

AFLP 표지자에서 나타난 전라남도 부안의 북방한계지에 자생하는 호랑가시나무 군락의 유전적 단형성

홍경낙* · 박유진 · 이제완 · 김영미
국립산림과학원 산림유전자원과

Genetic Monomorphism of the Natural *Ilex cornuta* Community at the Northern Range Limit in Buan, Jeollanam-do in Korea Revealed by AFLP Markers

Kyung Nak Hong*, Yu Jin Park, Jei Wan Lee and Young Mi Kim

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

요약: 한 지역의 특수한 환경에 오랫동안 반복적으로 노출된 집단의 개체가 지닌 지역적응성(local adaptation)은 육종이나 유전자원보존, 진화생물학적 측면에서 가치가 높으며, 북방한계지의 집단은 이러한 적응 유전형질이 발현될 가능성이 높은 곳 중 하나이다. 호랑가시나무의 북방한계지인 전라북도 변산반도의 부안 도청리 호랑가시나무 군락(천연기념물 제122호)은 성목 744본과 치수 211본(이하 군락)으로 구성되며, 인접지에 후계목 유도를 위해 85본(이하 식재림I) 및 27본(이하 식재림II)이 식재되어 있다. 총 85개체의 엽시료를 채취하여 유전변이 분석을 실시하였는데 AFLP primer 4조합에서 얻은 143개 증폭산물중 다형성 유전자좌는 52개(36%)였다. 85개체는 13개 유전자형으로 나뉘었는데, 군락의 성목과 치수 52개체는 모두 동일한 유전자형을 갖고 있으며, 식재림I과 식재림II는 각각 7개와 5개의 유전자형을 보유했다. 군락과 식재림(I과 II)간 또는 두 식재림간 공통된 유전자형은 관찰할 수 없었으며, 군락과 식재림I, 식재림II에서 해당 그룹에서만 고유하게 관찰되는 유전자좌는 각각 2개, 6개, 4개로 나타나서 이들의 유전적 기원에 상당한 차이가 있을 것으로 생각된다. 두 식재림은 수령이 다를 뿐 아니라 유전적 구성의 차이도 뚜렷해서 서로 다른 경로를 거쳐 조성된 것으로 추정된다. 도청리 군락에서 유전적으로 동일한 수그루만 관찰됐다는 사실과 삼목은 물론 취목에 의한 영양번식도 용이한 점을 고려하면, 군락은 암나무의 선별적 굴취에 따른 결과가 아니라 수나무의 근맹아 발생에 의해 이루어진 클론개체(genet)일 가능성이 크다.

Abstract: Individuals in the population under a particular environmental condition influencing recurrently for a long time could locally adapted and local adaptation is of a fundamental importance in a breeding program, conservation activities of genetic resources or evolutionary biology. Plants at northern range limits have higher probability of expressing an adaptative genetic trait. The natural community at the northern range limit of *Ilex cornuta* (Chinese holly) in Buan, Jeollanam-do in Korea was composed of adults of 744 and seedlings of 211 (hereafter Community) and is designated as the Korean Natural Monument (No. 122) by the law. At two adjacent areas to Community, 85 (hereafter Plantation I) and 27 hollies (hereafter Plantation II) were planted respectively for preparations of the next generation. Eighty-five trees were sampled for genetic analysis in the three groups. Fifty-two (36%) of the total 143 amplicons were polymorphic from four AFLP primer combinations. A total of thirteen genotypes was identified and just one genotype was for 52 trees of Community. Seven and five genotypes were shown for Plantation I and II, respectively. There was no identical genotype between Community and Plantation (I or II) or between two plantation groups. Number of private loci was 2 for Community, 6 for Plantation I and 4 for Plantation II. We presumed their genetic backgrounds were quite different with one another and the plantation groups were made independently because they were different not only the genetic compositions but also their ages. Considering the genetic monomorphism by AFLP markers, observations of only male trees and asexual propagation as layerage or cuttage, the hollies in Community might be a genet by root suckering from a single male tree, not the results of selective removal of female trees for ornamental use in the past.

Key words: chinese holly, genetic diversity, putative clone, clonality, genetic conservation

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

서 론

한 지역의 특수한 환경에 오랫동안 반복적으로 노출된 집단의 개체는 다른 지역에 서식하는 동일종 개체보다 해당 환경에서 더 잘 살아갈 수 있다. 이러한 ‘지역적응성(local adaptation)’은 육종이나 유전자원보존, 진화생물학적 측면에서 가치가 높지만 해당 지역의 가혹한 환경조건이 발생하기 전에는 확인하기 어렵기 때문에 중요성이 간과될 수 있다(Leimu and Fischer, 2008). 주 분포지에서 벗어난 주변 집단(peripheral population; Lepping and White, 2006)이나 풍혈(wind whole)과 같은 특이한 국소 환경에 자리잡은 집단(Kong et al., 2011) 등이 이에 해당되는데, 특히 식물의 북방한계지는 지리적 위치(위도)로 규정되는 자생지로서 흔히 고립된 집단으로 존재하며 생육기온 조건에 관계된 유전형질이 발현될 가능성이 높다(Eckert et al., 2008).

호랑가시나무(*Ilex cornuta* Lindl.; Chinese holly)는 전라북도 고창군, 전라남도 완도군과 해남군, 제주도 북제주군에 소규모 군락으로 자생하며, 중국 남부 및 동북부에도 분포한다(Lee, 1983). 호랑가시나무는 감탕나무과 감탕나무속에 속하는 수고 5 m의 상록활엽소교목(常綠濶葉小喬木)으로 해발 100 m 이내 저지대에서 자란다. 주로 암수딴그루 또는 드물게 잡성화이며, 흰색 꽃이 4-5월에 개화하고, 풍매 혹은 충매에 의해 수정된 종자는 10월경 성숙한다. 외국에서 호랑가시나무는 조경수로 각광받고 있으며(Knight et al., 1993; Koh et al., 2005), 기능성 음료(Wu et al., 2008)로 응용되거나 한의학에서 약용 처방(Hong, 2003)되고 있지만, 우리나라 자생지에서는 잎의 각점에 난 가시로 인하여 해로운 수목으로 취급되거나 이용성이 떨어져서 제거되었으며(Yim, 1979; Lee, 1983), 관광객에 인한 자생지 훼손(Park et al., 2000)이나 불량한 생육환경으로 인한 개체군 쇠퇴(Kwon et al., 2011)가 우려되고 있어서 유전자원 보존이 필요하다. 특히, 천연기념물 제122호로 지정된 전라북도 변산반도의 ‘부안 도청리 호랑가시나무 군락’은 호랑가시나무의 북방한계지로 식물분포학상 가치가 있는데 생육상황이나 분포에 대한 연구(Park et al., 2000)는 수행되었으나 유전다양성이나 유전구조에 대한 연구는 미흡하다(Son et al., 2007).

Amplified fragment length polymorphism(AFLP) 표지자는 유전정보가 부족한 종(non-model species)의 분석에 쉽게 적용할 수 있는 우성표지자로서 정확한 이형접합도를 추정하는데 한계가 있고, 순도 높은 template DNA와 염기서열분석기(sequencer)를 사용해야 하는 등 기술 요구도가 비교적 높다(Mba and Tohme, 2005). 그러나 동일한 arbitrary marker인 RAPD나 ISSR에 비하여 재현성이 우

수하고 많은 수의 다형성 표지자를 확보할 수 있어서 집단의 유전분화나 클론 번식체계(clonality) 같은 유전구조의 분석뿐 아니라 종과 품종의 식별, 계통유전학 연구 등에 광범위하게 사용되고 있다(Meudt and Clarke, 2007; Bensch and Akesson, 2005).

본 연구는 AFLP 표지자를 이용하여 북방한계지에 자라는 도청리 호랑가시나무 군락에 대한 유전구조를 구명하고, 이 군락의 호랑가시나무에 대한 유전자원보존 방안을 모색하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 조사지 현황 및 시료 채취

본 연구의 조사지는 전라북도 부안군 변산면 도청리 산 16번지 소재이며(위도 35° 35' 07.6" 및 경도 126° 30' 32.0"), 천연기념물 제122호로 지정된 호랑가시나무 군락(이하 ‘군락’)은 분포면적 480 m²에 성목 744본(근원경 ≥ 2 cm)과 치수 211본이 자라는 것으로 추정되었다(Park et al., 2000). 이 군락에 인접하여 후계목 유도를 위해 1998년 이후 식재된 호랑가시나무 200본중 현재 북서 및 정북방면에 각각 487 m²의 85본(이하 식재림I) 및 36 m²의 27본(이하 식재림II)이 잔존하고 있으며, 군락을 포함하여 전 지역이 보호 목책으로 격리되어 있다. 2012년 3월 임의로 선정된 군락의 성목 30개체와 치수 22개체, 그리고 식재림I 22개체 및 식재림II 11개체에서 엽 시료를 채취하였다. 시료 개체의 평균 수고와 근원경은 각각 군락의 성목 5.0 m, 13.0 cm, 식재림I 2.6 m, 9.5 cm, 식재림II 0.9 m, 4.9 cm였으며, 식재림II에서만 8개체에 종자가 달려있는 것을 확인하였다.

2. AFLP 표지자 분석

호랑가시나무 엽 시료에서 DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Venlo, Netherlands)를 이용하여 total genomic DNA를 추출하였다. AFLP 표지자 분석은 Vos et al. (1995) 방법을 형광 발색시약의 사용을 위해 일부 변형하였다. genomic DNA 0.5 µg에 10 unit의 *EcoRI* 및 *MseI* 제한효소(NEW ENGLAND BioLabs, Ipswich, MA, USA)가 처리된 25 µL 반응액을 37°C에서 2 시간 정치하였다. 5 µL의 반응액을 5 pmole의 *EcoRI* adaptor, 50 pmole의 *MseI* adaptor (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)와 100 units의 T4 DNA ligase (NEW ENGLAND BioLabs, Ipswich, MA, USA)가 포함된 15 µL의 ligation 용액에 넣고, 37°C에서 3 시간 정치한 후에 증류수로 10배 희석하였다. 1차 PCR 증폭(preselective amplification)을 위하여 희석된 3 µL의 ligation 용액과 각 1 pmol의 *MseI*+C 및 *EcoRI*+A preselective primers (Applied Biosystems,

Table 1. Number of AFLP amplicons per primer combination for *Ilex cornuta*.

Primer combination	Number of polymorphic bands	Number of monomorphic bands	Total
E-AAC+M-CTA	19	22	41
E-ACA+M-CTC	9	28	37
E-ACA+M-CTT	18	28	46
E-ACG+M-CTT	6	13	19
Total	52	91	143

Foster, CA, USA), 각각 0.2 mM의 dNTPs, 2 mM MgCl₂ 과 2 unit의 *Taq* DNA polymerase (RBC Bioscience Corp., Chung Ho, Taiwan)을 혼합하여 10 µL의 PCR 반응용액을 조제했다. PCR 실행 조건은 각 증폭단계에서 ramp time을 1초씩 증가시키면서 94°C 15초, 60°C 1분, 72°C 1분간씩 29회를 반복하고, 72°C에서 2분간 최종 증폭시켰다. 1차 증폭용액을 증류수로 10배 희석하여 2차 증폭(selective amplification)에 사용하였다. 3 µL 희석액과 형광 표지된 2.5 pmol의 *Mse*I-primer 및 0.5 pmol의 *Eco*RI-primer (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) 조합, 각각 0.2 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 1 unit의 *Taq* DNA polymerase (RBC Bioscience Corp., Chung Ho, Taiwan)를 혼합하여 11 µL의 2차 PCR 반응용액을 조제했는데, selective-primer 조합은 7개를 사용하였다(Table 1). 2차 PCR 실행은 2가지 증폭조건을 이어서 수행하였다. 우선 각 증폭단계에서 ramp time은 1초씩 증가, extension 온도는 0.7°C 씩 감소시키면서 94°C 10초, 65°C 30초, 72°C 1분간씩 12회를 반복하고, 72°C에서 2분간 최종 증폭시켰다. 다시 ramp time은 1초씩 증가시키면서 94°C 10초, 56°C 30초, 72°C 1분간씩 25회를 반복하고, 72°C에서 2분간 최종 증폭시켰다. 최종 증폭용액 3 µL을 9.7 µL의 deionized formamide, 0.3 µL의 GeneScan 500 ROX dye size standard와 섞어서 95°C에서 5분간 열변성(denaturation) 하고, 얼음에 10분간 정치한 후 4°C에 보관하였다. ABI 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)를 이용하여 전기영동을 수행하고, GeneMapper version 4.0 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) 프로그램에서 증폭산물을 수확하였다.

AFLP 유전자좌 결정은 오류율을 최소화하기 위하여 형광반응도(peak height threshold)를 높게 잡아서(rfu≥100; relative fluorescence unit) 전체 개체들에서 균일한 중복양상을 보이는 증폭산물을 선정하고(Whitlock et al., 2008), 일정한 크기의 증폭산물(100-350 bp)을 수확하여 작은 증폭산물에서 나타나는 임의 변동과 큰 증폭산물에서의 homoplasy 기회를 줄이고자 하였다(Vekemans et al., 2002).

3. 통계분석

유전통계량 추정에는 GeneAIEx 6.41 프로그램(Peakall and Smouse, 2006)을 이용하였다. 클론형성능(clonality) 구명을 위하여 식별가능한 유전자형 비율(proportion of distinguishable genets; PD)은 genet의 수(G)를 관찰시료 수(N)로 나누어 추정하고(Ellstrand and Roose, 1987), 클론의 유전자형 다양도(clonal diversity; D)는 변형된 Simpson의 다양성 지수(Pielou, 1969)를 이용하고, 유전자형 균등도(genotype evenness; E)는 Fager(1972)의 방법을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 군락의 유전구조 및 유전다양성

호랑가시나무 85개체에 대하여 AFLP primer 4조합에서 143개 증폭산물을 수확하였으며, 이중 52개(36%)는 다형성(polymorphic band)을 나타냈다(Table 1). primer 조합당 유전자좌수는 35.8개(SD=11.8)에서 그룹당 20-29개의 증폭산물을 확인하여 Whitlock et al.(2008)가 오류율 감소를 위해 primer 조합당 50-70개 유전자좌(20-30개 다형성)만 유용하게 수확하자는 제안과 크게 차이가 없었다. 한편, *I. argentina* 등 감탕나무속 7수종에 대하여 4개 primer 조합에서 수종별로 평균 126.4개(SD=42.7) 증폭산물이 수확되고, 이중 다형성 증폭산물은 76.1개(SD=27.4)로 60.2%였으며(Gottlieb et al., 2005), *I. glabra* 집단에서 8조합, 229개 증폭산물을 수확했는데 이중 87%가 다형성을 나타냈다(Sun et al., 2010). *I. aquifolium* 집단에서는 3조합, 493개 증폭산물을 수확했으나(Skou et al., 2012) 유전자좌 선정기준이나 다형성 비율은 보고하지 않았다. 이러한 감탕나무속의 사례에 비하여 본 연구의 호랑가시나무 분석결과는 AFLP primer 조합당 증폭산물의 수는 비슷하였으나, 다형성 유전자좌 비율은 낮게 나타났다.

호랑가시나무 85개체는 13개 유전자형으로 나뉘었는데, 군락의 성목과 치수 52개체는 모두 동일한 유전자형을 갖고 있으며, 식재림I과 식재림II는 각각 7개와 5개의 유전자형을 보유했다(Table 2). 군락과 식재림(I과 II)간 또는 두 식재림간 공통된 유전자형은 관찰할 수 없었으며, 군락과 식재림I, 식재림II에서 해당 그룹에서만 고유하게 관찰되는 유전자좌는 각각 2개, 6개, 4개로 나타나서 이들의 유전적 기원에 상당한 차이가 있을 것으로 생각된다(Figure 1). 군락과 식재림I, 식재림II의 유전적 거리(Nei's unbiased genetic distance)는 각각 0.459와 0.691로 식재림(I과 II)간의 0.320보다 컸으며, 군락의 유전자형과 식재림의 12개 유전자형에 대한 유전적 거리 평균은 0.696 (SD=0.144)으로 식재림의 유전자형간 평균 0.621 (SD=0.248)보다 크게 나타났다. 한편 Son et al.(2007)은 도청리 호랑가시나무

Table 2. Number of individuals in the study site, number of sampled trees and clonal diversity index for *Ilex cornuta*.

Group	Community		Plantation I	Plantation II	Total
	Adult	Seedling			
Number of individual trees	744	211	85	27	1067
Number of samples (N)	30	22	22	11	85
Number of genotypes (G)		1	7	5	13
Proportion of distinguishable genets (PD)		0.018	0.318	0.455	0.148
Clonal diversity (D)		0.000	0.792	0.618	0.618
Genotypic evenness (E)		-	0.747	0.000	0.535

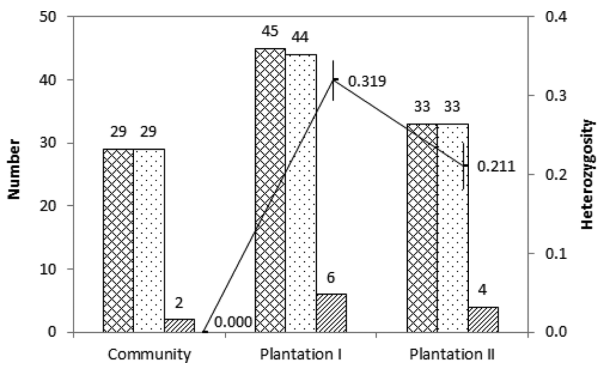


Figure 1. Genetic diversity index of the community combining adults and seedlings (Community), and the planted tree groups (Plantation I and II) for *Ilex cornuta* (▨ number of bands, ▤ number of different bands with a frequency of 5% and over, ▧ number of bands unique to a single group, — average of the expected heterozygosity with a standard error bar).

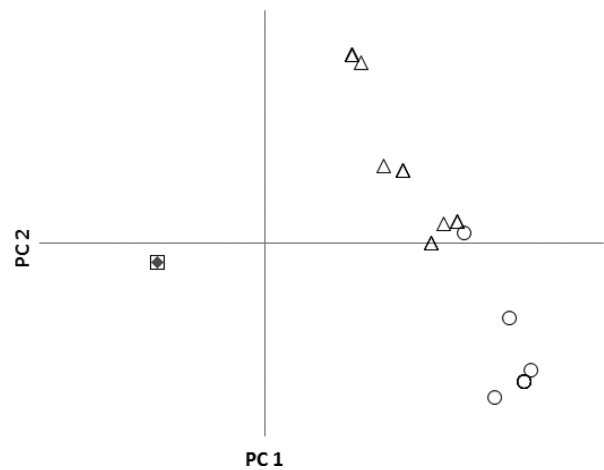


Figure 2. Scatter plot from principal component analysis (PCA) with genetic distance matrix for *Ilex cornuta*. The axes of principal component (PC) 1 and 2 explain the genetic variation of 48.7% and 22.8% respectively. The symbols are the adults (◆) and the seedlings (□) of Community, and the trees of Plantation I (△) and II (○), respectively. Some individuals are duplicated at the same spots.

집단에서 채취한 6개체에서 2가지 유전자형의 internal transcribed spacer(ITS) 영역내 SNP(single nucleotide polymorphism) 변이를 보고했는데, 정확한 시료의 위치정보가 없어서 본 연구의 군락 혹은 식재림(I과 II)에서 얻은 유전정보와 비교할 수는 없었다.

식재림II는 표본에서 구분할 수 있는 genet의 비율 (PD=0.455)이 식재림I(PD=0.318)보다 높았지만, PD는 임분 밀도와 표본추출 간격에 따라 차이가 날 수 있다 (Douhovnikoff and Dodd, 2003). 식재림II(D=0.618)보다는 식재림I에 더 많은 genet이 존재(D=0.792)할 뿐 아니라 각 유전자형마다 비교적 고르게 영양분체(營養分體; ramet)가 분포(E=0.747)하였으며, 식재림II(E=0.000)는 소수의 유전자형에 영양분체가 집중되어 있었다. 식재된 식재림(I과 II)에 존재하는 동일한 유전자형을 지닌 개체들(또는 클론; putative clone)은 호랑가시나무의 보급이 실패로 생산보다는 녹지삽(綠枝插; soft wood cutting)을 통하여 주로 이루어지기 때문에 사료되며(Hong, 2003; Knight et al., 1993), 두 식재림은 수령을 대변하는 근원경(Lee, 1983)의 평균(식재림I=9.5 cm 및 식재림II=4.9 cm)이 다를 뿐 아니라 유전적 구성의 차이(Figure 2)도 뚜렷해서 서로 다른 경로를 거쳐 조성된 것으로 추정된다.

AFLP 표지자 분석에서 도청리 호랑가시나무 군락은 성목 및 치수의 시료 55개체가 동일한 유전자형을 갖는 클론(putative clone)으로 나타났다. 호랑가시나무는 선명한 붉은 색 열매가 결실 3년차까지도 부착되어있기에 암수 식별이 용이하고(Yim, 1979), 호랑가시나무 자연림은 성비가 1:1(Lee, 1983) 혹은 1:2(Yim, 1979)로 암그루가 일정 비율을 차지하며, 자연림에서는 암수 그루가 뒤섞여 존재하는 공간분포 양상을 나타낸다(Cavigelli et al., 1986; Richards, 1988). 그러나 도청리 군락은 744개 성목중 개화가 확인된 534개체(71.8%)가 모두 수그루였으며(Park et al., 2000), 본 연구에서도 열매가 달려있는 개체를 확인할 수 없었다. 따라서 도청리 군락에서 유전적으로 동일한 수그루만 관찰됐다는 사실과 호랑가시나무가 삼목은 물론 취목에 의한 영양번식도 용이한 점(Yim, 1979)을 고려하면, 도청리 군락은 암나무의 선별적 굴취(Park et al., 2000)가 아니라 수나무의 근매가 발생에 의한 클론개체(genet)일 가능성이 크다(e.g. Torimaru et al., 2003). 한편, Koh et al.(2005)은 도청리 군락에서 다양한 엽형 변이가 있다고 했지만, 호랑가시나무는 개체의 성숙에 따라서 엽

형 지수가 변하고(Yim, 1979) 거치는 퇴화하거나(FRI, 1988) 생육상황에 따라 변화되기 때문에(Obeso, 1997) 엽형 변이만으로 유전적으로 다른 개체가 있다고 판단할 수는 없다.

2. 도청리 호랑가시나무의 유전자원 보존

도청리 호랑가시나무 군락은 북방한계지라는 학문적 중요성뿐 아니라 천연기념물이라는 문화적 상징성도 유지시켜야 한다(Na et al., 2010) 즉, 개체 수준의 고유 유전자형을 보존하는 것뿐 아니라 현 위치에 군락을 지속시킬 수 있도록 관리할 필요가 있다. 그러나 현재 도청리 호랑가시나무 군락은 유전적 단형성을 나타내고 있기 때문에 유전다양성을 확보해야 장기적인 안정성을 확보할 수 있다. 유전다양성의 유지는 기후변화 등 미래 환경변화에 종이 적응할 수 있는 기본 조건이며(Bellard et al., 2012), 유전다양성의 손실은 산림의 지속가능성을 심각히 훼손하게 되며 희귀수종의 경우에는 멸종까지 우려되기 때문이다(Geburek and Konrad, 2008).

본 연구에서 도청리 호랑가시나무 군락은 수그루로 이루어진 단일클론으로서 식재림I 및 식재림II의 구성원들은 변산반도 외부에서 유입된 개체로 파악된다. 1945년까지 도청리 호랑가시나무 군락이 울창했다는 보고(Lee, 1983)에 근거하여 암그루의 존재를 가정(Park et al., 2000) 할 수는 있지만, 도청리 군락을 제외하고 변산반도에 현존하는 호랑가시나무는 식재목과 그에 기인한 자식으로 확인되었거나(Oh et al., 2011) 최근 조경용으로 판매·보급된 개체들이므로, 식재림(I과 II)의 모수로 추정할 수 있는 ‘자연집단’은 변산반도에 없는 것으로 판단된다. 따라서 도청리 호랑가시나무 군락의 유전자원보존을 위해서는 현지 군락의 보호뿐 아니라 삼목 증식을 통한 현지의 보존이 필요하며, 무성번식을 통하여 다양한 지역에 분산하여 보존하면 도벌이나 재해에 의한 유전자원의 소실 위험을 줄일 수 있을 것이다. 또한 현재 15~20년생 내외로 추정되는 식재림(I과 II) 개체중 개화시기에 성별이 확인된 암그루만을 잔존시켜서 군락내 호랑가시나무를 화분수로 이용한 종자 생산을 유도하고, 생산된 종자를 이용하여 후계림을 조성한다면 도청리 호랑가시나무가 지닌 적응형질을 유지시킬 뿐 아니라 미래 환경변화에 대응할 수 있는 유전다양성도 확보할 수 있을 것이다.

결 론

호랑가시나무의 북방한계지에 자라는 천연기념물 제122호 전라북도 변산반도의 부안 도청리 호랑가시나무 군락을 이루는 성목 744본과 치수 211본(이하 군락), 후계목 유도를 위해 식재된 85본(이하 ‘식재림I’) 및 27본(이하 식재

림II)중에서 총 85개체의 엽시료를 채취하여 유전변이를 분석하였다. AFLP primer 4조합에서 143개 증폭산물을 수확하였으며, 다형성 유전자좌는 52개(36%)였다.

호랑가시나무 85개체는 13개 유전자형으로 나뉘었는데, 군락의 성목과 치수 52개체는 모두 동일한 유전자형을 갖고 있으며, 식재림I과 식재림II는 각각 7개와 5개의 유전자형을 보유했다. 군락과 식재림(I과 II)간 또는 두 식재림간 공통된 유전자형은 관찰할 수 없었으며, 군락과 식재림I, 식재림II에서 해당 그룹에서만 고유하게 관찰되는 유전자좌는 각각 2개, 6개, 4개로 나타나서 이들의 유전적 기원에 상당한 차이가 있을 것으로 생각된다. 두 식재림은 수령이 다를 뿐 아니라 유전적 구성의 차이도 뚜렷해서 서로 다른 경로를 거쳐 조성된 것으로 추정된다.

도청리 군락에서 유전적으로 동일한 수그루만 관찰됐다는 사실과 호랑가시나무가 삼목은 물론 취목에 의한 영양번식도 용이한 점을 고려하면, 군락은 암나무의 선별적 굴취 결과가 아니라 수나무의 근맹아 발생에 의해 이루어진 클론개체(genet)일 가능성이 크다.

도청리 군락의 유전자원보존을 위해서는 현지 군락의 보호뿐 아니라 삼목 증식을 통한 다수의 무성번식 개체를 다양한 지역에 현지의 보존하여 유전자원 소실 위험을 줄일 수 있도록 한다. 또한 식재림(I과 II) 개체중 암그루만을 잔존시켜서 군락내 호랑가시나무를 화분수로 이용한 종자 생산을 유도하여 후계림을 조성한다면 적응형질의 유지뿐 아니라 유전다양성도 확보할 수 있을 것이다.

References

- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W., and Courchamp, F. 2012. Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters* 15: 365-377.
- Bensch, S. and Akesson, M. 2005. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology* 14: 2829-2914.
- Cavigelli, M., Poulos, M., Lacey, E.P., and Mellon, G. 1986. Sexual dimorphism in temperate dioecious tree, *Ilex montana* (Aquifoliaceae). *The American Midland Naturalist* 115(2): 397-406.
- Douhovnikoff, V. and Dodd, R.S. 2003. Intra-clonal variation and a similarity threshold for identification of clones: application to *Salix exigua* using AFLP molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1307-1315.
- Eckert, C.G., Samis, K.E., and Loughheed, S.C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology* 17: 1170-1188.
- Ellstrand, N.C. and Roose, M.L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* 74(1): 123-131.

- Fager, E.W. 1972. Diversity: a sampling study. *American Journal of Botany* 106(949): 293-310.
- FRI (Forestry Research Institute). 1988. *Illustrated Woody Plants of Korea*. Samjeong Press. Seoul. pp. 496.
- Geburek, T. and Konrad, H. 2008. Why the conservation of forest genetic resources has not worked. *Conservation Biology* 22(2): 267-274.
- Gottlieb, A.M., Giberti, G.C., and Poggio, L. 2005. Molecular analyses of the genus *Ilex* (Aquifoliaceae) in southern South America, evidence from AFLP and ITS sequence data. *American Journal of Botany* 92(2): 352-369.
- Hong, S.C. 2003. *Studies on the System of Tree Cultivation for the Income Improvement in the Short-term Forest Products*. Korean Ministry of Agriculture and Forestry. Seoul. pp. 292 (in Korean).
- Knight, P.R., Eakes, D.J., Gilliam, C.H., and Tilt, K.M. 1993. Propagation container size and duration to transplant on growth of two *Ilex* species. *Journal of Environmental Horticulture* 11(4): 160-162.
- Koh, M.H., Kim, Y.S., and Oh, H.K. 2005. Morphological characteristics of Chinese holly (*Ilex cornuta*) leaves in Korea. *Korean Journal of Environment and Ecology* 19(4): 348-357 (in Korean).
- Kong, W.S., Lee, S.G., Yoon, K.H., and Park, H.N. 2011. Environmental characteristics of wind-whole and phytogeographical values. *Journal of Environmental Impact Assessment* 20(3): 381-395 (in Korean).
- Kwon, H.J., Lee, J.H., Kim, M.Y., Lee, J.H., and Song, H.K. 2011. Vegetation structure and soil properties of *Ilex cornuta* population in Jeju Island. *Korean Journal of Environment and Ecology* 25(1): 10-16 (in Korean).
- Lee, J.S. 1983. Studies on the natural distribution and ecology of *Ilex cornuta* Lindley *et* Pax. in Korea. *Journal of Korean Forest Society* 62: 24-42 (in Korean).
- Leimu, R. and Fischer, M. 2008. A meta-analysis of local adaptation in plants. *PLoS One* 3(12): e4010. doi:10.1371/journal.pone.0004010.
- Lepping, G. and White, J.W. 2006. Conservation of peripheral plant populations in California. *Madrono* 53(3): 264-274.
- Mba, C. and Tohme, J. 2005. Use of AFLP markers in surveys of plant diversity. *Methods in Enzymology* 395: 177-201.
- Meudt, H.M. and Clarke, A.C. 2007. Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science* 12(3): 106-117.
- Na, M.H., Lee, J.H., and Lee, J.K. 2010. A study on the present conditions of conservation and management of the natural monuments of Korea. *Journal of Korean Institute of Traditional Landscape Architecture* 28(2): 127-136 (in Korean).
- Obeso, J.R. 1997. The induction of spinescence in European holly leaves by browsing ungulates. *Plant Ecology* 129: 149-156.
- Oh, H.K., Han, Y.H., Lee, J.H., and Soh, M.S. 2011. A study on vascular plants of sites in the Byeonsanbando National Park. *Journal of National Park Research* 2(1): 6-18 (in Korean).
- Park, C.M., Seo, B.S., Kim, K.H., Park, J.M., and Lim, S.J. 2000. Inhabitation environments and growth conditions of *Ilex cornuta* community in Pyonsanbando. *Journal of Korean Institute of Traditional Landscape Architecture* 18(1): 100-115 (in Korean).
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Note* 6: 288-295.
- Pielou, E.C. 1969. *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience. New York. pp. 286.
- Richards, A.J. 1988. Male predominant sex ratios in Holly (*Ilex aquifolium* L., Aquifoliaceae) and Roseroot (*Rhodiola rosea* L., Crassulaceae). *Watsonia* 17: 53-57.
- Skou, A.T., Toneatto, F., and Kollmann, J. 2012. Are plant populations in expanding ranges made up of escaped cultivars? The case of *Ilex aquifolium* in Denmark. *Plant Ecology* 213: 1131-1144.
- Son, S.W., Kim, J.H., Kim, Y.S., and Park, S.J. 2007. ITS sequence variations in populations *Ilex cornuta* (Aquifoliaceae). *Korean Journal of Plant Taxonomy* 37(2): 131-141 (in Korean).
- Sun, Y., Zhang, D., and Geng, F. 2010. Genetic diversity and taxon delineation of *Ilex glabra* using AFLP markers. *Acta Horticulturae* 859: 261-270.
- Torimaru, T., Tomaru, N., Nishimura, N., and Yamamoto, S. 2003. Clonal diversity and genetic differentiation in *Ilex leucoclada* M. patches in an old-growth beech forest. *Molecular Ecology* 12: 809-818.
- Vekemans, X., Beauwens, T., Lemaire, M., and Roldan-Ruiz, I. 2002. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between the degree of homoplasy and fragment size. *Molecular Ecology* 11: 139-151.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Friters, J. Pot, J. Paleman, M. Kuiper, and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407-4414.
- Whitlock, R., Hipperson, H., Mannarelli, M., Butlin, R.K., and Burke, T. 2008. An objective, rapid and reproducible method for scoring AFLP peak-height data that minimizes genotyping error. *Molecular Ecology Resources* 8: 725-735.
- Wu, T., Li, Y., Tang, Q., and Wang, Z. 2008. Two unusual minor 18,19-*seco*-ursane glycosides from leaves of *Ilex cornuta*. *Food Chemistry* 111: 78-82.
- Yim, K.B. 1979. Variation of Genus *Ilex* in Korea and their ornamental values. *Journal of Korean Forest Society* 42: 1-38 (in Korean).