

AFLP 마커를 이용한 당단풍나무 집단의 유전다양성과 유전구조

안지영 · 홍경낙* · 백승훈 · 이민우 · 임효인 · 이제완

국립산림과학원 산림유전자원과

Genetic Diversity and Genetic Structure of *Acer pseudosieboldianum* Populations in South Korea Based on AFLP Markers

Jiyoung Ahn, Kyung-Nak Hong*, Seung-Hoon Baek, Min-Woo Lee,
Hyo-In Lim and Jei-Wan Lee

Division of Forest Genetic Resources, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

요약: 국내 당단풍나무 집단의 유전다양성, 유전분화 및 유연관계를 알아보기 위해 AFLP 분석을 실시하였다. 14 개 당단풍나무 집단에 대한 7개 AFLP 프라이머 조합을 적용한 결과 유효대립유전자 수(A_e)가 1.4개, 다형적 유전자 좌 비율(%P)이 82.2%, Shannon의 다양성 지수(I)가 0.358, 이형접합도 기대치(H_e)가 0.231이었고, 베이지 방법으로 추론한 이형접합도 기대치(H_j)는 0.253으로 나타났다. 당단풍나무의 유전다양성은 단풍나무속 수종들과 비교했을 때 중간수준이었고, 생활사나 생태적 특성이 유사한 수종들에 비해 낮았다. 베이지 방법으로 추정된 평균 F_{IS} 값은 0.712로 나타나 자기수분이나 근연관계 개체 간 교배에 의한 동형집합체 증가가 유전다양성에 영향을 준 것으로 생각된다. AMOVA로 추정된 당단풍나무의 유전분화율(Φ_{ST})은 0.107이었고, 베이지 방법으로 추정된 유전분화율(θ^J)은 0.110이었다. 당단풍나무는 생활사나 생태적 특성이 유사한 종들에 비해 유전분화가 적게 이루어진 것으로 나타났다. 유연관계 분석에서 울릉도 집단은 내륙의 집단들과 유전적으로 가장 상이한 집단으로 나타났다. 울릉도 집단은 유전다양성이 가장 낮은 집단으로서, 내륙의 집단 일부가 이주하면서 생긴 창시자 효과와 유전적 부동에 의해 유전다양성 감소가 이루어졌고 내륙과의 지리적 격리로 인해 유전자 교류가 감소했기 때문으로 추정된다.

Abstract: Fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea were used to estimate genetic diversity, genetic differentiation and genetic relationships using seven AFLP primer combinations. The average of effective alleles (A_e), the proportion of polymorphic loci (%P) and Shannon's diversity index (I) was 1.4, 82.2% and 0.358, respectively. The expected heterozygosity (H_e) under Hardy-Weinberg equilibrium was 0.231 and the expected heterozygosity (H_j) from Bayesian inference was 0.253. The level of genetic diversity was moderate compared to those of Genus *Acer* and lower than those of other species having similar ecological niche and life history. The inbreeding coefficient within populations (F_{IS}) from Bayesian method was 0.712 and it could be influenced by selfing or biparental inbreeding to induce homozygote excess. The level of genetic differentiation was 0.107 from AMOVA (Φ_{ST}) and 0.110 from Bayesian method (θ^J). The genetic differentiation was lower than those of other species having similar ecological niche and life history. Ulleungdo population had the lowest level of genetic diversity and was genetically the most distinct population from others in the study. We consider that founder effect and genetic drift might be occurred to reduce genetic diversity and then the geographical isolation might interrupt gene flow to aggravate it.

Key words: genetic diversity, genetic differentiation, genetic relationships, AFLP, AMOVA

서론

기후변화에 따른 기온상승은 식물의 개엽, 개화, 단풍시기의 변화를 야기하고 이로 인해 성장과 발달에 영향을 준다(Kim et al., 2011). 산림식물에 대한 집단유전학 연구는 유전변이 정보를 통해 기후변화에 따른 종의 적응력

구명과 보존, 복원 및 관리 전략 수립을 위해 유용하게 사용된다(Porth and El-Kassaby, 2014).

당단풍나무(*Acer pseudosieboldianum* Kom.)는 분류학적으로 단풍나무과(Aceraceae) 단풍나무속에 속하는 종으로 우리나라, 중국, 러시아 동부지역에 분포하는 북방계 온·한대 수종이다(Chang, 1991). 2n=26의 핵형을 가지며 자연림에서는 최대 8 m까지 자라는 아교목이나 관목형태로 자란다. 잎은 9개 또는 11개로 갈라진 형태이고 자웅동주

*Corresponding author
E-mail: honeutal@korea.kr

로 꽃은 곤충에 의해 수분이 이루어지는 충매화이며 종자는 날개를 가지고 있다. 당단풍나무를 포함한 단풍나무속 수종들에 대한 국내 연구는 형태분류(Park, 1984; Kim and Park, 1996), 분자계통분류(Cho et al., 1996; Hwang et al., 1996), 종자 활력 검정(Kim and Kim, 2011), 수액 성분 분석(Chung et al., 1995) 등이 수행되었다.

울릉도에 자생하는 섬단풍나무(*Acer takesimensense* Nakai)는 당단풍나무와 매우 유사한데 잎의 열편 차이로 신종으로 보고되었으나(Park et al., 1993), 종 식별 형질에 대한 해석에 따라 당단풍나무의 동종 이명으로 처리하기도 한다(Chang, 1991). 별개의 종으로 보는 학자들은 당단풍나무와 섬단풍나무를 가지고 cpDNA와 AFLP 마커를 이용한 계통분류학 연구(Pfosser et al., 2002)와 microsatellite 마커를 이용한 집단유전학 연구(Takayama et al., 2013)를 수행하고, 울릉도의 섬단풍나무가 내륙의 당단풍나무의 종분화 산물이라고 주장하였다. 이러한 항상진화(anagenesis)는 섬이나 군도에서 주로 나타나는 종분화인데, 내륙에서 이주한 집단들이 세대를 거듭하면서 돌연변이와 재조합에 의해 독특한 유전변이가 형성되다가 형태적 변이가 발생하는 현상이다(Stuessy et al., 2006).

Amplified fragment length polymorphism(AFLP)는 RFLP와 PCR 기술이 결합된 분석법이다(Vos et al., 1995). 우성 마커로 관찰된 증폭산물(amplicon)의 유·무로 대립유전자 빈도를 간접 추정하기 때문에 유전모수 추정 시 통계적 편의가 발생하는 단점이 있으나(Lynch and Milligan, 1994), 유전체 정보 없이 다양한 생물종에 적용이 가능하고, 많은 유전자좌의 정보를 확인할 수 있으며, RAPD보다 실험 재현성이 뛰어나서(Jones et al., 1997) 집단유전학, 계통분류학, 유전자지도 작성 연구에 이용되어 왔다(Mueller and Wolfenbarger, 1999; Bensch and Åkesson, 2005).

본 연구는 AFLP 마커를 이용하여 국내 당단풍나무 집단의 유전다양성, 유전분화 및 유연관계를 알아보기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시 재료

본 연구에서는 Chang(1991)의 견해에 따라서 울릉도 집단을 포함한 14개 집단을 당단풍나무로 식별하고 유전분석 대상으로 선정하였다(Figure 1). 집단내 개체목 간 50 m 이상 채취 간격을 두어 유전적으로 가까운 개체가 포함되는 것을 최소화하였으며, 개체목의 위치는 GPS를 이용하여 측정하였다. 집단당 평균 30개 개체목에서 엽시료를 채취하였다. GeneAll Plant SV Mini Kit(GeneAll, Seoul, South Korea)를 사용하여 제조사가 제공하는 매뉴얼에 따라 genomic DNA를 추출하였다.

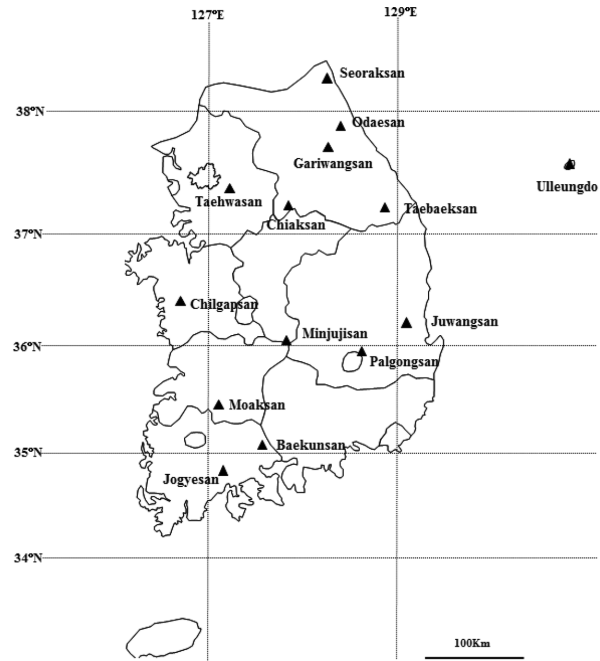


Figure 1. Distribution of fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea for the population genetic study.

2. AFLP 분석

AFLP분석은 Vos et al.(1995)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 25 μ L 반응용액에 0.5 μ g genomic DNA, 10 unit *EcoRI*(New England Biolabs, Ipswich, USA), 10 unit *MseI*(New England Biolabs, Ipswich, USA)이 포함되도록 해서 제한효소 처리를 수행하였다(Table 1). 제한효소 처리된 5 μ L의 반응액과 5 pmol *EcoRI* adaptor(Applied Biosystems, Foster City, USA), 50 pmol *MseI* adaptor(Applied Biosystems, Foster City, USA), 100 unit T_4 DNA ligase(New England Biolabs, Ipswich, USA)가 포함된 15 μ L의 반응용액을 섞어주어 ligation을 수행하였다.

Preselective PCR을 위해 1/10로 희석한 ligation 반응용액 15 μ L에 reaction buffer(2mM $MgCl_2$ 포함), 0.2 mM dNTP, *EcoRI*+A와 *MseI*+C로 구성된 10 pmol AFLP® preselective primer mix(Applied Biosystems, Foster City, USA), 2 unit *Taq* DNA polymerase(RBC Bioscience, New Taipei, Taiwan)가 포함된 35 μ L의 반응용액을 넣어 수행하였다.

Selective PCR을 위해 1/10로 희석한 preselective PCR 반응용액 3 μ L에 reaction buffer(2 mM $MgCl_2$), 0.2 mM dNTP, 2.5 pmol *MseI*+ 3 nucleotide selective amplification primer, 형광표지된 0.5 pmol *EcoRI*+ 3 nucleotide selective amplification primer(Applied Biosystems, Foster City, USA), 1 unit *Taq* DNA polymerase(RBC Bioscience, New Taipei, Taiwan)가 포함된 9 μ L의 반응용액을 섞어 수행하였다.

PCR 증폭산물 분획은 ABI Prism 3730xl Genetic Analyzer(Applied Biosystems, Foster City, USA)를 이용

Table 1. Number of amplicons per AFLP primer combination for *Acer pseudosieboldianum*

Primer combination	Total number of amplified bands	Number of polymorphic bands	Polymorphic rate (%)
E-ACA+M-CAC ^z	45	39	86.7
E-ACC+M-CAC	38	31	81.6
E-AAC+M-CTT	35	16	45.7
E-AAC+M-CTC	34	27	79.4
E-AGG+M-CAG	27	22	81.5
E-AGG+M-CAT	27	15	55.6
E-AAC+M-CTG	34	19	55.9
Total	240	169	70.4

^zRestriction enzyme E- and M- are *EcoRI* and *MseI*, respectively.

하여 전기영동하였다. PCR 증폭산물의 크기를 확인하기 위해 GeneScan™-500 ROX size standard(Applied Biosystems, Foster City, USA)를 섞어 동시에 분획하였다. GeneMapper v5.0(Applied Biosystems, Foster City, USA)을 이용하여 크기 100bp 이상 450bp 이하로 나타난 증폭산물(peak)만 수확하고, 증폭산물과 noise peak을 구분하기 위한 peak의 높이는 형광값(rfu) 100 이상으로 설정하였다. 그리고 증폭산물의 유·무에 따라 ‘1’과 ‘0’으로 명명하였다.

3. 통계분석

집단별 평균 유효대립유전자 수(A_e), 다형적 유전자좌 비율(%P), Shannon의 다양성지수(I), 이형접합도 기대치(H_j)를 구하였다. 그리고 집단 간 Nei의 유전적 거리값을 구하였고 PCA(Principal coordinates analysis) 분석을 수행하였다. 집단간 유전변이량의 차이를 알아보기 위해

AMOVA(Analysis of molecular variance)를 수행하였고, 집단간 유전분화가 Isolation-by-distance에 부합하는지 검증하기 위해 지리적 거리 값과 유전적 거리 값을 가지고 Mantel 분석을 GeneAEx 6.41 프로그램(Peakall and Smouse, 2006)으로 수행하였다.

AFLPsurv v1.0 프로그램(Vekemans, 2002)을 이용하여 베이스 방법으로 대립유전자 빈도를 추정하고 이형접합도 기대치(H_j)를 추정하였다. 베이스 방법에 의한 근친교배율(f)과 집단간 유전분화율(θ^1) 추정은 HICKORY v1.1 프로그램(Holsinger et al., 2002)으로 수행하였다. ABC4F 프로그램(Foll et al., 2008)을 이용하여 집단특이적 F_{IS} 및 F_{ST} 값을 베이스 방법으로 추정하였다. 집단 간 Nei의 유전적 거리값들을 가지고 Phylip v3.695 프로그램(Felsenstein, 2013)을 이용하여 UPGMA 분석을 수행하였다. 베이스 군집분석은 STRUCTURE v2.3 프로그램(Pritchard et al., 2000)으로 수행하였다. 군집 수 K(K=1-15)값에 대한 확률값 $Pr(X|K)$ 을 구하되 20회 반복을 실시하고 STRUCTURE HARVESTER 프로그램(Earl and von Holdt, 2012)을 이용하여 최적군집수를 구하였다. CLUMPPv1.1.2 프로그램(Jakobsson and Rosenberg, 2007)으로 permutation하여 재배열하고 DISTRUCT v1.1 프로그램(Rosenberg, 2004)을 이용하여 도식화하였다.

결과 및 고찰

1. 유전다양성

당단풍나무의 평균 유효 대립유전자 수(A_e)가 1.4개, Shannon의 다양성 지수(I)가 0.355, 이형접합도 기대치(H_e)

Table 2. Genetic diversity indices from fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea using AFLP markers.

Population	N ^z	A_e	%P	I	H_e	H_j
Baekunsan	30	1.351±0.028	71.6	0.322±0.021	0.211±0.015	0.233±0.014
Chiaksan	30	1.412±0.028	81.1	0.371±0.020	0.244±0.015	0.269±0.014
Chilgapsan	30	1.381±0.027	79.3	0.352±0.020	0.229±0.014	0.256±0.014
Gariwangsan	30	1.402±0.027	80.5	0.370±0.019	0.242±0.014	0.266±0.013
Jogyesan	30	1.374±0.028	78.1	0.341±0.020	0.223±0.015	0.239±0.015
Juwangsan	30	1.398±0.027	82.8	0.371±0.019	0.241±0.014	0.266±0.013
Moaksan	30	1.360±0.027	74.6	0.338±0.020	0.219±0.014	0.241±0.014
Minjujisan	30	1.399±0.029	79.9	0.358±0.020	0.235±0.015	0.253±0.015
Odaesan	30	1.366±0.026	79.9	0.345±0.020	0.223±0.014	0.244±0.014
Palgongsan	30	1.394±0.026	82.3	0.369±0.019	0.240±0.014	0.266±0.013
Seoraksan	37	1.396±0.027	89.4	0.371±0.019	0.240±0.014	0.257±0.014
Taehwasan	30	1.395±0.028	79.3	0.361±0.020	0.235±0.014	0.253±0.014
Taebaeksan	30	1.411±0.027	85.2	0.381±0.019	0.248±0.014	0.275±0.013
Ulleungdo	28	1.347±0.028	74.6	0.321±0.020	0.208±0.015	0.230±0.014
Mean		1.385±0.007	82.2	0.355±0.005	0.231±0.004	0.253±0.004

^zN = sample size, A_e = number of effective alleles, %P = percentage of polymorphic loci, I = Shannon's diversity index, H_e = expected heterozygosity, H_j = expected heterozygosity by Bayesian method with non-uniform prior distribution of allele frequency (Zhitovtovsky, 1999).

가 0.231이었다(Table 2). 베이지 방법으로 추정된 이형접합도 기대치(H_j) 평균값은 0.253으로 나타났다. 전체 다형적 증폭산물의 수는 169개였고, 평균 다형적 유전자좌 비율(% P)은 82.2%로 나타났다. 유전다양성이 가장 높은 집단은 태백산($A_e=1.411$, $I=0.381$, $H_e=0.248$, $H_j=0.275$)이고 가장 낮은 집단은 울릉도($A_e=1.347$, $I=0.321$, $H_e=0.208$, $H_j=0.230$)였다.

당단풍나무의 유전다양성($H_e=0.231$, $H_j=0.253$)은 AFLP 마커 분석이 이루어진 *Acer rubrum*($H_e=0.311$; Kovach et al., 2009)보다 낮고 *Acer skutchii*($H_j=0.174$; Lara-Gomez et al., 2005)보다 높았다. Microsatellite 마커에 의해 추정된 국내 당단풍나무 유전다양성($H_e=0.610$; Takayama et al., 2013)은 microsatellite 마커 분석이 이루어진 일본과 우리나라의 고로쇠나무(*Acer mono*, $H_e=0.800$; Takayama et al., 2012), *Acer mono* var. *mono*($H_e=0.737$; Liu et al., 2014), *Acer saccharum*($H_e=0.687$; Graignic et al., 2016)보다 낮고 *Acer campestre*($H_e=0.602$; Chybicki et al., 2014), *Acer yangbiense*($H_e=0.387$; Yang et al., 2015), *Acer skutchii*($H_e=0.129$; Lara-Gomez et al., 2005)보다 높았다.

당단풍나무는 북향의 산록이나 계곡에서 주로 자생하고 내음성과 내한성이 강해 아교목으로 숲의 중간층을 이루는 천이후기 식물이다(Kim and Kim, 2016). 그리고 당단풍나무를 비롯한 단풍나무류는 이형자용이숙(heterodichogamy)을 하기 때문에 주로 타가교배를 하는 것으로 알려져있다(Kikuchi et al., 2009). Nybom(2004)의 메타분석에서 AFLP를 포함한 우성마커인 RAPD, ISSR에 의해 추정된 유전다양성(H_e)은 마커 간 차이가 없으며, 메타분석에서 나타난 다년생($H_e=0.250$), 타가교배($H_e=0.270$), 천이후기 출현종($H_e=0.300$)의 평균 유전다양성과 비교했을 때 국내 당단풍나무의 유전다양성($H_e=0.231$)은 비교적 낮은 것으로 나타났다. Microsatellite 마커 분석에서 나타난 국내 당단풍나무의 유전다양성($H_e=0.610$; Takayama et al., 2013)도 메타분석에서 나타난 다년생($H_e=0.680$), 타가교배($H_e=0.650$), 천이후기 출현종($H_e=0.700$)의 평균 유전다양성보다 낮은 것으로 나타났다. 국내 당단풍나무의 유전다양성은 단풍나무속 수종들 중 중간수준이며 생활사나 생태적 특성이 유사한 다년생의 타가교배하는 천이후기 출현종들 중에서는 비교적 낮은 유전다양성을 나타냈다.

베이지 방법에 의해 AFLP 마커로 추정된 집단특이적 F_{IS} 값은 0.599부터 0.895로, 평균 0.712이었다(Table 3). Microsatellite 마커를 이용하여 추정된 국내 당단풍나무의 평균 F_{IS} 값 0.330(Takayama et al., 2013)과 비교하면 본 연구에서 추정된 값이 매우 큰 것으로 나타났다. 이러한 차이는 공우성 마커인 microsatellite와 달리 우성 마커인 AFLP 데이터의 간접추정에 의한 통계적 편의도 있겠지만(Foll et al., 2008), 동일한 베이지 방법으로 추정된 우리나라

Table 3. Population-specific FIS and FST of fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea by Approximate Bayesian method (Foll et al., 2008).

Population	Population-specific F_{IS}		Population-specific F_{ST}	
	Mean	95%CI ^a	Mean	95%CI
Baekunsan	0.672	0.298, 1.000	0.306	0.179, 0.432
Chiaksan	0.729	0.250, 1.000	0.081	0.023, 0.144
Chilgapsan	0.698	0.180, 0.999	0.131	0.056, 0.211
Gariwangsan	0.696	0.193, 1.000	0.095	0.028, 0.167
Jogyesan	0.739	0.338, 1.000	0.196	0.105, 0.293
Juwangsansan	0.682	0.146, 1.000	0.108	0.043, 0.177
Moaksan	0.767	0.340, 1.000	0.147	0.058, 0.240
Minjujisan	0.767	0.328, 1.000	0.204	0.094, 0.320
Odaesan	0.821	0.472, 1.000	0.097	0.031, 0.163
Palgongsan	0.599	0.107, 1.000	0.071	0.022, 0.125
Seoraksan	0.895	0.637, 1.000	0.065	0.031, 0.105
Taehwasan	0.662	0.226, 1.000	0.174	0.075, 0.275
Taebaeksan	0.620	0.103, 1.000	0.022	0.001, 0.042
Ulleungdo	0.618	0.148, 1.000	0.320	0.207, 0.431
Mean	0.712		0.144	

^a95% credible intervals in parenthesis

라 느릅나무($F_{IS}=0.822$; Ahn et al., 2013)보다 적고 황벽나무($F_{IS}=0.628$; Lee et al., 2014)보다는 큰 것으로 나타났다.

느릅나무는 자용동주이고 유-무성 번식을 겸하기 때문에 높은 근친교배율이 나타나는 것으로 보고되었는데, 당단풍나무의 경우 자용동주이나 종자로만 번식하기 때문에 느릅나무에 비해 낮은 값이 나타난 것으로 생각된다. 반면에 황벽나무는 종자 번식을 하지만 자용이주식물이기 때문에 자용동주인 당단풍나무보다 더 낮은 근친교배율을 나타낸 것으로 추정된다. 일본의 고로쇠나무(*Acer mono*)의 교배양식 연구에서 자용동주인 단풍나무속 수종들이 자가수분을 최소화하기 위한 이형자용이숙 현상은 실제적으로 타가교배율을 높이지만 자가수분이 완전히 배제되지는 않는 것으로 나타났다(Kikuchi et al., 2009). 그 외에도 암꽃과 수꽃의 개화시기, 개화량(화분량), 교배가 이루어지는 개체 간 거리가 타가교배율에 영향을 주는 것으로 보고되었다.

*Acer yangbiense*의 경우 암꽃과 수꽃의 개화시기가 맞지 않거나 개체 간 개화량의 차이가 크면 대부분의 후계목들은 동일 모수로부터 발생하는 것으로 보고되었다(Yang et al., 2015). 당단풍나무 역시 이형자용이숙 기작을 하더라도 자가수분에 의한 동형접합체 증가 가능성이 나타날 수 있는 것으로 생각된다. 그리고 당단풍나무는 종자생산량의 연간변이가 심해 천연갱신은 종자 풍년 이듬해 생성된 개체들에 의해 주로 이루어지는 것으로 보고된 바 있는데(Kim and Kim, 2016), 임분 내 군생하고 있는 개체들은 대부분 종자 풍년기에 동일 모수에서 생성된 근연관계에 있을 가능성이 높을 것으로 생각된다. 또한 당단풍나

무는 총매수중으로 매개충 이동범위에 따른 제한적 화분 공급이 이루어질 것으로 생각되며 따라서 임분 내 발생하는 교배는 주로 가까운 거리에 있는 근연관계 개체들 간에 이루어질 것으로 사료된다.

2. 유전분화

AMOVA 분석에서 전체 유전변이의 10.7%($\Phi_{ST}=0.107$, $P<0.001$)는 집단 간 차이로 나타났으며 나머지 89.3%의 유전변이는 집단 내 개체 간 차이에 의한 것으로 나타났다(Table 4). 베이지 방법에 의한 유전분화모수 θ^I 는 0.110으로, 베이지 방법에서 제시한 4개의 모델 중 편차정보기준이 최소(DIC=9897.89)로 나타난 집단 내 근친교배와 유전분화 발생을 가정 한 Full 모델 가정에 의해 추정 한 유전분화율(θ^I)값을 선택하였다(Table 5). 베이지 방법으로 집단 특이적 분화값(Population specific- F_{ST})을 추정 한 결과 최소 0.022(태백산)에서 최대 0.320(울릉도)으로, 평균 0.144로 나타났다(Table 3). 울릉도 집단을 제외하면 우리나라의 동쪽(강원도·경상도) 집단들이 서쪽(경기도·충청도·전라도) 집단들보다 유전분화도가 낮고 유전다양성이 큰 것으로 파악되었다. 섬단풍나무로도 분류되는 울릉도 집단은 높은 유전분화도를 보이고 있어서 오랜 격리 또는 적응을 통해 내륙 집단들과 구분되는 독특한 유전구조를 형성하는 것으로 추정된다.

당단풍나무의 유전분화율($\Phi_{ST}=0.107$)은 AFLP 분석이 이루어진 *Acer pentaphyllum*($\Phi_{ST}=0.240$; Roh et al., 2008)보다 적었다. Microsatellite 마커 분석에서 당단풍나무의 유전분화율(Φ_{ST})은 0.098로 나타났으며(Takayama et al., 2013), 우리나라 및 일본의 고로쇠나무(*Acer mono*, $\Phi_{ST}=0.078$; Takayama et al., 2012)보다 크고 *Acer campestre*

($\Phi_{ST}=0.150$; Chybicki et al., 2014)보다 적은 것으로 나타났다. 유전다양성과 마찬가지로 유전분화는 당단풍나무($\Phi_{ST}=0.107$)와 같은 다년생($\Phi_{ST}=0.250$), 타가교배($\Phi_{ST}=0.270$), 천이후기 출현종($\Phi_{ST}=0.230$)이 가장 적은 것으로 나타났다. 그리고 당단풍나무의 종자는 날개를 가지고 있어 바람에 의해 산포되는데, 유전분화가 가장 적은 바람에 의해 종자가 산포되는 종($\Phi_{ST}=0.250$)보다 더 적은 유전분화를 나타냈다.

3. 유연관계

UPGMA 분석에서 울릉도 집단이 유전적으로 가장 먼 것으로 나타났으며, 내륙의 집단들은 두 개의 그룹으로 나뉘었는데 모악산-백운산-조계산-민주지산-오대산-태화산 집단들이 하나의 그룹을 이루었고, 설악산-칠갑산-태백산-치악산-가리왕산-주왕산-팔공산 집단들이 다른 하나의 그룹을 이루었다(Figure 2). 집단들 간 지리적 거리와 유전적 거리에 약한 상관이 있는 것으로 나타났는데(Mantel 검증: $r=0.634$, $P=0.001$), 울릉도 집단이 섬이라는 특수한 환경과 지리적으로 가장 먼 집단으로 영향을 크게 미치기 때문으로 판단된다. 울릉도를 제외하고 내륙의 집단들만 대상으로 분석을 수행한 결과에서는 지리적 거리와 유전적 거리는 상관이 없는 것으로 나타났다(Mantel 검증: $r=0.486$, $P=0.016$).

PCA 분석도 UPGMA와 마찬가지로 모악산-백운산-조계산-민주지산-오대산-태화산이 그룹을 이루었고, 설악산-칠갑산-태백산-치악산-가리왕산-주왕산-팔공산이 그룹을 이루었다(Figure 3; PC 1=56.59%, PC 2=43.41%). 울릉도 집단은 두 개의 그룹으로부터 유전적으로 가장 상이한 집단으로 나타났다.

Table 4. Distribution of genetic variations in fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea from Analysis of Molecular Variance (AMOVA).

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variance	Φ_{ST}
Among populations	13	1460.8	2.903	10.7%	0.107*
Within populations	411	9974.4	24.269	89.3%	
Total	424	11435.2	27.172	100.0%	

* $P<0.001$

Table 5. Inbreeding coefficient (f) and the level of population differentiation (θ^I) of *Acer pseudosieboldianum* in South Korea by Bayesian method (Holsinger et al., 2002).

Model	f			θ^I			DIC ^x
	Mean	SD ^z	95% CI ^y	Mean	SD	95% CI	
Full	0.972	0.027	0.900,0.999	0.110	0.004	0.102,0.118	9897.9
$f=0$	-	-	-	0.073	0.003	0.067,0.079	9928.4
$\theta=0$	0.979	0.021	0.923,0.999	-	-	-	14993.4
f -free	0.506	0.288	0.027,0.975	0.121	0.015	0.097,0.155	10744.1

^{z,y}SD, CI, and DIC : mean standard deviation, credible intervals, and deviance information criterion, respectively.

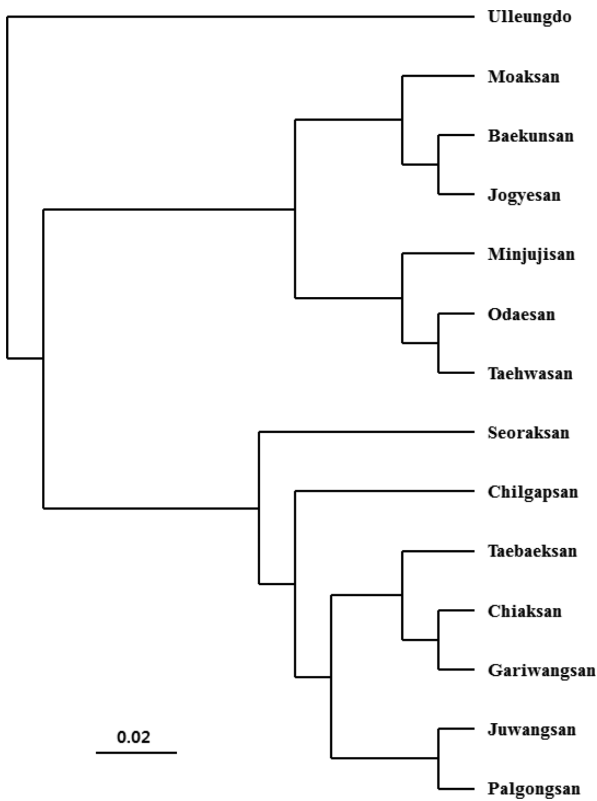


Figure 2. Dendrogram based on Nei's genetic distance by UPGMA method of fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea.

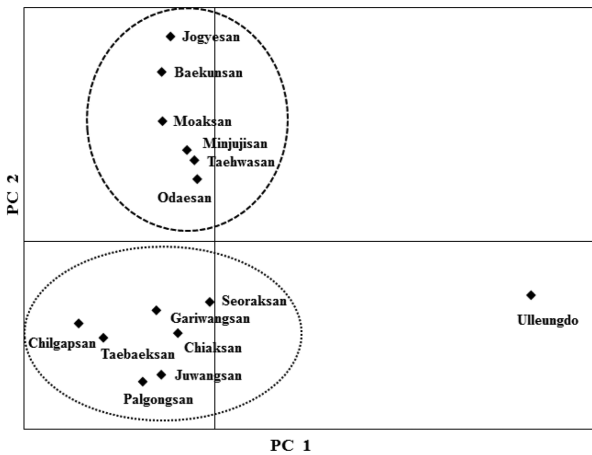


Figure 3. Principal components analysis for fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea. The PC1 on the x-axis and the PC2 on the y-axis explained 56.59% and 43.41% of genetic variation, respectively.

베이지 군집분석의 최적군집수를 Pritchard et al.(2002)의 방법과 Evanno et al.(2005)의 방법에 따라 추정하였다. Pritchard et al.(2002)의 방법에서는 최적군집수를 확인할 수 없었으며, Evanno et al.(2005)의 방법에서는 K=2가 최적군집수로 나타났다(Data not shown). 14개 집단을 2개의 군집으로 구분했을 때, 백운산-조계산-모악산-민주지산-오대산-태화산 집단이 동일 군집에 속하는 것으로 나타

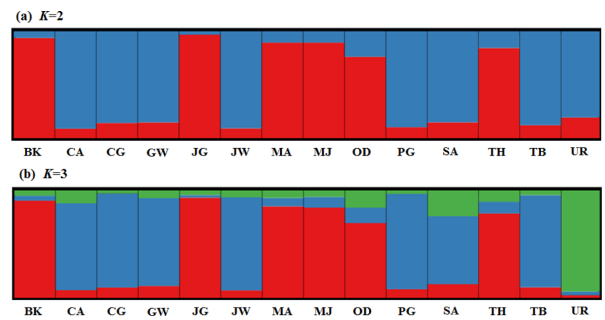


Figure 4. Bayesian clustering analysis of fourteen *Acer pseudosieboldianum* populations in South Korea. The number of cluster was given as (a) K=2 and (b) K=3. (BK: Baekunsan, CA: Chiaksan, CG: Chilgapsan, GW: Gariwangsan, JG: Jogyesan, MA: Moaksan, MJ: Minjujisan, OD: Odaesan, PG: Palgongsan, SA: Seoraksan, TH: Taehwasan, TB: Taebaeksan, UR: Ulleungdo).

났고 치악산-칠갑산-가리왕산-주왕산-팔공산-설악산-태백산-울릉도집단이 동일군집에 속하는 것으로 나타났다(Figure 4a).

UPGMA와 PCA분석결과를 근거로 3개의 군집으로 다시 구분한 결과, 백운산-조계산-모악산-민주지산-오대산-태화산 집단이 동일한 군집에 속하는 것으로 나타났고 치악산-칠갑산-가리왕산-주왕산-팔공산-설악산-태백산 집단이 다른 군집에 속하는 것으로 나타났으며 울릉도는 독립된 군집으로 나타났다(Figure 4b). 베이지 군집 결과는 UPGMA나 PCA에서 보여준 그룹 구분과 동일한 것으로 나타났다.

본 연구에서 울릉도 집단은 내륙의 집단들과 비교했을 때 유전다양성이 가장 낮고, 유전분화가 크며, 유전적으로 가장 상이한 것으로 나타났다. 화산섬인 울릉도는 약 200만년의 역사를 가지고 있으며 울릉도에 현존하는 식물들 대부분은 우리나라나 일본에서 이주한 종들로 내륙과 다른 기후환경에 적응한 결과 독특한 식식형이 나타나는 것으로 보고되었다(Lee et al., 2006). 섬에 자생하는 집단들은 이주에 의한 병목현상(bottleneck effect), 내륙에 비해 작은 집단 크기, 섬의 침강이나 침식현상에 의한 집단 소멸과 유전자 소실 그리고 높은 근친교배에 의해 유전다양성이 낮아질 수 있다(Stuessy et al., 2006).

일부 학자들은 울릉도에 자생하는 종은 섬단풍나무이며(Park et al., 1993), 향상진화(anagenesis)에 의한 종분화산물로 우리나라 당단풍나무가 기원종인 것으로 보고있다(Takayama et al., 2013). Pfosser et al.(2002)은 AFLP 마커 분석에서 울릉도 집단(섬단풍나무)이 내륙의 집단(당단풍나무)보다 고유 대립유전자 수와 관찰빈도가 낮은 희귀 대립유전자 수가 1/2수준이었고, 유전다양성이 낮은 것으로 보고하였다. Microsatellite 마커 분석에서도 내륙의 당단풍나무 보다 울릉도의 섬단풍나무에서 더 적은 수의 고유 대립유전자와 희귀 대립유전자가 관찰되었으며, 일

부 집단에서 대립유전자의 빈도가 증가하고 있는 결과를 통해 창시자 효과(founder effect)와 작은 집단 크기에 의한 유전적 부동의 결과로 유전다양성이 낮아졌다고 주장하였다(Takayama et al., 2013). 본 연구에서 확인된 울릉도의 근친교배율($F_{is}=0.618$)은 내륙의 집단들보다 적은 것으로 나타나서 높은 근친교배에 의한 유전다양성 감소의 영향보다는 울릉도 집단이 섬이라는 지리적 적응 특성과 더불어 이주에 따른 창시자 효과 및 유전적 부동에 의해 독특한 유전변이가 형성되었을 것으로 생각된다.

결 론

AFLP마커를 이용하여 국내 당단풍나무 집단들의 유전 다양성과 유전분화 및 유연관계를 알아보았다. 당단풍나무의 유전다양성은 단풍나무속 수종들 중 중간수준이었고 생활사나 생태적 특성이 유사한 수종들에 비해 유전다양성이 낮은 것으로 나타났다. 당단풍나무는 자가수분과 근연관계에 있는 개체 간 교배에 의한 동형접합체 증가와 개화시기 및 개화량의 차이가 유전다양성에 영향을 주었을 것으로 사료된다. 집단 간 유전분화도 단풍나무속 수종들의 중간수준이었으나, 다년생의 타가교배하며 바람에 의한 종자비산 특성을 지닌 천이 후기 출현종 보다는 유전분화가 적게 이루어진 것으로 나타났다. 당단풍나무는 우리나라에서 집단이 넓게 분포하고 바람에 의한 종자가 비산하는 특성에 의해 집단간 유전분화가 적은 것으로 생각된다. 울릉도 집단은 유전다양성이 가장 낮고, 유연관계를 분석한 결과 내륙의 집단들과 유전적으로 매우 상이했는데, 이러한 유전구조의 독특성은 섬이라는 지리적 적응 특성과 더불어 이주에 따른 창시자 효과 및 유전적 부동에 의해 독특한 유전변이가 형성되고 향상진화로 이어진 것이라고 생각된다.

References

- Ahn, J.Y., Hong, K.N., Lee, J.W., and Yang, B.H. 2013. Population genetic variation of *Ulmus davidiana* var. *japonica* in South Korea based on ISSR markers. *Journal of Korea Forest Society* 102(4): 560-565. (in Korean with English abstract)
- Bensch, S. and Åkesson, M. 2005. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology* 14: 2899-2914.
- Chang, C.S. 1991. A morphometric analyses of genus *Acer* L. section *Palmata* Pax, series *Palmata*. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 21: 165-186. (in Korean with English abstract)
- Cho, H.J., Kim, S.T., Suh, Y.B., and Park, C.W. 1996. ITS sequences of some *Acer* species and phylogenetic implication. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 26(4): 271-291. (in Korean with English abstract)
- Choi, K.R., Kim, K.H., Kim, J.W., Kim, J.C., Lee, G.K., Yang, D.Y., and Nahm, W.H. 2005. Vegetation history since the mid-late glacial from Yeongsan River Basin, Southwestern Korea. *Journal of Ecology and Environment* 28(1): 37-43. (in Korean with English abstract)
- Chung, M.J., Kim, Y.S., Lee, I.S., Jo, J.S., and Sung, N.J. 1995. The components of the sap from Gorosoe (*Acer momo* Maxim.) and sugar maple (*A. pseudosieboldianum* Kom.). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 24(6): 911-916. (in Korean with English abstract)
- Chybicki, I.J., Waldon-Rudzionek, B., and Meyza, K. 2014. Population at the edge: increased divergence but not inbreeding towards northern range limit in *Acer campestre*. *Tree Genetics & Genomes* 10: 1739-1753.
- Earl, D.A. and vonHoldt, B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resources* 4: 359-361.
- Evanno, G., Reanaut, 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. 2013. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) v3.695. Department of Genome Sciences and Department of Biology University of Washington. Seattle, WA, USA.
- 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.
- Graignic, N., Tremblay, F., and Bergeron, Y. 2016. Genetic consequences of selection cutting on sugar maple (*Acer saccharum* Marshall). *Evolutionary Applications* DOI: 10.1111/eva.12384.
- 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.
- Hwang, J.W., Noh, E.W., Lee, J.S. and Park, S.K. 1996. Genetic relationship among *Acer* species revealed by RAPD and PCR-RFLP. *Korean Journal of Breeding* 28(4): 359-365.
- Jakobsson, M. and Rosenberg, N.A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23(14): 1801-1806.
- Jones, C.J. and 21 people. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding* 3: 381-390.
- Kikuchi, S., Shibata, M., Tanaka, H., Yoshimaru, H., and Niyaama, K. 2009. Analysis of the disassortative mating pattern in a heterodichogamous plant, *Acer mono* Maxim. using microsatellite markers. *Plant Ecology* 204: 43-54.
- Kim, G.T. and Kim, H.J. 2011. Studies of the seed character-

- istics and viabilities of six *Acer* species in relation to natural regeneration in Korea. Korean Journal of Environmental Ecology 25(3): 358-364. (in Korean with English abstract)
- Kim, H.J., Hong, J.K., Kim, S.C., Oh, S.H., and Kim, J.H. 2011. Plant phenology of threatened species for climate change in sub-alpine zone of Korea – Especially on the summit area of Mt. Deogyusan – Korean Journal of Plant Resources 24(5): 549-556. (in Korean with English abstract)
- Kim, H.J. and Kim, G.T. 2016. Flowering, fruiting, seed fall and seed viability of *Acer pseudosieboldianum* in Mt. Jungwang, Gangwondo. Journal of Korean Forestry Society 105(1): 42-47. (in Korean with English abstract)
- Kim, K.H. and Park, J.M. 1996. A study on the pollen morphology of the Genus *Acer* L. in Korea. Journal of Korean Forestry Society 85(3): 472-486. (in Korean with English abstract)
- Kovach, K.E., Iqbal, M.J., Egertsdotter, E.M.U., and Zedaker, S.M. 2009. Assessment of genetic and wood density variation of *Acer rubrum* L. populations in unmanaged forests of the Southeastern United States. pages 50-69 in Kovach, K.E., ed. Assessment of Genetic Variation of *Acer rubrum* L. and *Liriodendron tulipifera* L. populations in unmanaged forests of the Southeast United States. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA, pp. 115.
- Lara-Gomez, V.G., Gailing, O., and Finkeldey, R. 2005. Genetic variation in isolated Mexican populations of the endemic maple *Acer skutchii* Rehd. Allgemeine Forst und Jagdzeitung 176(6/7): 97-103.
- Lee, J.H., Cho, H.J., and Hur, T.C. 2006. Spatial distribution and vegetation-environment relationship of forest vegetation in Ulleung Island, Korea. Journal of Ecology and Environment 29(6): 521-529. (in Korean with English abstract)
- Lee, J.W., Hong, K.N., and Kang, J.T. 2014. Genetic Diversity and Genetic Structure of *Phellodendron amurense* populations in South Korea. Journal of Korean Forest Society 103(1): 51-58. (in Korean with English abstract)
- Liu, C., Tsuda, Y., Shen, H., Hu, L., Saito, Y., and Ide, Y. 2014. Genetic structure and Hierarchical population divergence history of *Acer mono* var. *mono* in South and Northeast China. PLOS one 9(1): e87187.
- Lynch, M. and Milligan, B. 1994. Analysis of population genetic structure using RAPD markers. Molecular Ecology 3: 91-99.
- Mueller, U.G. and Wolfenbarger, L.L. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. TREE 14(10): 389-394.
- Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in Plants. Molecular Ecology 13: 1143-1155.
- Park, K.W. 1984. Taxonomical studies of the Genus *Acer* in Korea by the morphological characteristics of stipules. Journal of Korean Forest Society 67: 1-9. (in Korean with English abstract)
- Park, C.W., Oh, S.H., and Shin, H.C. 1993. Reexamination of vascular plants in Ullung Island, Korea II: Taxonomic identity of *Acer takesimensis* Nakai (Aceraceae). Korea Journal of Plant Taxonomy 23(4): 217-231.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENEALX 6: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295.
- Pfossler, M.F., Guzy-Wróbelska, J., Sun, B.Y., Stuessy, T.F., Sugawara, T., and Fujii, N. 2002. The origin of species of *Acer* (Sapindaceae) Endemic to Ulleung Island, Korea. Systematic Botany 27(2): 351-367.
- Porth, I. and El-Kassaby, Y.A. 2014. Assessment of the genetic diversity in forest tree populations using molecular markers. Diversity 6: 283-295.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
- Roh, M.S., Mcnamara, W.A., Picton, D., Yin, K., and Wang, Q. 2008. Assessment of genetic variation in *Acer Pentaphyllum* based on amplified fragment length polymorphism. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 83(6): 725-731.
- Rosenberg, N.A. 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. Molecular Ecology Notes 4: 137-138.
- Stuessy, T.F., Jakubowsky, G., Gómex, R.S., Pfossler, M., Schlüter, P.M., Fer, T., Sun, B.Y., and Kato, H. 2006. Anagenetic evolution in island plants. Journal of Biogeography 33: 1259-1265.
- Takayama, K., Sun, B.Y., and Stuessy, T.F. 2012. Genetic consequences of anagenetic speciation in *Acer okamotoanum* (Sapindaceae) on Ullung Island, Korea. Annals of Botany 109: 321-330.
- Takayama, K., Sun, B.Y., and Stuessy, T.F. 2013. Anagenetic speciation in Ullung Island, Korea: genetic diversity and structure in the island endemic species, *Acer takesimensis* (Sapindaceae). 2013. Journal of Plant Research 126: 323-333.
- Yang, J., Zhao, L.L., Yang, J.B., and Sun, W.B. 2015. Genetic diversity and conservation evaluation of a critically endangered endemic maple, *Acer yabghiense*, analyzed using microsatellite markers. Biochemical Systematics and Ecology 60: 193-198.
- Vekemans, X. 2002. AFLP-SURV 1.0: A program for genetic diversity analysis with AFLP (and RAPD) population data. Laboratoire de Génétique et d'Ecologie Végétales, Université Libre de Bruxelles.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23(21): 4407-4414.