

PLANT & FOREST

Current trends in forest science research using microsatellite markers in Korean national journals

Byeong-Ju Lee, Soo Hyung Eo*

Department of Forest Resources, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

*Corresponding author: eosh@kongju.ac.kr

Abstract

Microsatellites, which are sequences of repetitive short nucleotides, are abundant in the genome and have relatively many alleles at a locus. Hence, microsatellite markers are used in various research areas such as medicine, agriculture, and biology. Thanks to recent advanced techniques and databases associated with microsatellite marker development, foreign research relying on microsatellite markers is increasing in various study areas. In this study, by analyzing microsatellites-related articles published during 2000-2014 from eight Korean national journals representing zoology, botany, genetics, ecology and environmental science, breeding science, and forest science ('Animal Cells and Systems', 'Journal of Plant Biology', 'Genes and Genomics', 'Korean Society of Environment and Ecology', 'Korean Journal of Breeding Science', 'Journal of Agricultural Science, Chungnam National University', 'Journal of Korean Forest Society' and 'Forest Science and Technology'), we found that the number of articles and diversity of study subjects and objects have increased considerably. However, there are fewer applications of microsatellites in the national forest science area. During 2000-2014 in 'Journal of Korean Forest Society', the percentage of articles dealing with microsatellite markers was found to be the lowest with 4.2% among articles focusing on PCR-based markers including RAPD, AFLP, and ISSR. However, in 'Canadian Journal of Forest Research' and 'Forest Ecology and Management', microsatellite marker articles were represented at their highest with 69.2% and 76.2%, respectively. Given the advantages of microsatellite markers, the publication of research papers using microsatellites should be increased in Korean forest science journals to the level of studies published in prominent international journals.

Keywords: forest genetics, Korean domestic journals, simple sequence repeats (SSR)

Introduction

분자 표지자는 생물체의 유전 변이를 분자 수준에서 식별하기 위하여 사용한다(Liu and Cordes, 2004). 분자 표지자의 종류로는 단백질 표지자, DNA 표지자 등이 있으며, 이중 DNA 표지자는 DNA 염기서열 상에서 치환, 삽입, 삭제에 의해 발생하는 유전 변이를 조사하기 위해 활용된다(Liu and Cordes, 2004). DNA 표지자의 종류에는 RFLP와 같은 DNA 혼성화 기반 표지자와 PCR 기반 표지자가 있다(Williams et al., 1990). 이중 PCR 기반 DNA 표지자는 유전자 증폭 과정에서 유전체 상의 특정 영역에 부착하는 표지자를 사용하기 때문에 필요한 염기서열 부위를



OPEN ACCESS

Citation: Lee BJ, Eo SH. 2016. Current trends in forest science research using microsatellite markers in Korean national journals Korean Journal of Agricultural Science 43:221-231.

DOI: <http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160025>

Editor: Byung-Bae Park, Chungnam National University, Korea

Received: March 14, 2016

Revised: May 20, 2016

Accepted: May 27, 2016

Copyright: ©2016 Korean Journal of Agricultural Science.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

선택하여 분리해 낼 수 있다. 그러므로 이물질에 의한 오염이나 절편화 된 DNA 시료에 대해서도 분석 성공률이 상당히 높기 때문에 오래된 생체 표본이나 체모, 체액, 분변, 각질 등과 같은 비침습적 시료로부터 얻을 수 있는 제한된 양의 DNA 분석이 가능하다(Taberlet et al., 1999). 이러한 PCR 기반 DNA 표지자로는 RAPD, AFLP, ISSR, microsatellites 등이 있다.

PCR 기반 DNA 표지자들 중 하나인 microsatellites는 유전체 상에서 1-6 bp의 짧은 배열이 반복되어 나타나는 염기서열이다(Goldstein and Schlötterer, 1999). SSR (Simple Sequence Repeat), STR (Short Tandem Repeat) 등으로 표현되기도 하는 microsatellites는 유전체 상에 광범위하게 산재하여 다수의 유전자좌 분석에 활용 할 수 있다(Selkoe and Toonen, 2006). 또한 microsatellites는 염기서열에 대한 변이율이 크고 단일 유전자좌에 대한 대립유전자 다양성이 상당히 높으며(Queller et al., 1993; Schlötterer, 2000; Kalinowski, 2002), 유전자좌내 대립유전자의 유무만을 확인할 수 있는 RAPD, AFLP, ISSR과는 대조된다(Nybom, 2004). 이러한 특성들로 인해 microsatellites는 유전형 분석을 통한 유전적 특성 규명, 종 또는 근연종 내 집단 유전 분석, 연관 분석을 통한 유전자 지도 작성 등 다양한 활용이 가능하다. 반면 대부분의 microsatellite 표지자들은 단일 종과 근연종의 범위를 벗어난 범용적인 적용이 어려워 새로운 표지자를 개발해야 하는 문제점이 있다(Selkoe and Toonen, 2006). 하지만 최근 차세대염기서열 분석법의 개발 및 enriched library와 EST 데이터베이스 구축에 의해 microsatellite 표지자 개발에 필요한 염기서열 정보가 축적되면서 microsatellite 표지자 개발에 요구되는 시간과 비용이 크게 감소하였다(Squirrell et al., 2003; Pashley et al., 2006; Santana et al., 2009; Parchman et al., 2010).

Microsatellite 표지자 관련 국외 연구는 1990년대 이후 지속적으로 증가하였다(Guichoux et al., 2011). ‘Molecular Ecology’에서 발행된 microsatellite 표지자 개발 연구 사례는 시간 경과와 함께 증가하는 것으로 나타났다(Zane et al., 2002). 또한 국외 분자생태학 분야 전문 학술지에서 발행된 연구 논문들은 집단유전구조 분석, 친자 감정, 근연 관계 분석과 같은 연구 주제를 다루었고, 균류, 척추동물, 무척추동물, 식물과 같은 다양한 대상에 대해 연구가 이루어진 것으로 조사되었다(Guichoux et al., 2011). 그러나 국내 microsatellite 표지자 적용 사례를 분석한 연구의 부족으로 국내 연구 현황을 파악하기에 어려움이 있다. 본 연구에서는 microsatellites 관련 국내 연구 현황을 파악하기 위해 동물, 식물, 유전, 육종, 환경·생태, 산림 각 분야를 대표하는 8개 학술지들을 대상으로 microsatellites 관련 연구 논문들을 조사하였으며, 연도에 따른 microsatellites 활용 범위의 변화를 파악하기 위해 연도별 microsatellites 관련 연구 논문 수, 연구 주제 및 연구 대상에 따른 연구 논문 수 변화를 분석하였다. 또한 국내외 산림 과학 분야에서의 주요 PCR 기반 분자 표지자 활용 빈도를 비교하기 위해 국내외 산림 과학 분야 3개 전문 학술지에서 RAPD, AFLP, ISSR, microsatellites 관련 연구 논문 조사를 실시하였다. 다양한 연구 내용에 걸친 국내외 적용 현황을 분석하여 국내 산림 과학 분야에서의 microsatellites 활용 가능성과 타당성을 검토해보고자 한다.

Materials and Methods

Microsatellites 관련 학술지 논문 현황

Microsatellite 표지자를 적용한 국내 연구 동향을 알아보기 위한 조사를 실시하였다. 출판 년도가 2000년부터 2014까지에 해당하는 국내 학술지 논문을 검색 하였으며, 저자들의 소속이 국내 연구 기관인 논문으로 검색 범위를 한정하였다. 검색 키워드는 ‘SSR’, ‘Simple Sequence Repeat’, ‘STR’, ‘Short Tandem Repeat’, ‘microsatellite’로 하였다. 논문 검색은 전문 연구 분야에 따른 연구 대상의 편이를 줄이기 위해 동물, 식물, 유전, 육종, 환경·생태, 산림 과학 분야를 각각 대표하는 ‘한국동물학회지(Animal Cells and Systems)’, ‘한국식물학회지(Journal of Plant Biology)’, ‘한국유전학회지(Genes and Genomics)’, ‘한국육종학회지(Korean Journal of Breeding Science)’, ‘한국환경생태학회지(Korean Society of Environment and Ecology)’, ‘한국임학회지(Journal of Korean Forest Society)’, ‘충남대학교 농업과학연구(Journal of Agricultural Science, Chungnam National University)’, ‘Forest Science and Technology’에 대하여 조사를 실시하였다.

Microsatellites 관련 국내 연구 논문의 연도, 연구 대상, 연구 주제에 따른 분석

국내 microsatellites 관련 연구 동향을 파악하기 위해, 수집한 연구 논문들을 연구 대상, 연구 주제에 따라 분류하고 연도에 따른 연구 동향 분석을 실시하였다. Microsatellite 분자 표지자 적용 연구 논문의 연구 대상을 생물분류군에 따라 ‘초본 식물(herbal plants)’, ‘목본 식물(woody plants)’, ‘척추동물(vertebrates)’, ‘무척추동물(invertebrates)’, ‘미생물(microorganism)’ 항목으로, 나머지 생물이나 분석 기법 등의 생물 이외 연구대상을 ‘기타(the others)’ 항목으로 분류하였다. 연구 주제는 microsatellites 관련 연구 논문의 제목, 연구 목적, 적용 및 분석 방법에 따라 분석하였다. 신규 microsatellite 분자 표지자 개발 또는 근연종의 microsatellite 분자 표지자 적용 가능성 실험은 ‘표지자 개발(marker development)’, 집단 내 유전 다양성 및 집단유전구조 연구는 ‘집단유전구조 분석(population genetics)’, 표현형질과 microsatellites 유전형질의 연관과 연관 유전자 지도 작성은 ‘연관 분석 및 유전자 지도(linkage map)’, DNA profiling과 parentage 연구는 ‘유전 특성 분석(genetic identification)’, 어느 항목에도 들지 않는 경우는 ‘기타(the others)’ 항목으로 분류하였으며, 두 개 이상의 연구 주제를 가질 경우 각 항목에 중복되도록 분류하였다. 한편 연도에 따라 발행된 논문들이 분류된 항목의 수와 각 항목으로 분류된 논문의 수를 통해 다양성을 나타내는 shannon index (H) (Shannon, 1948; $H = -\sum p_i \log p_i$, p_i : 전체 논문 수 대비 i 항목에 해당하는 논문 수 비율)를 측정하여 연구 주제 및 연구 대상의 다양한 정도를 수치화하였다. 이후, 2000년부터 2014년까지의 기간을 1년 단위로 나누어 독립변수로 지정하고, 연도별 출판 논문 수, 연도별 ‘연구 대상’ 및 ‘연구 주제’ 각 항목들에 분류된 논문 수, 다양성 지수인 shannon index (H)를 종속 변수로 하여 회귀분석을 실시하였다. 표본 크기가 독립변수 수의 최소 10배 이상이 되어야 안정적인 회귀계수를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있어(Austin and Steyerberg, 2015), 이에 따라 ‘연구 대상’ 및 ‘연구 주제’ 각 항목들 중 해당 논문의 수가 10편 이하인 항목은 회귀 분석에서 제외하였다.

산림 과학 분야에서 주요 분자 표지자 관련 연구 논문 현황

국내외 산림 과학 분야에서의 주요 PCR 기반 분자 표지자인 RAPD, AFLP, ISSR, microsatellite 분자 표지자 이용 현황을 알아보기 위한 조사를 실시하였다. 국내 산림 과학 분야 전문 학술지로 ‘한국임학회지’를 선정하였다. 국외 산림 과학 분야 전문 학술지는 Journal Citation Reports® (<http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR>)의 JCR Science Edition 2014에서 학술지 주제 ‘Forestry’ 항목 내 인용 빈도(Total Cites)가 가장 높은 산림 과학 분야의 3개 전문 학술지를 선정하였다. 조사 결과 산림 과학 분야 전문 학술지 중 ‘Forest Ecology and Management’가 총 24,682회로 가장 높은 인용 빈도를 나타냈으며, ‘Agricultural and Forest Meteorology’가 총 12,491회, ‘Canadian Journal of Forest Research’가 총 10,923회 순으로 높은 인용 빈도를 나타냈다. 기상학으로 연구 범위가 한정된 ‘Agricultural and Forest Meteorology’를 제외하고, 다양한 연구 범위를 다루는 ‘Forest Ecology and Management’와 ‘Canadian Journal of Forest Research’를 최종적으로 선정하였다. 이후 ‘한국임학회지’, ‘Canadian Journal of Forest Research’, ‘Forest Ecology and Management’에서 출판 년도를 2000년-2014년으로 한정하여 논문을 검색하였다. 검색 키워드는 ‘RAPD’, ‘AFLP’, ‘ISSR’, ‘I-SSR’, ‘microsatellite’, ‘SSR’, ‘STR’로 하여 검색하였으며, 이후 각 학술지별로 수집한 총 논문 수 대비 PCR 기반 분자 표지자 종류별 연구 논문 수 비율을 측정하였다.

Results and Discussion

Microsatellites 관련 국내 연구 논문 연도별 현황

국내 8개 전문 분야 학술지에서 2000-2014년 기간 동안 발행된 microsatellites 관련 연구 논문은 총 172편으로 나타났다. ‘한국유전학회지(Genes and Genomics)’가 85편으로 가장 많았으며, 그 다음으로는 ‘한국육종학회지(Korean Journal of Breeding Science)’ 60편, ‘한국동물학회지(Animal Cells and Systems)’ 14편, ‘한국식물학회지

(Journal of Plant Biology)’, 6편, ‘충남대학교 농업과학연구(Journal of Agricultural Science, Chungnam National University)’ 5편, ‘한국환경생태학회지(Korean Society of Environment and Ecology)’ 및 ‘한국임학회지(Journal of Korean Forest Society)’ 1편의 순이었으며, ‘Forest Science and Technology’에서는 단 한편의 논문도 조사되지 않았다(Table 1). Microsatellites 관련 연구 논문 수는 연도가 지나감에 따라 증가하였다($\beta = 0.96$, $R^2 = 0.47$, $p < 0.01$; Fig. 1).

Table 1. The number of research articles classified as microsatellites-related by journals published during 2000-2014.

Journal	Number of articles
Genes and Genomics (한국유전학회지)	85
Korean Journal of Breeding Science (한국육종학회지)	60
Animal Cells and Systems (한국동물학회지)	14
Journal of Plant Biology (한국식물학회지)	6
Journal of Agricultural Science, CNU (충남대학교 농업과학연구)	5
Korean Society of Environment and Ecology (한국환경생태학회지)	1
Journal of Korean Forest Society (한국임학회지)	1
Forest Science and Technology	0
Total	172

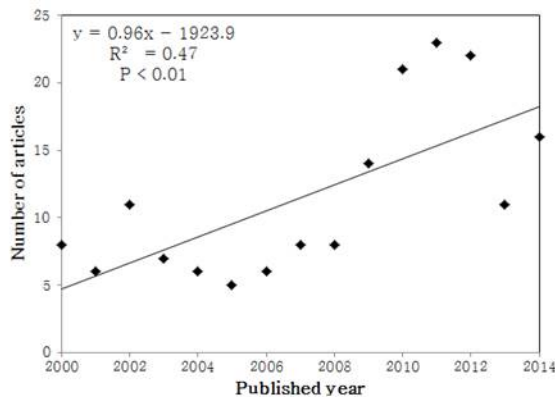


Fig. 1. Linear regression between published year and the number of articles published in Korean domestic journals during 2000-2014.

Microsatellites 관련 국내 논문 연구 대상에 따른 분석

조사된 172편의 microsatellites 관련 연구 논문을 연구 대상으로 분류한 결과, ‘초본 식물(herbal plants)’을 대상으로 한 연구(92편)가 가장 많이 이루어졌으며, 그 다음으로 ‘척추동물(vertebrates)’(53편), ‘목본 식물(woody plants)’(13편), ‘무척추동물(invertebrates)’(11편), ‘미생물(microorganism)’(2편), ‘기타(the others)’(1편) 순으로 분류되었다(Fig. 2a). 해당 논문 수가 10편 이하인 ‘미생물(microorganism)’과 ‘기타(the others)’를 제외한 연구 대상 항목들 중 ‘초본 식물(herbal plants)’($\beta = 0.39$, $R^2 = 0.32$, $p < 0.05$; Fig. 3a), ‘목본 식물(woody plants)’($\beta = 0.19$, $R^2 = 0.61$, $p < 0.001$; Fig. 3b), ‘무척추동물(invertebrates)’($\beta = 0.18$, $R^2 = 0.39$, $p = 0.01$; Fig. 3d)의 3개 연구 대상 항목은 모두 통계적으로 유의한 양의 기울기를 나타내, 시간이 경과함에 따라 각 항목에 해당하는 논문 수가 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 ‘척추동물(vertebrates)’($\beta = 0.20$, $R^2 = 0.13$, $p = 0.18$; Fig. 3c)은 연도에 따른 논문 수 증가가 통계적으로 유의하지 않았다.

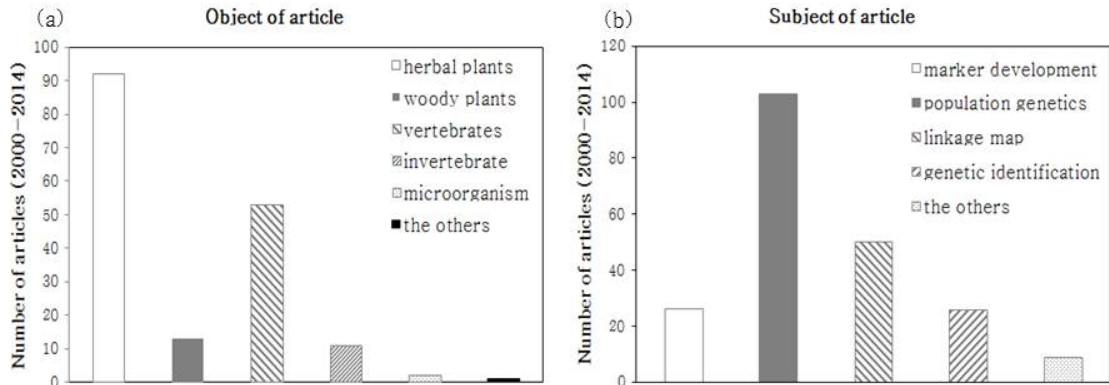


Fig. 2. The number of articles classified by object (a), and subject (b) in Korean domestic journals published during 2000-2014.

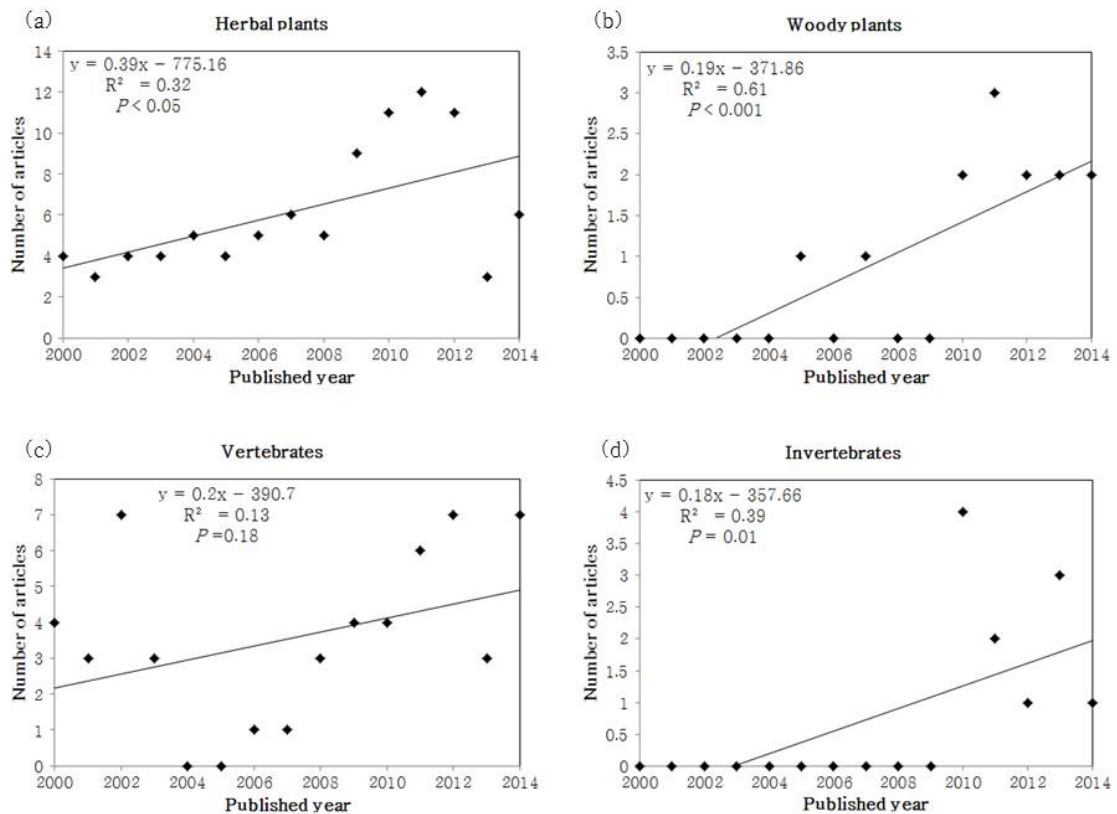


Fig. 3. Linear regression between published year and the number of articles published in Korean domestic journals during 2000-2014 classified by herbal plants (a), woody plants (b), vertebrates (c), and invertebrates (d).

Microsatellites 관련 국내 논문 연구 주제에 따른 분석

연구 주제에 따라 분류한 결과, ‘집단유전구조 분석(population genetics)’(103편)이 가장 많이 이루어졌으며, 그 다음으로 ‘연관 분석 및 유전 지도 작성(linkage map)’(50편), ‘표지자 개발(marker development)’(26편), ‘유전 특성 분석(genetic identification)’(26편), ‘기타(the others)’(9편) 순으로 분류되었다(Fig. 2b). 해당 논문 수가 10편 이하인 ‘기타(the others)’를 제외한 ‘표지자 개발(marker development)’($\beta = 0.34$, $R^2 = 0.36$, $p < 0.05$; Fig. 4a), ‘집단유전구조

분석(population genetics)'($\beta = 0.68, R^2 = 0.39, p = 0.01$; Fig. 4b)의 2개 연구 주제 항목은 통계적으로 유의한 양의 기울기를 나타내, 시간이 경과함에 따라 각 항목에 해당하는 논문 수가 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 '연관 분석 및 유전자 지도(linkage map)'($\beta = 0.15, R^2 = 0.13, p = 0.18$; Fig. 4c)와 '유전 특성 분석(genetic identification)'($\beta = 0.1, R^2 = 0.12, p = 0.2$; Fig. 4d)은 연도에 따른 논문 수 증가가 통계적으로 유의하지 않았다.

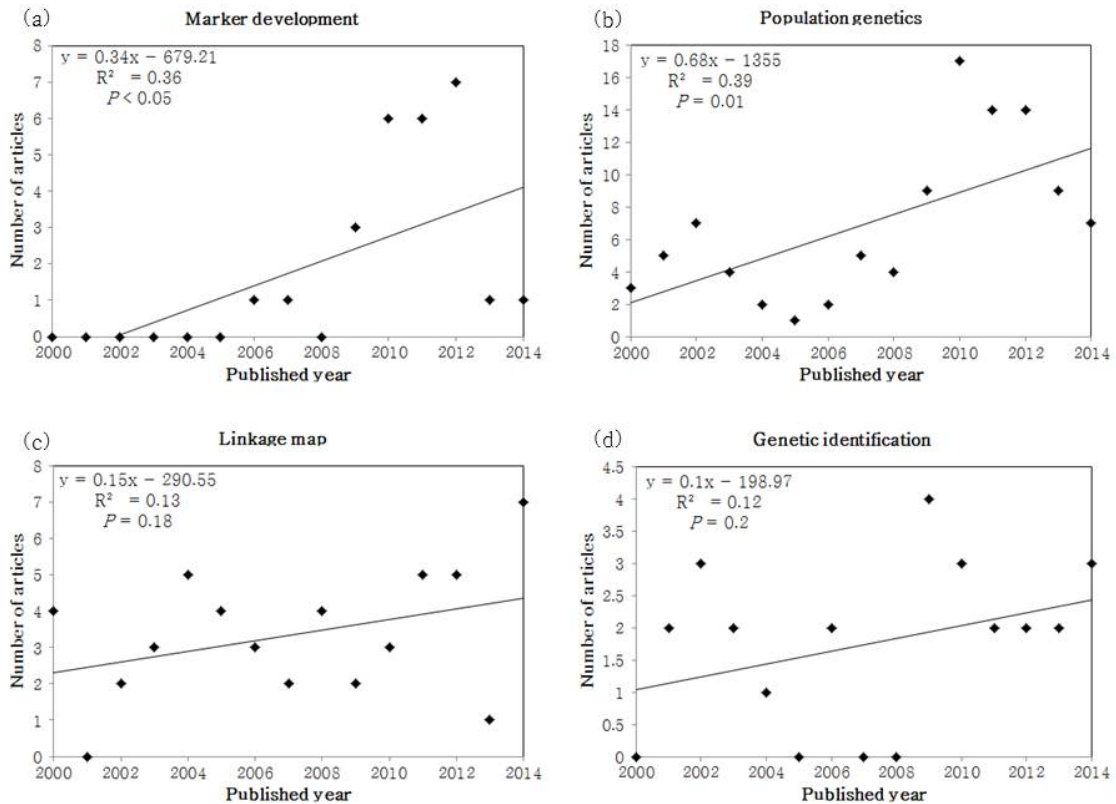


Fig. 4. Linear regression between published year and the number of articles published in domestic journals during 2000-2014 classified by marker development (a), population genetics (b), linkage map (c), and genetic identification (d).

Microsatellites 관련 국내 논문 연구 대상 및 주제의 다양성 분석

Shannon index(H)를 통해 측정된 연구 대상 및 주제 다양성의 연도별 변화를 살펴본 결과, 연구 대상의 다양성($\beta = 0.05, R^2 = 0.62, p < 0.001$; Fig. 5a)과 연구 주제의 다양성($\beta = 0.03, R^2 = 0.25, p < 0.1$; Fig. 5b) 모두 시간이 경과함에 따라 증가하였다. 연구 대상 및 연구 주제별 연구 논문 수 분석에서는 연도에 따른 microsatellites 관련 국내 연구 논문 수의 증가가 모든 연구 대상이나 연구 주제에 걸쳐 동일한 수준으로 일어나지는 않았지만(Fig. 3, 4), 시간이 경과함에 따라 연구 대상 및 주제의 범위는 점차 다양해지고 있는 것으로 판단된다(Fig. 5). 이러한 추세는 국외 연구 사례 현황과 일치한다. ISI Web of Knowledge database에서 검색 가능한 microsatellites 관련 연구는 1990년 이래로 꾸준히 증가하였으며(Guichoux et al., 2011), 분자 생태관련 전문 학술지인 'Molecular Ecology'에서 2009년-2010년 기간 동안 발행된 100편의 연구 논문들은 집단유전구조 분석, 친자 감정, 근연 관계 분석과 같은 연구 주제를 나타내고, 균류, 척추동물, 무척추동물, 식물과 같은 다양한 대상에 대해 연구가 이루어진 것으로 조사되었다(Guichoux et al., 2011).

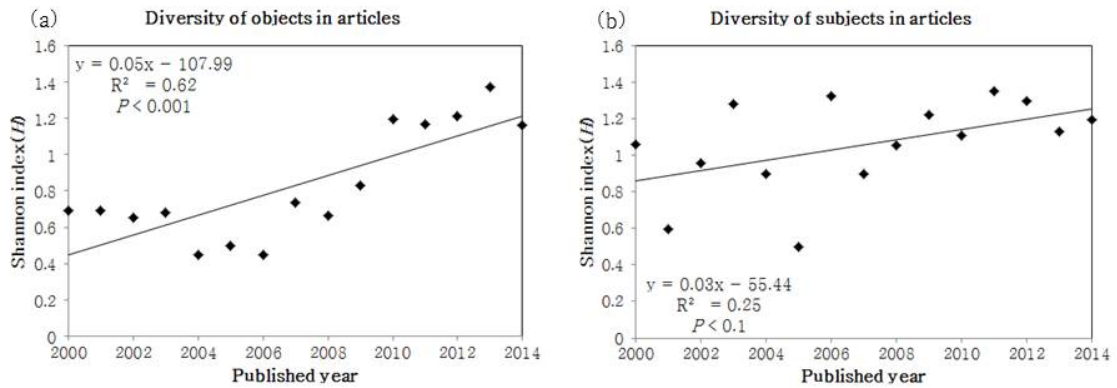


Fig. 5. Linear regression between published year and diversity of contents in articles published in Korean domestic journals during 2000-2014: diversity of objects (a), and subjects (b) in articles.

국내의 microsatellites 활용 연구 논문 수 증가와 연구 대상 및 연구 주제 범위의 확대는 근래에 들어 microsatellite 표지자 개발 사례 증가로 적용이 수월해졌기 때문으로 생각된다. ‘Molecular Ecology’에서 1999년부터 2001년까지 보고된 microsatellite 표지자 개발 사례는 시간이 지날수록 증가하였으며(Zane et al., 2002), 본 연구 결과에서도 국내 학술지의 2000년부터 2014년까지의 microsatellite 표지자 개발 사례가 시간이 경과할수록 증가한 것으로 나타났다(Fig. 1). 초기의 국내외 microsatellite 표지자 개발 사례 증가는 enriched library 및 EST database의 축적 및 기술 발달에 따른 비용 감소가 원인인 것으로 여겨진다. 식물의 경우 1990년대 초 연구들에서 genomic library screening으로 microsatellites 염기서열이 포함된 library는 전체 library에서 최대 10%만을 얻을 수 있었다(Billotte et al., 1999).

최근에 들어서는 NGS 기술, 특히 pyrosequencing 기술 개발로 microsatellites library 구축을 위한 염기서열 분석은 더욱 신속하고 저렴해졌다. Santana et al. (2009)의 연구에서는 단 한번의 pyrosequencing을 통해 *Fusarium circinatum*의 유전체에서 총 231개의 microsatellites 유전자좌를 확인한 반면, sanger sequencing을 통해서는 100개의 클론을 분석하여 총 8개의 microsatellites 유전자좌만을 확인하였다. 또한 pyrosequencing을 통한 microsatellites library 개발 비용은 sanger sequencing을 통한 개발 비용보다 두 배 이상 절감되는 것으로 나타났다(Santana et al., 2009). The National Human Genome Research Institute (NHGRI)에서 NGS 분석 비용 변동 추이를 추적한 결과에서는 2001년 이후로 NGS 분석 비용이 꾸준히 감소하고 있으며, 특히 2008년 이후로 분석 비용은 큰 폭으로 감소한 것으로 나타났다(Sboner et al., 2011). NGS 분석 비용의 감소로 신규 microsatellite 표지자 개발 사례는 지속적으로 증가할 것이며, 이에 따라 microsatellite 표지자를 활용한 국내외 연구 사례도 더욱 증가할 것으로 생각된다.

산림 과학 분야 PCR 기반 분자 표지자별 적용 현황

국내의 산림 과학 분야 3개 학술지별 PCR 기반 분자 표지자 활용 총 논문 수 대비 각 PCR 기반 분자 표지자 종류별 활용 논문 수 비율을 통해 국내외 연구 분야에서 microsatellites 상대적 활용 빈도를 비교하였다(Fig. 6). 학회지별로 PCR 기반 분자 표지자 활용 연구 논문을 검색한 결과, ‘한국임학회지’에서는 총 24편, ‘Canadian Journal of Forest Research’에서는 총 52편, ‘Forest Ecology and Management’에서는 총 84편의 논문들이 검색되었다. 학회지별 PCR 기반 분자 표지자인 RAPD, AFLP, ISSR, microsatellites와 관련된 전체 논문 수에서 분자 표지자 종류에 따른 연구 논문 수의 비율은, 국내 산림 과학 분야 전문 학술지인 ‘한국임학회지’에서 ISSR 관련 논문이 70.9%, RAPD 12.5%, AFLP 12.5%, microsatellites 4.2%로 나타났다. 국외 산림 과학 분야 전문 학술지인 ‘Canadian Journal of Forest Research’에서는 microsatellites 관련 논문이 69.2%, RAPD 17.3%, AFLP 11.5%, ISSR 1.9%로 조사되었으며, ‘Forest Ecology and Management’에서는 microsatellites 관련 논문이 76.2%, RAPD 14.3%, AFLP 7.1%, ISSR 2.4%로 나타났다.

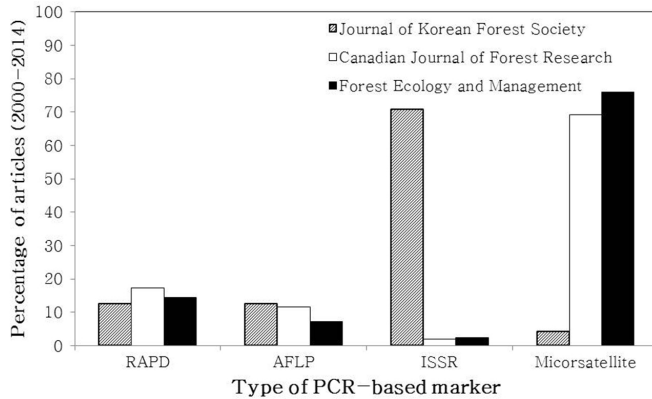


Fig. 6. The percentage of articles classified by PCR-based markers among searched articles in Korean domestic and foreign forest science journals.

국내 산림 과학 분야 microsatellites 활용 전망

국내 산림 과학 분야 전문 학술지인 ‘한국임학회지’에서의 microsatellites 활용 연구 논문 수는 다른 PCR 기반 DNA 분자 표지자인 ISSR, AFLP, RAPD에 비해 적었다. 이는 다른 PCR 기반 분자 표지자 관련 연구 논문 수보다 microsatellites 관련 연구 논문 수가 월등히 많은 ‘Canadian Journal of Forest Research’와 ‘Forest Ecology and Management’의 국외 학술지와는 상반된 결과이다. ISSR, AFLP, RAPD는 microsatellites에 비해 적용이 쉽고 저렴하며, 하나의 표지자를 통해 다수의 유전자좌를 확인할 수 있는 특징 때문에 국내 산림 과학 분야에서 선호되는 것으로 판단된다. 그러나 ISSR, AFLP, RAPD와 같은 우성 표지자는 하나의 유전자좌에 대해서 오직 대립유전자의 유무 (presence 또는 absence)만을 제공하며, presence/presence의 유전자형을 presence/null 유전자형과 구분할 수 없다는 단점이 있기 때문에 단일 유전자좌에서 많은 대립유전자의 수와 정확한 유전형 결정을 필요로 하는 집단유전연구에는 적절하지 않은 특성이다(Nybom, 2004).

반면 microsatellite 표지자는 공우성 표지자로서 단일 유전자좌에 대한 다수의 대립유전자 확인이 가능하며, 대립유전자 크기를 1 bp size까지 정확하게 구분할 수 있는 이점이 있다(Jarne and Lagoda, 1996). 또한 microsatellites는 한 세대에 10^2 - 10^6 의 높은 돌연변이율을 갖기 때문에 하나의 유전자좌에서 많은 수의 대립유전자를 나타낸다 (Schlötterer, 2000). 특히 집단의 크기가 작고 최근에 병목현상을 겪은 종에 있어서 낮은 변이율을 갖는 표지자들보다 매우 높은 유전 다양성을 나타낸다(Hedrick, 1999). Microsatellites의 높은 변이율은 비교적 최근에 형성된 집단의 유전구조나 유전 흐름 등을 분석하기에 적합하며(Selkoe and Toonen, 2006), 높은 대립유전자 다양성은 종내 개체간 유전 특성 구분을 가능하게 한다(Queller et al., 1993). 이러한 microsatellites의 특성은 집단유전구조 분석에 특히 유용할 것으로 보인다.

2000년부터 2014년까지 microsatellites를 활용한 집단유전구조 분석을 연구 주제로 하는 국내 연구 논문 수는 시간의 경과와 함께 증가하였다(Fig. 4b). 또한 국외 산림 과학 분야 연구에서는 화분 및 종자 이동에 의한 임분 간 유전 흐름이나 파종, 벌채, 산불 등에 의한 산림성 생물 집단의 유전적 교란 정도 파악과 같은 산림 집단유전구조 분석연구가 광범위하게 진행되고 있다(Ratnam et al., 2014). 국외 산림 과학 분야 microsatellites에서의 활용 사례를 예로 들면, Rajendra et al. (2014)과 Vranckx et al. (2014b)은 인간에 의한 분포지 훼손과 파편화가 유럽너도밤나무(*Fagus sylvatica*)와 로부르참나무(*Quercus robur*) 집단유전구조에 미친 영향을 밝히기 위한 연구를 진행하였으며, Riba-Hernández et al. (2014)은 성비 불균형에 의한 *Virola surinamensis*와 *Virola koschnyi*의 유전다양성 감소를 측정하였다. 또한, Wang et al. (2014)은 *Castanopsis chinensis* 집단의 지리적 위치와 종자 및 화분 비산 양상이 집단 유전 구조에 미치는 영향을 분석하였으며, Vranckx et al. (2014a)는 소규모 로부르참나무(*Quercus robur*) 집단으로부터 비롯

된 종자들의 유전다양성을 측정하는 연구를 수행하였다. 국외 연구 활용 사례와 같이, 향후 국내 산림 과학 분야에서 실시될 집단유전구조 연구에서 microsatellites가 유전 분석 도구로써 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

Microsatellites 활용 시 주의사항

Microsatellite 표지자 활용에 있어서 잘못된 data set 도출과 해석을 피하기 위해 주의해야 할 사항이 있다. 일부 microsatellite 유전자좌는 특정 유전자좌와 염색체상에서 물리적으로 연관되어 있거나, 형질 발현 과정에서 기능적으로 연관을 나타내 linkage disequilibrium 문제를 야기할 수 있다(Selkoe and Toonen, 2006). PCR 과정에서 대립유전자 중 일부의 편향 증폭으로 partial null이 나타나 동형접합자율을 과대 측정하는 null allele이 발생할 수도 있다(Yun et al., 2011). 또한, microsatellites 유전자좌에는 염기서열 길이 측정만으로 감지할 수 없는 대립유전자 변이가 있을 수 있다(Anmarkrud et al., 2008). 이러한 문제들은 일부 사례에서 나타나는 희귀한 문제들이며, 추가 실험과 분석을 통해 해결할 수 있다(Selkoe and Toonen, 2006; Yun et al., 2011 참조). 하지만 microsatellite 표지자 적용 가능성을 고려했고 이러한 문제들을 무시한다면 잘못된 결론을 도출할 수 있으므로 반드시 주의해야 할 것이다.

Conclusion

Microsatellites 표지자를 활용한 연구는 최근 산림 과학 분야에 다양하게 기여할 수 있을 것으로 보인다. 저명한 국내외 전문 학술지에서 microsatellites는 높은 빈도로 활용되고 있다. 개체군의 유전 다양성 및 집단 유전 구조 분석과 같은 분자 생태학적 연구, 활용가치가 높은 표현 형질의 유전적 특성을 규명하고 개량하기 위한 육종 연구, 작물의 품종과 원산지를 확인하기 위한 유전 분석 연구와 법의학 연구 등에 microsatellites가 활용되고 있으며, 연구 대상이 되는 생물군 또한 인간, 자원 동·식물, 야생 동·식물, 박테리아 및 균류 등으로 매우 광범위하다. 하지만 국내 산림 과학 분야에서 microsatellites를 활용한 연구 사례는 아직까지도 매우 적다. 다만 국내 산림 과학 분야에서 microsatellites 이외에 ISSR, AFLP, RAPD와 같은 PCR 기반 DNA 표지자를 활용한 연구가 지속적으로 실시되고 있는 것으로 보아, 향후에도 산림 과학 분야에서 DNA 표지자 유전 분석 연구는 꾸준히 진행될 것으로 판단된다. 그러므로 국내 산림 과학 분야에서도 다양한 장점을 가지고 있는 microsatellites를 산림생태학, 유전·육종학, 산림보호·보전학 등의 분야에 적극적으로 활용해야 할 것이다.

Acknowledgements

본 연구는 공주대학교 신입교수 정착연구비(2012-1114)의 지원으로 이루어진 것입니다.

References

- Anmarkrud JA, Kleven O, Bachmann L, Lifjeld JT. 2008. Microsatellite evolution: Mutations, sequence variation, and homoplasmy in the hypervariable avian microsatellite locus HrU10. *BMC Evolutionary Biology* 8:138.
- Austin PC, Steyerberg EW. 2015. The number of subjects per variable required in linear regression analyses. *Journal of Clinical Epidemiology* 68:627-636.
- Billotte N, Lagoda P, Risterucci A, Baurens F. 1999. Microsatellite-enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits* 54:277-288.
- Goldstein DB, Schlotterer C. 1999. *Microsatellites: evolution and applications*. p. 368. Oxford University Press. Oxford, U.K.
- Guichoux E, Lagache L, Wagner S, Chaumeil P, Léger P, Lepais O, Lepoittevin C, Malausa T, Revardel E, Salin F, Petit RJ. 2011.

- Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11:591-611.
- Hedrick PW. 1999. Perspective: Highly Variable Loci and Their Interpretation in Evolution and Conservation. *Evolution* 53:313-318.
- Jarne P, Lagoda P.J.L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution* 11:424-429.
- Kalinowski ST. 2002. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? *Heredity* 88:62-65.
- Liu ZJ, Cordes JF. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238:1-37.
- Nyblom H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* 13:1143-1155.
- Parchman TL, Geist KS, Grahnen JA, Benkman CW, Buerkle CA. 2010. Transcriptome sequencing in an ecologically important tree species: assembly, annotation, and marker discovery. *BMC Genomics* 11:1-16.
- Pashley CH, Ellis JR, McCauley DE, Burke JM. 2006. EST Databases as a Source for Molecular Markers: Lessons from *Helianthus*. *Journal of Heredity* 97:381-388.
- Queller DC, Strassmann JE, Hughes CR. 1993. Microsatellites and kinship. *Trends in Ecology & Evolution* 8:285-288.
- Rajendra KC, Seifert S, Prinz K, Gailing O, Finkeldey R. 2014. Subtle human impacts on neutral genetic diversity and spatial patterns of genetic variation in European beech (*Fagus sylvatica*). *Forest Ecology and Management* 319:138-149.
- Ratnam W, Rajora OP, Finkeldey R, Aravanopoulos F, Bouvet J, Vaillancourt RE, Kanashiro M, Fady B, Tomita M, Vinson C. 2014. Genetic effects of forest management practices: global synthesis and perspectives. *Forest Ecology and Management* 333:52-65.
- Riba-Hernández P, Segura JL, Fuchs EJ, Moreira J. 2014. Population and genetic structure of two dioecious timber species *Virola surinamensis* and *Virola koschnyi* (Myristicaceae) in southwestern Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 323:168-176.
- Santana QC, Coetzee MP, Steenkamp ET, Mlonyeni OX, Hammond GN, Wingfield MJ, Wingfield BD. 2009. Microsatellite discovery by deep sequencing of enriched genomic libraries. *Biotechniques* 46:217.
- Sboner A, Mu XJ, Greenbaum D, Auerbach RK, Gerstein MB. 2011. The real cost of sequencing: higher than you think! *Genome Biology* 12:125.
- Schlötterer C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109:571-572.
- Selkoe KA, Toonen RJ. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9:615-629.
- Shannon CE. 1948. A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal* 27:379-423.
- Squirrell J, Hollingsworth PM, Woodhead M, Russell J, Lowe AJ, Gibby M, Powell W. 2003. How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? *Molecular Ecology* 12:1339-1348.
- Taberlet P, Waits LP, Luikart G. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14:323-327.
- Vranckx G, Mergeay J, Cox K, Muys B, Jacquemyn H, Honnay O. 2014a. Tree density and population size affect pollen flow and mating patterns in small fragmented forest stands of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Forest Ecology and Management* 328:254-261.
- Vranckx G, Jacquemyn H, Mergeay J, Cox K, Kint V, Muys B, Honnay O. 2014b. Transmission of genetic variation from the adult generation to naturally established seedling cohorts in small forest stands of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Forest Ecology and Management* 312:19-27.
- Wang Z, Lian J, Ye W, Cao H, Wang Z. 2014. The spatial genetic pattern of *Castanopsis chinensis* in a large forest plot with complex topography. *Forest Ecology and Management* 318:318-325.
- Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as

genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18:6531-6535.

Yun Y, Yu J, Lee B, Kwak M. 2011. An introduction to microsatellite development and analysis. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 41:299-314.

Zane L, Bargelloni L, Patarnello T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11:1-16.