS})과 집단별 유전분화(population-specific F_{ST})를 추정하였다. 황벽나무 집단의 유전형상과 군집구조를 분석하기 위하여 STRUCTURE 2.3(Pritchard et al., 2000)을 이용하여 각각의 군집수에 대하여 20회의 시뮬레이션을 실시하고, Evanno et al.(2005) 방법에 따라 최적군집수(K)를 계산하였다. CLUMPP 1.1(Jakobsson and Rosenberg, 2007) 프로그램을 이용하여 최적군집수에 해당하는 군집확률을 배열하고, DISTRICT 1.1(Rosenberg 2004) 프로그램을 이용하여 도식화 하였다.

결 과

1. 유전다양성

황벽나무 전체 집단을 대상으로 6개의 primer를 이용하여 총 29개의 식별 가능한 band를 확보하였다. 29개의

Table 1. Summary of genetic diversity for 7 populations of *Phellodendron amurense*.

Population	N^z	A_e	H_e	I	%P
Hwacheon	18	1.430 (0.375) ^y	0.251 (0.200)	0.374 (0.280)	74.1
Muju	11	1.501 (0.425)	0.277 (0.211)	0.406 (0.289)	74.1
Gapyeong	26	1.494 (0.385)	0.281 (0.203)	0.412 (0.285)	74.1
Samjang	17	1.500 (0.375)	0.288 (0.193)	0.426 (0.269)	77.8
Bongpyeong	54	1.541 (0.392)	0.303 (0.198)	0.444 (0.272)	81.5
Sicheon	42	1.484 (0.338)	0.289 (0.172)	0.436 (0.237)	85.2
Yongpyeong	40	1.534 (0.379)	0.304 (0.188)	0.450 (0.256)	85.2
Mean	-	1.498 (0.381)	0.285 (0.200)	0.421 (0.270)	78.8

^z N =number of individuals analyzed in each population; A_e =number of effective alleles; H_e =expected heterozygosity; I =Shannon's Information index; %P=proportion of polymorphic loci

^yNumbers in parentheses indicate standard deviations.

Table 2. Average heterozygosity, population-specific inbreeding coefficient and genetic differentiation estimated by Bayesian method for 7 populations of *Phellodendron amurense*.

Population	h_s^z	F_{IS}	F_{ST}
Hwacheon	0.265 (0.015) ^y	0.581(0.102;0.998) ^x	0.438(0.128;0.767) ^x
Muju	0.293 (0.013)	0.690(0.246;1.000)	0.288(0.002;0.666)
Gapyeong	0.279 (0.013)	0.598(0.128;0.999)	0.508(0.161;0.836)
Samjang	0.292 (0.011)	0.651(0.212;1.000)	0.208(0.001;0.454)
Bongpyeong	0.295 (0.008)	0.664(0.239;1.000)	0.224(0.024;0.449)
Sicheon	0.305 (0.011)	0.606(0.129;0.999)	0.440(0.209;0.694)
Yongpyeong	0.281 (0.012)	0.607(0.157;0.999)	0.271(0.039;0.555)
Mean	0.287	0.628	0.340

^z h_s =average heterozygosity within each population from Bayesian computation including MCMC with a burn-in of 50,000 and sampling run of 250,000 iterations; F_{IS} =population-specific inbreeding coefficient; F_{ST} =genetic differentiation estimated by Approximate Bayesian computation

^yStandard deviations in parenthesis

^xThe highest posterior density intervals at 95% credible level in parenthesis

band 중 27개(93%)가 다형성 band로 확인되었으며, primer 당 평균 다형성 band 수는 4.5개로 계산되었다. 평균 유효대립유전자수(A_e)는 1.498로 나타났고, 각 집단의 다형성 유전자좌의 비율(P)은 평균 78.8%로 시천 집단과 용평 집단(85.2%)이 가장 높았으며, 화천, 무주, 가평 집단(74.1%)이 가장 낮았다(Table 1). 이형접합체 기대치는 봉평 집단(0.304)이 가장 높았고, 화천 집단(0.251)이 가장 낮았으며, 평균 0.285로 베이스 방법을 이용한 평균 이형접합체 기대치(0.287)와 유사한 수치를 나타내었다(Table 2). Shannon의 유전다양성 지수(I)는 평균 0.421로 용평 집단(0.450)이 가장 높았고, 화천 집단(0.374)이 가장 낮게 나타났다(Table 1). 유효대립유전자수(A_e), 이형접합도 기대치(H_e), Shannon의 유전다양성 지수(I) 및 베이스 이형접합체 기대치(h_s)의 각각의 평균값을 기준으로 각 집단의 유전다양성을 비교할 경우 삼장, 봉평, 용평 집단의 유전다양성이 높은 경향을 나타내었으며, 화천, 무주 집단의 유전다양성이 낮은 경향을 나타내었다.

2. 유전구조

황벽나무 집단의 유전구조 분석을 위한 베이스 추론에서는 집단의 근친교배와 유전분화를 모두 가정하는 full-model의 편차정보기준(DIC; Device Information Criterion)이 가장 작게 나타나 유전구조 파악을 위한 최적모델로 판명되었다(Table 3). Full-model의 경우에 분석된 황벽나무 집단에서 유전분화 정도를 나타내는 Wright의 F_{ST} 에 대한 베이스 통계인 θ^H 는 0.066으로 나타났고, Nei의 G_{ST} 에 대한 베이스 통계인 G_{ST-B} 는 0.055로 나타나 유전 분화를 나타내는 두 통계량의 차이가 크지 않았다. 전체 집단에 대한 근친교배율은 0.479로 계산되었다. 각 집단별 근친교배율(population-specific F_{IS})은 평균 0.628로 나타났고, 용평 집단(0.607)이 가장 높았고, 화천 집단(0.581)이 가장 낮았다(Table 2). 각 집단별 유전분화(population-specific F_{ST})는 평균 0.340으로 나타났고, 가평 집단(0.508)이 가장 높았고, 삼장 집단(0.208)이 가장 낮게 나타났다. 각각의 황벽나무 집단에 존재하는 근친교배율과 유전분화는 95% 신뢰구간에서 유의한 차이가 나타나지 않아, 뚜렷이 분화

Table 3. Coefficient of inbreeding and genetic differentiation, and the Deviation Information Criterion(DIC) values under four models based on Bayesian method of *Phellodendron amurense*.

Model	f	θ^H	DIC
full	0.479 (0.241) ²	0.066	782.6
f=0	-	0.051	793.5
$\theta=0$	0.685	-	1026.5
f free	0.497 (0.288)	0.104	881.1

²Standard deviations in parentheses

가 이루어진 집단은 나타나지 않았다.

분석된 황벽나무 집단에 대한 AMOVA 결과, 전체 유전변이의 92.4%가 집단내 개체간 차이에 기인하며, 7.6%는 집단간 차이에 기인하는 것으로 나타났다(Table 4). 집단간 유전분화(Φ_{ST} =0.076)는 황벽나무와 분포 범위를 공유하는 교목인 들메나무 집단(Φ_{ST} =0.100; 조경진 등, 2002)보다 낮고, 물들메나무 집단(Φ_{ST} =0.041; Cho et al., 2002)보다 높았으며, 물푸레나무(Φ_{ST} =0.066; Cho et al., 2002)와 비교적 유사한 수치로 나타났다.

3. 유연관계 및 군집구조

분석된 7개 황벽나무 집단간 Nei의 genetic distance에 기초한 UPGMA 군집분석 결과 전체적으로 화천, 가평, 용평, 봉평 및 무주 집단이 하나의 그룹을 형성하였으며, 시천과 삼장 집단이 각각 독립적인 집단으로 분기되었다(Figure 1, 2). 그룹을 형성한 5개의 집단 중 지리적으로 근접한 가평과 화천 집단이 그룹내 소그룹을 형성하였고, 용평과 봉평 집단이 또 하나의 소그룹을 형성하여 지리적인 위치를 반영하는 유연관계를 나타내었다. 그러나 무주 집단은 상대적으로 시천 및 삼장 집단과 지리적으로 근접함에도 불구하고 이들 집단과 그룹을 형성하지 않고, 전술된 4개 집단과 같은 그룹을 형성하였다. 또한, 시천과 삼장 집단은 지리적 근접성에도 불구하고 하나의 그룹을 형성하지 않고 각각 독립적인 집단으로 분기됨에 따라 집단

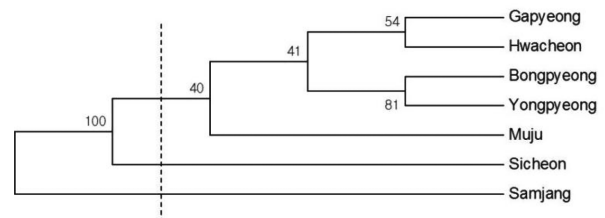


Figure 2. Dendrogram based on Nei's genetic distance by UPGMA method for 7 populations of *Phellodendron amurense* in South Korea. Numbers on the branches represent the bootstrap values based on 100 replications in bootstrapping analysis.

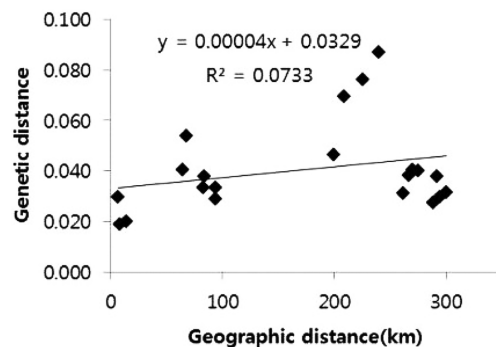


Figure 3. The correlation of genetic distance with geographic distance between populations.

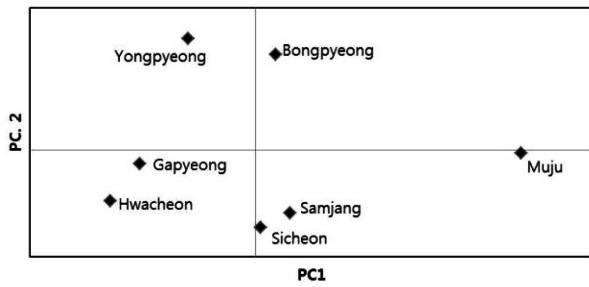


Figure 4. Biplot of principal component analysis based on the Nei's genetic distance for 7 populations of *Phellodendron amurense*.

간 유전적 유연관계와 지리적 근접성에 의한 유전적 유사성은 뚜렷이 나타나지 않았다. 집단간 지리적 거리와 유전적 거리에 대한 Mantel's test 결과에서도 두 인자간 상관성($r=0.271, P>0.05$)이 나타나지 않아 지리적 근접성에 따른 유전적 유사성은 나타나지 않았다(Table 4, Figure 3). 주성분 분석에서는 상위 3개의 주성분이 전체 변이의 80.1%(제1주성분=44.1%, 제2주성분=21.7%, 제3주성분=14.3%)를 설명하였으며 제1주성분과 제2주성분에 의한 분포도에서 UPGMA 결과에서와 같이 가평과 화천 및 용평과 봉평 집단이 비교적 가깝게 분포하였고, 시천과 삼장 집단이 상대적으로 가깝게 분포하였다. 반면, 무주 집단은 UPGMA 결과와 달리 다른 집단에 대하여 비교적 독립적으로 분포하였다(Figure 4). UPGMA와 주성분분석에서 나타난 유연관계 및 지리적 분포에 근거하여 7개의 황벽나무 집단을 가평, 화천, 봉평 및 용평 그룹, 시천 및 삼장 그룹, 무주 집단을 별개로 하여 3개의 그룹으로 가정하는 AMOVA

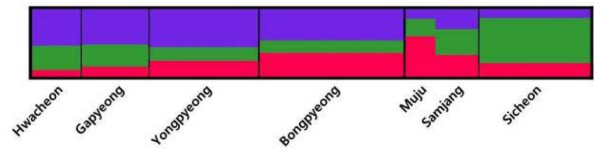


Figure 5. Population structure inferred by Bayesian clustering method using the STRUCTURE program. The different colors represent three different clusters ($K=3$). Vertical lines separate the 7 populations of *Phellodendron amurense* in South Korea. Population names are in subscript below each segment.

에서 전체 유전변이의 5.7%는 그룹간 차이에 기인하였고, 4.2%는 그룹내 집단간 변이에 기인하였으며, 90.1%는 그룹내 차이에 기인하는 것으로 나타났다(Table 5).

황벽나무의 군집구조 분석을 위하여 STRUCTURE 프로그램을 이용하여 베이지 군집구조 추론을 실시하고, Evanno et al.(2005)의 방법에 따라 최적군집수(K)를 계산한 결과 황벽나무 7개 집단의 최적군집수는 $K=2$ 로 나타났다. 분석된 7개의 집단을 최적군집수($K=2$)에 따라 두 개의 군집으로 가정하고, 각 집단이 군집에 할당될 사후확률을 기준으로 판정할 때 화천, 가평, 삼장, 시천 집단이 하나의 군집에 할당되었고, 무주, 봉평, 용평 집단이 다른 하나의 군집에 할당되었다(Table 6). 상기 언급된 빈도주의 유연관계 분석 결과에서와 같이 베이지 군집구조 분석에서도 최적군집수($K=2$)를 가정한 상황에서 각 군집에 할당된 집단간 지리적 근접성은 나타나지 않았다. 반면, 황벽나무 집단을 차상위 최적군집수($K=3$)로 가정하고, 각 집단이 군집에 할당될 사후확률에 따라 구분한 결과에서

Table 4. Pairwise Nei's genetic distance and geographic distance. The values below diagonal present Nei's genetic distance, while those above diagonal present geographic distance(km) between populations.

	Hwacheon	Muju	Gapyeong	Samjang	Bongpyeong	Sicheon	Yongpyeong
Hwacheon	****	239.73	8.51	294.48	84.23	299.95	94.34
Muju	0.087	****	225.70	64.86	199.56	68.51	208.72
Gapyeong	0.019	0.076	****	288.92	82.96	292.17	93.96
Samjang	0.030	0.040	0.028	****	261.69	6.91	269.84
Bongpyeong	0.038	0.046	0.034	0.031	****	266.52	14.51
Sicheon	0.032	0.054	0.038	0.030	0.038	****	274.90
Yongpyeong	0.034	0.069	0.029	0.040	0.020	0.040	****

Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) for 208 individuals from 7 populations of *Phellodendron amurense*. Groups were designated based on the results from genetic relationships and Bayesian clustering.

Source of variance	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation(%)	P value
Among populations	6	75.972	0.312	7.6	<0.001
Within populations	201	757.653	3.769	92.4	<0.001
Among groups	2	39.632	0.238	5.7	<0.001
Among populations within groups	4	36.340	0.174	4.2	<0.001
Within populations	201	757.635	3.769	90.1	<0.001

Table 6. Proportion of each population assigned to each cluster (K=2 and K=3) inferred from STRUCTURE program.

Population	Inferred cluster (K=2)		Inferred cluster(K=3)		
	1	2	1	2	3
Hwacheon	0.700^z	0.300	0.099	0.363	0.539
Muju	0.315	0.685	0.597	0.261	0.142
Gapyeong	0.683	0.317	0.148	0.332	0.520
Samjang	0.503	0.497	0.321	0.383	0.296
Bongpyeong	0.419	0.581	0.353	0.184	0.463
Sicheon	0.760	0.240	0.201	0.670	0.130
Yongpyeong	0.434	0.566	0.234	0.204	0.562

^zThe highest values among posterior proportions assigned to each cluster are in bold.

는 지리적으로 근접한 화천, 가평, 봉평, 용평 집단이 하나의 군집에 할당되었고, 삼강, 시천 집단이 다른 하나의 군집에 할당되었으며, 무주 집단은 독립적인 군집으로 할당되었다(Table 6, Figure 5). 이러한 군집 분포 양상은 빈도주의 유연관계 분석 결과와 유사하였는데(Figure 2, 4), 이는 최상위 최적군집수(K=2)보다 차상위 최적군집수(K=3)를 기준으로 군집을 할당할 때 집단간 지리적 위치를 고려한 군집분포를 설명하는데 보다 용이함을 나타낸다.

고 찰

1. 황벽나무 집단의 유전다양성

황벽나무는 교목으로 분포지역이 한정되어 있으며, 자웅이주에 의한 타가교배 양식을 갖는다. 종자는 주로 새와 소동물에 의하여 산포되는데, 주로 계곡부를 따라 분포하는 특성을 고려할 때 중력과 물에 의한 종자분산이 함께 이루어지는 것으로 판단된다(Zhu and Dong, 1990). 국내에 분포하는 황벽나무 집단의 유전다양성($H_e=0.285$)은 Nybom(2004)이 RAPD 표지에 의해 추정된 유전다양성 자료의 메타분석을 통하여 제시한 다년생 식물($H_e=0.250$)과 동물이나 새의 섭식에 의한 종자산포 식물($H_e=0.240$)의 평균 유전다양성 보다 다소 높았으며, 분포면적이 좁은 식물($H_e=0.280$)과 바람 또는 물에 의한 종자분산 식물($H_e=0.270$) 및 타가 교배양식 식물($H_e=0.270$)의 유전다양성 평균값과 유사하였다. 황벽나무 집단의 Shannon의 유전다양성 지수(I)는 평균 0.421로 AFLP 표지로 추정된 중국에 분포하는 황벽나무 집단(0.237; Yan et al., 2006) 보다 높고, 황벽나무와 분포 범위를 공유하는 교목인 들메나무의 ISSR 표지 분석결과(0.509; 조경진 등, 2002)와 비교하여 낮게 나타났다. 교배양식과 생활사적 특징이 식물 집단의 유전다양성 양상을 결정하는 중요한 요소임을 고려하면(Hamrick and Godt, 1996; Nybom, 2004), 상기 언급된 유전다양성의 유사성은 황벽나무의 교배양

식과 생활사적 특징을 반영하는 결과로 추정된다.

2. 황벽나무 집단의 유전구조

황벽나무의 유전분화($\theta''=0.066$)는 분포 범위, 번식 및 생활사적 특징이 유사한 들메나무($F_{ST}=0.084$; Hu et al., 2009)보다 다소 낮았으며, 물들메나무($\Phi_{ST}=0.041$; Cho et al., 2002)보다 다소 높았고, 물푸레나무($\Phi_{ST}=0.066$; Cho et al., 2002)와 유사하였다. 황벽나무의 자연 분포 지역은 중국 북동부, 극동러시아, 일본에 해당하며, 우리나라에는 백두대간을 중심으로 분포하고 있다(Ma et al., 2006). 본 연구의 분석에 사용된 황벽나무 집단 이외의 지역에서는 황벽나무 개체들이 일정 지역에 집단을 형성하기보다는 소규모의 군집 또는 단목으로 존재하는 것으로 관찰되었다(자료 미제시). 이는 황벽나무가 역사적으로 약재 원료나 염료로 사용된 특성과, 빨감이나 화전 개간에 따른 인위적 교란 때문인 것으로 추정되며, 과거 백두대간을 중심으로 보다 연속적인 집단의 형태로 존재했을 것으로 추론된다(Kong, 2003). 일반적으로 연속적 분포, 긴 생활 주기, 타가교배, 바람에 의한 수분 매개를 하는 식물에서 그렇지 않은 식물과 비교하여 낮은 집단간 유전분화 정도를 나타내는데(Nybom, 2004), 이러한 측면에서 황벽나무 집단은 비교적 낮은 유전분화 정도를 나타내고 있는 것으로 판단된다. 근사적 베이저안 분석(ABC) 결과에서도 각 집단별 유전분화(population-specific F_{ST})값이 최고사후밀도 구간을 공유하고 있어 특이적으로 분화된 집단은 관찰되지 않았다. 그러나 최근의 산림개발로 인한 자생지 축소 및 불법 채취·훼손 등으로 인한 황벽나무 집단의 개체수 감소와 이에 대한 유전자 부동으로 메타집단의 유전분화를 증가시킬 소지가 있다(Young et al., 1996; Provan et al., 2008; Tero et al., 2003).

자웅이주 식물은 생리, 생태적 환경에 따라 자성과 음성 개체간 성비의 편향이 나타날 수 있는데(Gao et al., 2009), 황벽나무는 자웅이주 식물로서 분석된 집단에서 공통적으로 음성개체에 비하여 자성개체가 극히 드물게 관찰되었다(자료 미제시). 자웅이주 교배양식에 따른 성비 불균형 및 조류의 생활반경과 중력 및 수매분산에 의존하는 제한된 종자 분산 방식은(Zhu and Dong, 1990) 잠재적으로 유효집단의 감소, 집단간 새로운 변이체 유입의 결핍 및 근친교배를 야기할 수 있으며(Gaudeul et al., 2000; Lee et al., 2009), 소규모 집단은 유전자 부동에 의한 유전자 소실이 야기될 가능성이 있다(Honnay and Jacquemyn, 2006). 분석된 집단 중 집단 크기가 가장 작은 무주 집단은 근친교배율이 가장 높았으며(Table 2), STRUCTURE 프로그램을 이용한 베이스 군집분석 결과에서 최적군집수(K=3)에 따라 우리나라 황벽나무를 3개의 군집으로 분류할 때 별개의 독립된 군집에 할당될 사후확률(0.597)이

가장 높았다. 이는 UPGMA와 PCA 분석에서 지리적으로 인접한 산청지역의 두 개의 집단(삼장, 시천)과 별개의 독립적인 집단으로 나타난 결과와 유사한 결과로서, 세대에 걸친 근친교배 증가와 유전다양성 감소를 수반한 유전분화가 진행될 가능성을 배제할 수 없는 것으로 추정된다 (Young et al., 1996; Rossetto, 2006).

3. 황벽나무 유전자원 보존

우리나라에 분포하는 황벽나무는 경사가 완만한 계곡 부에 주로 분포하고 있으며, 분포지역의 해발고(평균 675~900 m)가 높지 않아 비교적 사람의 접근이 용이하고, 약용되는 특성으로 인한 불법 채취로 인하여 훼손의 위험성이 높아 보존 대책의 마련이 시급하다고 할 수 있다. 생물종의 유전다양성 감소는 생식능력의 감소와 같은 유전적 요인에 의한 멸종 위험성을 상승시킬 수 있으며 (Spielman et al., 2004), 장기적으로 불확실한 환경변화에 대처하는 잠재적인 진화적 적응성의 감소로 이어질 수 있기 때문에 (Jump et al., 2008), 산림유전자원 보존 집단 선정 시 보존 대상의 유전다양성에 대한 고려가 우선적으로 필요하다. 본 연구에서 우리나라 황벽나무는 전체적으로 종의 특성을 반영하는 유전다양성을 나타내었으며, 유전분화 정도가 심하지 않으므로 다수의 집단을 현지내 보존하기보다 가급적 유전다양성이 높고, 생육상태 및 식생구조 등의 생물학적 요소가 우수한 지역을 대상으로 토지 소유형태, 위해요소 여부, 지역적 사회 여건 등의 사회적 요소를 고려한 우선순위에 따라 현지내 보존 집단을 선정하는 것이 바람직할 것이다 (Hong et al., 2013). 또한, 황벽나무의 자웅이주 특성에 의한 성비불균형은 유효집단의 감소, 근친교배 증가 및 유전다양성의 감소를 초래할 수 있으므로 자성개체의 증식 및 복원을 통한 현지의 보존을 병행하는 것이 효과적일 것으로 사료된다. 다만, 현지내 보존 측면에서 보존 집단 선정 시 현재 황벽나무 집단의 유전분화 정도가 낮은 수준이라도, 황벽나무의 교배양식을 고려한다면, 집단 규모와 향후 유전다양성 감소 위험성을 감안하여 군집구조를 기준으로 보존 대상 집단을 선정하는 것도 유리한 것으로 보인다. 군집구조를 고려하는 경우 1) 가평, 화천, 용평, 봉평 집단 2) 시천과 삼장 집단 및 3) 무주 집단을 각각 하나의 보존단위로 설정할 수 있다. 각 보존단위에서 유전다양성을 고려할 경우 각 보존단위 별 유전다양성 지수가 높게 나타난 용평, 시천, 무주 집단이 보존 후보 집단으로 선정될 수 있다.

우리나라의 산림유전자원 보존은 산림보호법에 의한 보호구역 중 산림유전자원보호구역의 형태로 지정·보호되고 있는데, 보호 목적에 따라 1) 고산지대 식물, 2) 산림습지 및 산림 내 계곡천, 3) 자연생태계 보존지역, 4) 희귀식물 자생지, 5) 유용식물 자생지, 6) 우리나라 고유의 진귀

한 임상, 7) 원시림의 7가지 유형으로 지정된다. 현지내의 진화적 동태를 고려한 생물종의 보존을 위해서는 종이 분포하는 일정 지역에서의 집단내 유전다양성을 보존하는 것이 중요하며 (White et al., 2007), 유전적 진화 과정을 유지하기 위한 관리 활동이 목표 수준에 알맞게 적용되어야 하므로 (Koskela et al., 2013), 보존 대상 수준을 핵심수종으로 보존하는 형태의 산림유전자원보호구역 지정이 합리적인 것이다. 따라서 황벽나무 유전자원보존은 집단 수준에서의 유전다양성을 고려하고 황벽나무를 핵심수종으로 하는 유용식물자생지유형의 독립적인 산림유전자원보호구역으로 지정하는 것이 바람직한 것으로 보인다.

인용문헌

- Bae, K.H., Kim, J.S., Hong, J.K., Oh, S.H., Cho, H.J., and Yoon, C.W. 2009. A Study on Vascular Plants in Mt. Myobong, Seokpo-ri, Bonghwa-Gun. The Journal of Korean Institute of Forest Recreation 13: 35-44.
- Cho, K.J., Chung, J.M., Kim, W.W., Hong, Y.P., and Jang, S.S. 2002. Population Genetic Structure of Three *Fraxinus* Species in Korea. Symposium on population and evolutionary genetics of forest trees. Star Lesn, Slovakia. August 25-29. pp. 53.
- Cho, K.J., Chung, J.M., Kim, W.W., Kim, Y.M., and Hong, Y.P. 2002. Genetic Variation of Populations of *Fraxinus mandshurica* Rupr. in Korea (Oleaceae) Based on I-SSR Marker Analysis. Proceedings of Korean Forest Society pp. 114-115.
- Choi, C.H. and Seo, B.S. 2009. Effect of Soaking and Pre-chilling Treatment on Seed Germination of *Phellodendron amurense* Rupr. Korean Journal of Plant Resources 22: 111-115.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology 14: 2611-2620.
- Felsenstein, J. 2005. PHYLIP (phylogeny inference package) version 3.65. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle (Distributed by the author).
- Foll, M., Beaumont, M.A., and Gaggiotti, O. 2008. An approximate Bayesian computation approach to overcome biases that arise when using amplified fragment length polymorphism markers to study population structure. Genetics 179: 927-939.
- Gao, P., Kang, M., Wang, J., Te, Q., and Huang, H. 2009. Neither biased sex ratio nor spatial segregation of the sexes in the subtropical dioecious tree *Eurycorymbus cavaleriei* (Sapindaceae). Journal of Intergrative Plant Biology 51: 604-613.
- Gaudeul, M., Taberlet, P., and Till-Bottraud, I. 2000. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpi-*

- num* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology* 9: 1625-1637.
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 351(1345): 1291-1298.
- Holsinger, K.E., Lewis, P.O., and Dey, D.K. 2002. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. *Molecular Ecology* 11: 1157-1164.
- Hong, K.N., Lee, J.W., and Kang, J.T. 2013. Genetic Diversity and Population Genetic Structure of *Exochorda serratifolia* in South Korea. *Journal of Korean Forest Society* 102(1): 122-128.
- Honnay, O. and Jacquemyn, H. 2007. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology* 21: 823-831.
- Hu, L.J., Uchiyama, K., Saito, Y., and Ide, Y. 2010. Contrasting patterns of nuclear microsatellite genetic structure of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* between northern and southern populations in Japan. *Journal of Biogeography* 37(6): 1131-1143.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.C., Underwood, N. and Vellend, M. 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters* 11: 609-623.
- Jang, I.G., Bae, K.H., and Kim, J.S. 2008. A Study on Forest Vegetation in Baekcheon Valley. *The Journal of Korean Institute of Forest Recreation* 12: 27-37.
- Jo, H.J., Lee, S.K., Kang, H.Y., Choi, D.H., and Lee, T.S. 2008. A Study on the Extractives and Antioxidation Activity of *Phellodendron Amurense* and *Pueraria Thunbergiana*. *Forest Bioenergy* 27: 19-25.
- Jump, A.S., Marchant, R., and Penuelas, J. 2008. Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science* 14: 51-58.
- Kim, J.H., Goo, G.H., Choi, M.S., and Park, Y.G. 1992. Micropropagation and Soil Adjustment of Cork Tree (*Phellodendron amurense* Rupr.) through in Vitro Culture. *Korean Journal of Plant Tissue Culture* 19(1): 37-42.
- Kim, K.E., Kim J.H., Hong, S.K., Kim, T., and Kim, D. 2010. Anti-acne and Anti-atopic Dermatitis Effect of Plant Extracts Including *Eucommia ulmoides* Oliv and *Phellodendron amurense*. *Korean Chemical Engineering Research* 48(6): 700-703.
- Kong, W.S. 2003. *Vegetation History of the Korean Peninsula*. Acanet. Seoul. Korea. pp. 580.
- Korea National Arboretum. 2010. *A Field Guide to Trees & Shrubs*. Geobook. Seoul. Korea. pp.726.
- Koskela, J., Lefèvre, F., Schueler, S., Kraigher, H., Olrik, D.C., Hubert, J., Longauer, R., Bozzano, M., Yrjänä, L., Alizoti, P., Rotach, P., Vietto, L., Bordács, S., Myking, T., Eysteinnsson, T., Souvannavong, T., Fady, B., Cuyper, B.D., Heinze, B., Wühlisch, G.V., Ducouso, A., and Ditlevsen, B., 2013. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biological Conservation* 157: 39-49.
- Lee, H.S., Chang, C.S, Kim, H., and Choi, D.Y. 2009. A preliminary population genetic study of an overlooked endemic ash, *Fraxinus chiisanensis* in Korea using allozyme variation. *Journal of Korean Forest Society* 98: 531-538.
- Ma, J.S., Cao, W., Liu, Q.R., Yu, M., and Han, L.J. 2006. A revision of the genus *Phellodendron* (Rutaceae). *Edinburgh Journal of Botany* 63: 131-151.
- Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* 13: 1143-1155.
- Peakall, R.O.D. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Provan, J., Beatty, G.E., Hunter, A.M., McDonald, R.A., McLaughlin, E., Preston, S.J., and Wilson, S. 2008. Restricted gene flow in fragmented populations of a wind-pollinated tree. *Conservation Genetics* 9(6): 1521-1532.
- Rossetto, M. 2006. Impact of habitat fragmentation of plant populations. pp. 117-129. In: J. Henry, ed. *Plant Conservation Genetics*. Haworth Press, Inc. NY. USA.
- Spielman, D., Brook, B.W., and Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 101: 15261-15264.
- White, T.L., Adams, W.T., and Neale, D.B. 2007. *Forest Genetics*. Cromwell Press, UK. pp. 682.
- Yan, Z.F., Zhang, B.G., Zhang, Z.O., and Yu, J.L. 2006. Genetic diversity in wild populations of *Phellodendron amurense*, a rare and endangered medicinal plant, detected by AFLP. *Biodiversity Science* 14: 488-497.
- Yeh, F.C. and Boyle, T.J.B. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany* 129: 157.
- Young, A., Boyle, T., and Brown T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 413-418.
- Yu, J.H., Chen, C.M., Han, S.J., Guo, X.R., Yuan, S.S., Wang, C.J., and Zu, Y.G. 2013. Development and Characterization of Polymorphic Microsatellite Loci in *Phellodendron amurense* (Rutaceae). *Applications in Plant Sciences* 1(3): 1200321.
- Zhu, N. and Dong, D.H. 1990. Seed dispersal, dormancy, seed bank and regeneration of Amur Corktree. *Journal of Northeast Forest University* 1: 16-22.