

〈Original article〉

## 복원 소재로서 지역 종자 적용을 위한 억새와 갈대의 유전적 변이분석

홍선희 · 박상용<sup>1</sup> · 민경도<sup>1</sup> · 김재윤<sup>1,\*</sup>

한경대학교 식물생명환경과학과, <sup>1</sup>공주대학교 식물자원학과

### Genetic Difference Analysis and Environmental Assessment of *Miscanthus sinensis* and *Phragmites australis* to Apply Regional Seed for Restoration in Korea

Sun Hee Hong, Sang Yong Park<sup>1</sup>, Kyeong Do Min<sup>1</sup> and Jae Yoon Kim<sup>1,\*</sup>

Department of Plant Life & Environment Science, College of Agriculture & Life Science,  
Hankyong National University, Ansong 17579, Republic of Korea

<sup>1</sup>Department of Plant Resources, College of Industrial Science, Kongju National University,  
Yesan 32439, Republic of Korea

**Abstract** - Restoration ecology is the practical study of renewing and restoring a spoilt, degraded, or devastated ecosystems in the environment. Because the Korean industry has been drastically developed for the past few decades, the Korean ecosystem requires restoration using regional seed. In this study, we identified the variation of phylogenetic relationship of *Miscanthus sinensis* or *Phragmites australis* by locations in Korea. Chloroplast DNA *atpF-H* and *psbA-trnH* interspace region were used as a molecular marker to resolve the phylogenetic relationship in 10 different locations. We performed the molecular phylogenetic analysis with 10 chloroplast DNAs from each location using Kimura 2-parameter. The analysis of *Miscanthus* showed that all *atpF-H* genes were exact matches except for Ose san. In contrast to *Miscanthus*, the *atpF-H* genes from *Phragmites* were observed to have more variation. A total of 7 locations revealed the variation in chloroplast gene. According to the phylogenetic tree in *Phragmites*, 2 of 10 samples in 6 locations and 3 of 10 in 1 location showed variation with 0.160 – 0.181 genetic distance. According to the genetic distance of the *Miscanthus sinensis*, there were no mutations in all regions except the Hongsung. These results support regional differences and show the necessity for seed collection by region. In the case of *Phragmites australis*, genetic variation occurred in all regions.

**Keywords** : *Miscanthus sinensis*, *Phragmites australis*, ecological restoration, genetic difference, molecular marker

## 서 론

개발과 교란으로 인류는 전례 없는 속도로 생태계를 변화시키고 있으며, 전 세계적으로 생물다양성에 악영향을 미치

\* Corresponding author: Jae Yoon Kim, Tel. 041-330-1203,  
Fax. 041-330-1209, E-mail. [jaeyoonkim@kongju.ac.kr](mailto:jaeyoonkim@kongju.ac.kr)

고 있다(Vitousek *et al.* 1997; Raven 2002). 또한 서식지 파괴와 토지이용강화, 기후변화 및 외래종의 침략으로 위협받고 있다(MEA 2005). 이러한 훼손된 생태계를 풍부한 다양성을 가지는 경관으로의 복원방법에 대한 관심이 높아졌으며 이를 구현하기 위한 중요한 목표는 생물다양성의 보전과 생태계서비스의 증진이다(Hobbs and Norton 1996; Dobson *et al.* 1997; Bakker *et al.* 2012; Kiehl *et al.* 2014).

식물 개체군은 지역 환경에 대처해야하며 결과적으로 서식지의 생태적 조건에 적응하고 정착생활을 하는 중요한 특징을 가지고 있다(Joshi *et al.* 2001; Leimu and Fischer 2008). 실질적인 생태 복원에서 정착이 요구되는 식물재료의 원산지는 중요한 문제이다. 복원이 널리 보급되고는 있지만, 그 실행자가 복원에 사용된 식물의 유전적 구성에 관심을 가져야 하는 것은 거의 알려지지 않았다(Lesica and Allendorf 1999; Jones 2003). 식물 개체군의 국지적 적응은 이미 표현형과 유전자형 모두에서 증명되어왔다(McKay *et al.* 2005; Becker *et al.* 2006; Reisch 2007). 지역적 적응은 지리적으로 떨어진 지역의 개체군이 형태적, 유전적 차이 뿐 아니라 생태학적으로 다른 환경 조건하에 놓이게 되면 개체군 내 개체들의 생육, 저항성, 회복력 등이 감소함을 의미하며, 특정 서식처의 개체군을 다른 서식처로 옮길시 옮겨진 거리와 명확한 관계를 보인다(Schmitt and Gamble 1990; Montalvo and Ellstrand 2000, 2001). 따라서 특정한 서식처에 대한 적응관련 표현형은 사라지고 후대의 적합성도 감소한다(Fenster and Dudash 1994; Schoen and Brown 2001; Hufford and Mazer 2003). 따라서 성공적인 복원을 위해 외래교배효과를 회피하고 식물종의 자연유전패턴을 보존하기 위한 복원목적일 경우 지역 종자를 사용하여야 한다는 것이 유럽, 미국을 중심으로 널리 받아들여지고 있다(Hamilton 2001; Hufford and Mazer 2003). 일반화된 지역 종자를 활용한 복원은 기후, 지질학 및 기타 생물리학적 및 생물 지리적 기준에 따라 정의되어 왔다(Vander Mijnsbrugge *et al.* 2010; Bower *et al.* 2014). 그러나 산림에서는 형질 전환 또는 분자 표지자의 유전적 분화를 기반으로 한 종자 이동 구역을 나무에 사용하는 오랜 역사가 있었으며(De Kort *et al.* 2014), 초본 식물의 경우 종자 이동 가능 지역의 구분을 최근 형질 변이(trait variation)(Miller *et al.* 2011; St Clair *et al.* 2013) 또는 분자 표지(Malaval *et al.* 2010; Jorgensen *et al.* 2014)를 통해 시도되고 있다.

국내에서는 지역종자를 활용한 복원사업이 매토종자의 활용을 통한 하천, 산림의 복원에 활용되나 있다(Park *et al.* 2012; Kim *et al.* 2015). 그러나 지역별 유전자형을 기초로 한 최근의 선진 연구사례를 비추어 보면 국내 연구는 거의 전무하며, 심지어 복원을 위한 종자를 거의 전량 수입에 의존

하는 실정이다.

이에 본 연구는 국내 염습지 해안 복원의 주요 식물인 갈대와 내건성 대표 식물인 억새의 지역별 유전자형 분석을 통해 지역별 복원종자 적용에 대한 타당성을 검증하고, 나아가 국내 복원용 종자의 지역 종자 활용을 위한 기초자료로써 활용하고자 한다.

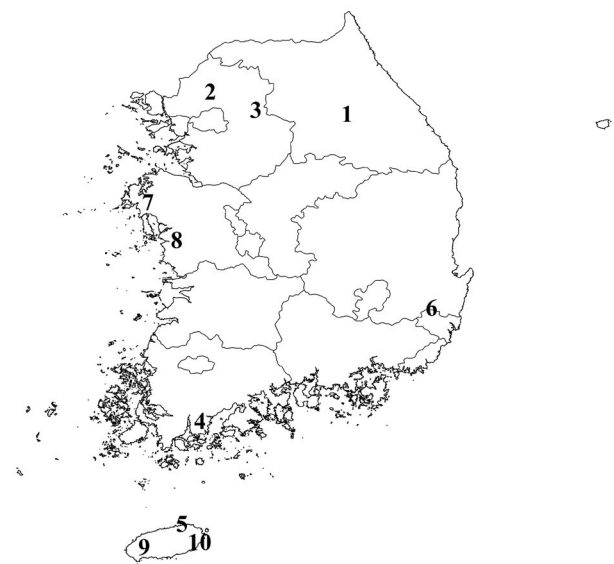
## 재료 및 방법

### 1. 식물재료

실험에 사용된 억새(*Miscanthus sinensis*)와 갈대(*Phragmites australis*)는 전국 10개 지점에 대하여 최소 50 km 떨어진 지역에서 수집되었다. 억새는 한발저항성으로 알려져 있기에 내륙 지방을 포함한 10개 지점(Fig. 1)에서 수집되었으며, 갈대는 염해저항성이 있기 때문에 해안가 인근의 10개 지점(Fig. 2)에서 수집되었다. 억새와 갈대는 각 지점마다 독립적인 10개의 개체를 수집하여 DNA 추출할 때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관 하였다.

### 2. Genomic DNA 추출

수집된 억새와 갈대 샘플들의 잎 부분 1g을 채취하여 막



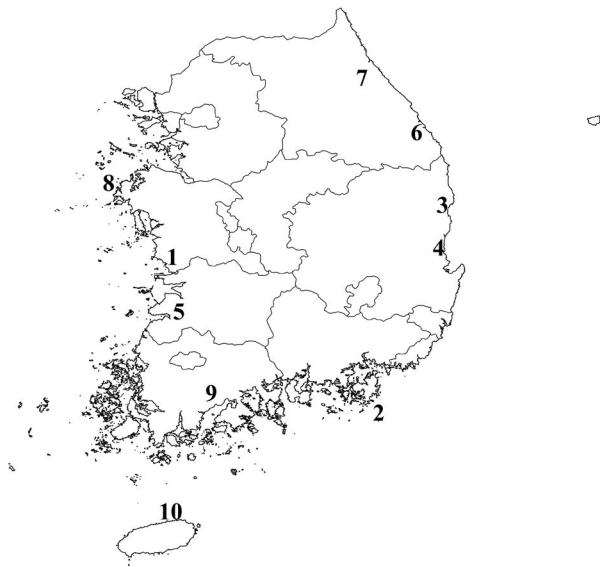
**Fig. 1.** *Miscanthus sinensis* collection locations for genetic variation. 1; Mindung san (Jeongseon), 2; Myeongseong san (Pocheon), 3; Seolmaejae (Yangpyeong), 4; Cheonkwon san (Jangheung), 5; Jeju, 6; Yeongnam Alps (Ulsan), 7; Sinduli (Taean), 8; Oseo san (Hongseong), 9; Saebyeol-oleum (Jeju), 10; Yonguni-oleum (Jeju).

자사발로 액체질소를 이용하여 마쇄하였다. 마쇄된 잎은 Kim *et al.* (2017)의 DNA 추출 방법에 의하여 수행하였다. 추출된 genomic DNA는 0.8% agarose gel 전기영동을 통하여 추출된 DNA의 정성 분석을 실시하였다.

### 3. 엽록체 DNA 유전정보 수집 및 프라이머 디자인

억새 (*M. sinensis*) 엽록체의 유전정보는 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 유전자 데이터베이스에 등재되어 있는 유전체 정보 (Accession no. NC\_028721, *Miscanthus sinensis* chloroplast complet genome, 141,372 bp)를 활용하였다. 갈대 (*P. australis*)의 경우는 데이터베이스에 등재되어 있는 유전체 정보 (Accession no. KJ825856, *Phragmites australis* chloroplast complet genome, 137,614 bp)를 이용하였다.

억새와 갈대의 지역 간 변이를 검정하기 위하여 *atpFH* 유전자와 *matK* 유전자, 그리고 *psbA-trnH* interspace 부분을 target fragment로 설정하였다. 이 구간은 식물의 근연관계



**Fig. 2.** *Phragmites australis* collection locations for genetic variation. 1; Seocheon, 2; Geoje, 3; Uljin, 4; Yeongdeok, 5; Gunsan, 6; Donghae, 7; Goseong, 8; Taean, 9; Suncheon, 10; Jeju.

**Table 1.** Primer list for PCR amplification in this study

Species	Gene	Forward (5'→3')	Reverse (5'→3')	Anneal. temp
<i>Miscanthus sinensis</i>	<i>matK</i>	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG	ACCCAGTCCATCTGAAAATCTTGGTTC	62°C
	<i>atpFH</i>	ACTCGCACACACTCCCCTTCC	GCTTTTATGGAAGCTTTAACAAT	58°C
	<i>psbA-trnH</i>	CTAGACCTAGCTGCTCTTGAAG	GGAGTAATCAGCTGTGACACG	54°C
<i>Phragmites australis</i>	<i>matK</i>	AGCTTCTAGGTGATACTATTAC	TCTTTATGGGATAGGATAGGTA	48°C
	<i>atpFH</i>	TCAATACACCAACCACTACAG	GGAAATTTGGGAACATTTCAAC	54°C
	<i>psbA-trnH</i>	CTAGACCTAGCTGCTCTTGAAG	GGAGTAATCAGCTGTGACACG	54°C

를 분석할 때 자주 사용되는 구간이며, 최근 국내 소나무속과 향나무속의 분자계통연구에 활용되었으며 본 연구과제에서도 표지 유전자로 활용된 엽록체 DNA 구간이다 (Hong *et al.* 2014a, b). 실험에 사용된 프라이머 디자인은 Table 1과 같다.

### 4. PCR 증폭과 염기서열 분석

추출한 갈대와 억새의 10개 지점 당 10개의 genomic DNA는 각 PCR 당 10 ng의 genomic DNA를 이용하여 PCR을 수행하였다. 사용된 PCR 프로그램은 [initial denaturation step: 95°C/10 min, 40 cycles (denature: 95°C/30 sec, annealing temperature: 54°C~62°C/30 sec, extension: 72°C/1 min), final elongation step: 72°C/5 min]로 이용하였으며, PCR error를 최소화하기 위하여 proof reading 기능이 있는 pfu polymerase (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)를 이용하여 증폭하였다. 1% agarose gel 전기영동을 통하여 PCR product를 확인한 후 각 PCR product는 pLUG primeII TA cloning vector (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)와 섞어준 뒤 4°C에서 T4 DNA lagase를 이용하여 ligation 시켰다. 각 cloning vector는 JM 109 competent cell을 이용하여 42°C에서 heat-shock transformation을 한 뒤 암 피실린이 100 mg/L<sup>-1</sup>의 농도로 포함된 LB 배지에서 colony를 배양하였다.

염기서열 분석을 통한 지역 간 환경 변이 차이 검정을 위하여 억새와 갈대에서 *atpFH*, *PsbA-trnH* interspace의 fragment와 *matK* 유전자를 각 10개 지역에서 cloning 된 DNA fragment를 임의로 10개 colony를 선발하여 plasmid DNA를 추출한 뒤 염기서열을 분석 하였다. 억새와 갈대의 지역에 따른 근연 관계 분석과 SNP의 관계는 Kimura 2를 매개 변수로 이용하여 분석하였다 (Kimura *et al.* 1980).

## 결과 및 고찰

### 1. PCR 증폭과 염기서열 분석

억새와 갈대의 엽록체 DNA의 2개의 유전자 (*matK*, *atpFH*),

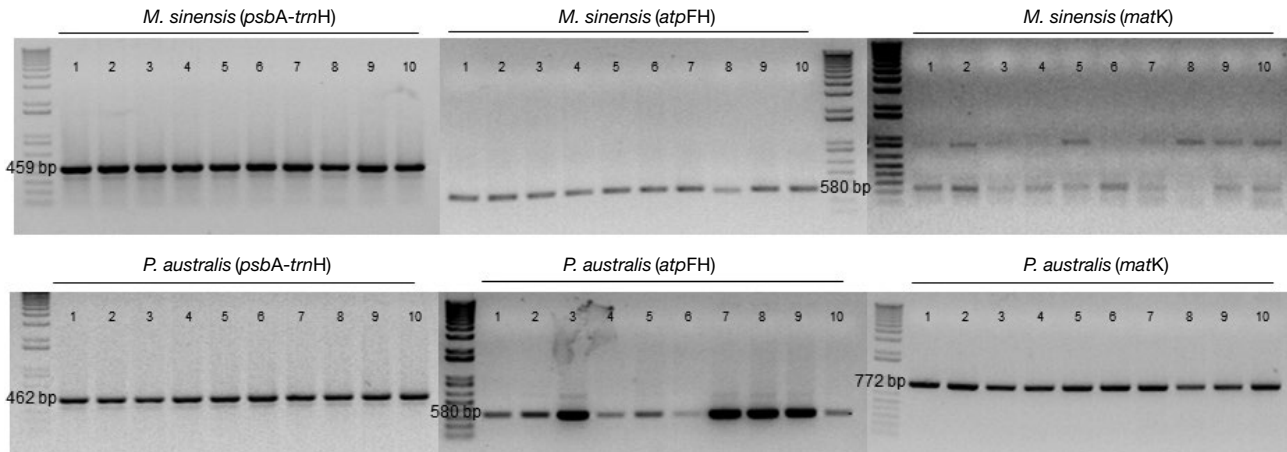


Fig. 3. PCR amplification for *psbA-trnH*, *atpH*, and *matK* in *Miscanthus sinensis* and *Phragmites australis*.

1개의 interspace region (*psbA-trnH*)에 대한 PCR 증폭 결과, 역새 *psbA-trnH*는 459 bp, 역새 *atpFH*는 580 bp 크기의 DNA fragment가 증폭되었으며, 갈대의 경우 *psbA-trnH*, *atpFH*, *matK*에서 각각 462 bp, 580 bp, 772 bp로 DNA fragment가 증폭되었다(Fig. 3). 그러나 역새 *matK*의 경우에는 250 bp와 900 bp의 목표했던 사이즈와 다른 밴드가 불규칙하게 나타났다.

PCR 결과에 대한 cloning 결과 역시 역새 *psbA-trnH*, *atpFH*, 갈대 *psbA-trnH*, *atpFH*, *matK*에서는 정상적인 cloning과 염기서열 분석이 진행되었으나 역새 *matK*의 경우에는 cloning 결과를 얻지 못하였다. 이 결과는 Fig. 3에서 보여지는 바와 같이 역새의 *matK* 유전자의 증폭이 specific 하지 못했기 때문으로 사료된다. 역새의 *matK*의 유전자에 새로 제작된 프라이머로 PCR을 다시 수행하여도 같은 결과가 확인되었다. 이런 결과는 NCBI에 등재되어 있는 *P. australis*의 (Accession no. KJ825856) 염기서열이 *matK*에서 변이가 발생한 것으로 사료된다. 그로 인하여 본 연구에서 역새의 *matK* 유전자의 SNP 분석 결과는 제외하였다.

염기서열 분석 결과를 NCBI database와 분석한 결과 역새 *psbA-trnH*, *atpFH*는 GQ248342, GQ248002와 각각 일치하였으며, 갈대의 경우는 *psbA-trnH*, *atpFH*, *matK*의 염기서열과 HQ596785, HQ594798, EU732698와 일치하였다.

## 2. Phylogenetic tree를 이용한 환경변이 분석

*atpFH*의 분석 결과 역새보다 갈대가 좀 더 지역에 따른 유전적 변이가 높게 확인되었다. Fig. 4에서 보는 것과 같이 역새의 *atpFH* 유전자의 경우는 8번 지역(홍성)을 제외하고는 모든 지역에서 서로 일치하는 것으로 확인되었다. 그러

나, 갈대의 경우는 총 7개의 지역(1: 서천; 2: 거제; 3: 울진; 4: 영덕; 6: 동해; 7: 고성; 8: 태안)에서 유전자 변이가 일어나고 있는 것으로 확인되었다(Fig. 5).

*psbA-trnH* interspace region의 경우 역새는 8번 지역(홍성)에서 유전적 변이가 일어나는 것으로 확인되었다(Fig. 4). 다른 지역에서 매우 드물게 발견된 SNP는 유의차가 없는 것으로 확인되었으나 8번 지역(홍성)의 SNP는 모든 샘플의 동일한 부분에서 SNP가 일어난 것으로 8번 지역(홍성)의 환경적 차이로 인해 발생한 SNP로 사료된다.

반면에 갈대의 경우의 *psbA-trnH* interspace region는 Fig. 5와 유사한 결과를 나타내고 있다. 5번(군산), 9번(순천), 10번(제주) 지역의 모든 샘플은 동일한 위치에서 SNP가 나타나고 있다. 이들의 결과는 통계적 유의차를 보이고 있으며, 이를 통하여 5번(군산), 9번(순천), 10번(제주)에서 동시에 변이가 진행되고 있다는 것을 알 수 있다.

역새와 갈대의 SNP를 활용한 근연관계 분석 결과 두 종은 매우 상이한 근연성을 보이고 있었다. 역새는 홍성군 집단이 다른 지역과 상이한 유전적 변이를 보인 반면(Fig. 4), 갈대는 모든 지역에서 동시다발적인 변이양상이 나타나고 있었다(Fig. 5). 역새와 갈대 모두 종자로 인한 번식보다 지하경을 활용한 무성 번식이 일반적인 식물의 특성상 집단내 유전적 변이가 낮을 것으로 예상되어 왔었다. 그러나 본 연구 결과에서 역새와 갈대는 우리나라 전역에서 대부분의 집단이 비슷한 유전자를 지니고 있으나 서로 다른 경향으로 유전자 변이가 나타났다는 것이 확인되었다.

역새의 경우 매우 동떨어져 있는 서식지를 지니고 있음에도 불구하고 대부분에서 변이가 관찰되지 않았다. 하지만 특히 홍성군 지방 집단의 특이성은 향후 추가 연구를 통하여 형태, 생리학적 변이를 추적해 본다면 우리나라 전체에

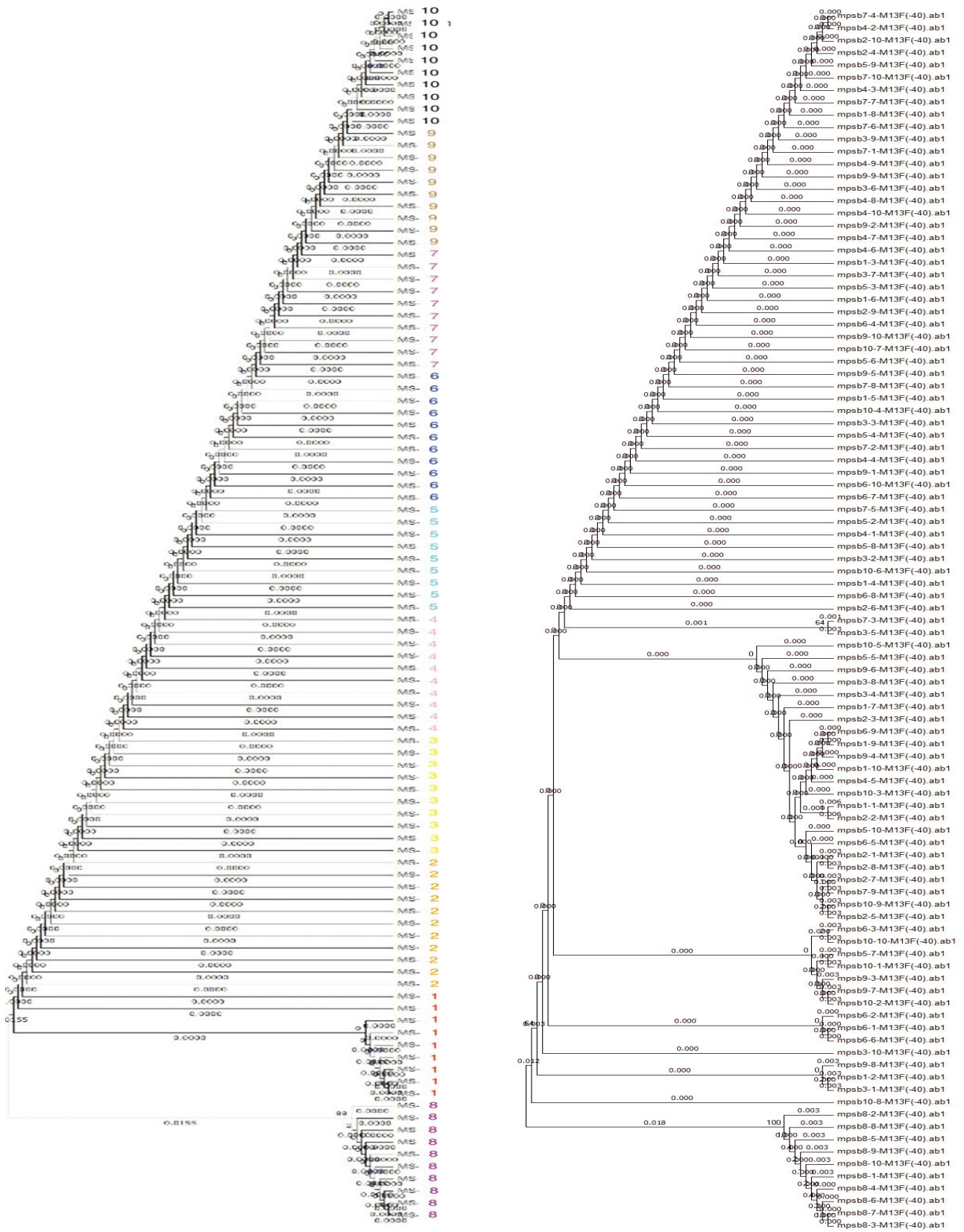


Fig. 4. Phylogenetic tree for *atpFH* (left panel) and *psbA-trnH* (left panel) from *Miscanthus sinensis*.

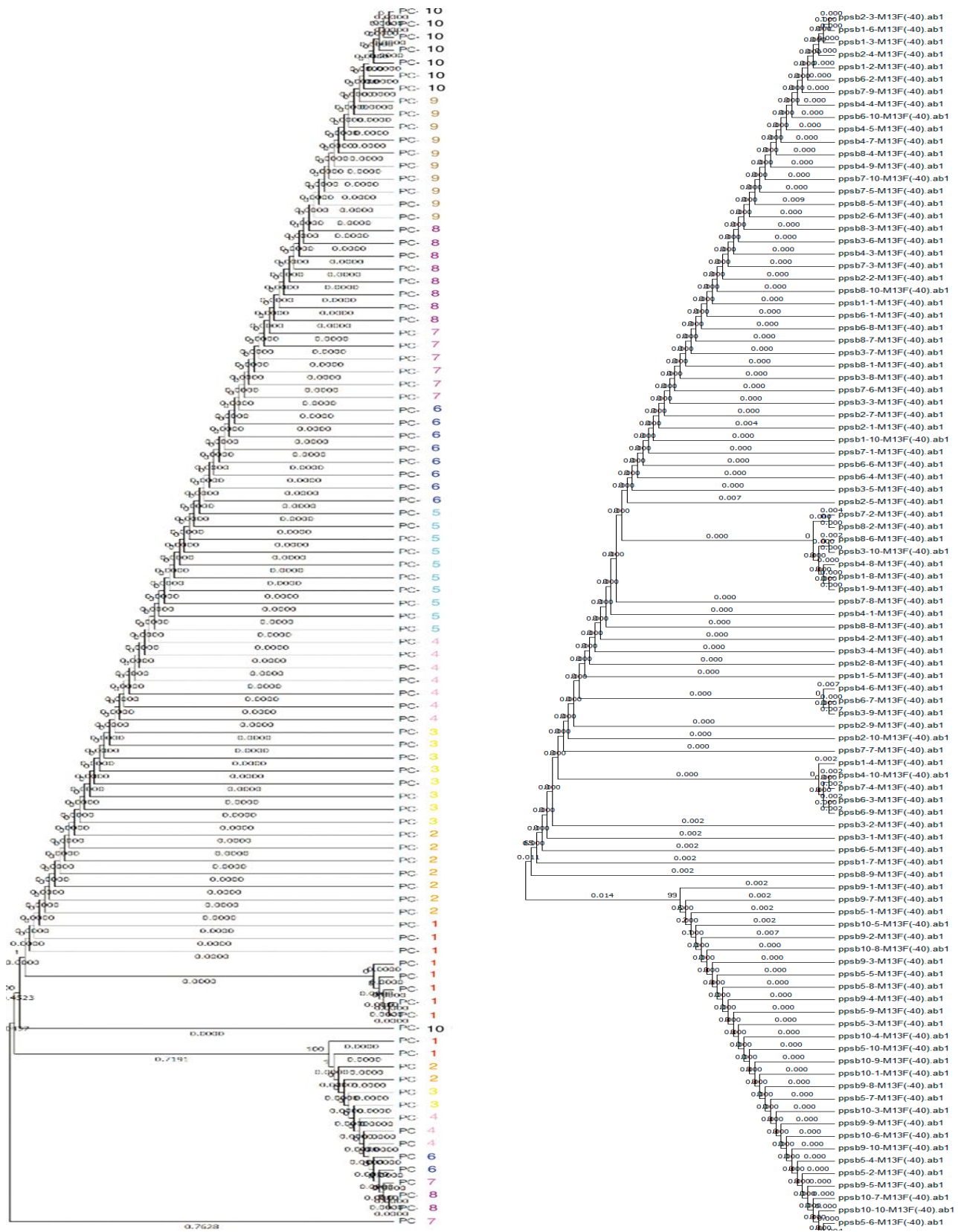


Fig. 5. Phylogenetic tree for *atpFH* (left panel) and *psbA-trnH* (left panel) from *Phragmites australis*.

서 역세의 유전자 이동에 단서를 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 본 결과에 비추어 볼 때 우리나라 전역에 발생하는 건조지에서 역세 시료를 사용할 때는 지역별로 수집한 종자를 활용하는 것이 합리적이거나 부득이하게 다른 지역의 식물 자원을 사용한다고 해도 유전적인 교란이 크게 발생하지 않을 것으로 보인다. 물론 향후 더 다양한 근연성에 대한 연구가 필요하다.

갈대의 경우 전 지역에서 유전적 변이가 다양하게 나타나고 있었다. 이러한 유전적 다양성은 갈대가 역세에 비하여 상대적으로 변이가 더욱 많이 나타나고 있음을 보여주고, 나아가 이는 지역별 종자 수집의 필요성을 보여준다. 특히 섬 등의 작고 고립된 개체군은 잠재적인 외래 유전자의 침입에 가장 취약하다는 점을 고려할 때 (Hufford and Mazer 2003; Rice and Emery 2003), 염류 피해지의 복원에 활용할 수 있는 자원인 갈대의 경우 종자를 지역별로 수집하기 위한 다양한 인프라를 구축하여 향후 복원 사업에 대비하여야 한다.

개체군의 유전자 흐름패턴 사이의 유전적 관계를 평가하기 위한 분자마커 기술의 사용은 최근 매우 큰 폭으로 증가하고 있으며, 이를 통해 기존 이론 검증에 유용하게 이용되고 있다. 특히 개체군 간의 형태학적 차이를 가늠기 어려운 상황에서 더욱 효과적으로 이용 가능하며, 이를 생태학적 연구에 결합하면, 보전과 복원 관련 연구를 한 단계 더 발전시킬 수 있을 것으로 판단된다.

## 적 요

본 연구는 국내 염습지 해안 복원의 주요 식물인 갈대와 내건성 대표 식물인 역세의 지역별 유전자형 분석을 통해 지역별 복원종자 적용에 대한 타당성을 검증하고자 하는 연구로서, SNP를 활용한 근연관계 분석 결과 역세는 홍성군 집단이 다른 지역과 상이한 유전적 변이를 보인 반면, 갈대는 모든 지역에서 동시다발적인 변이양상이 나타난다. 이를 통하여 역세의 경우 우리나라 전역에 발생하는 건조지에서 역세 시료를 사용할 때는 지역별로 수집한 종자를 활용하는 것이 합리적이거나 부득이하게 다른 지역의 식물 자원을 사용한다고 해도 유전적인 교란이 크게 발생하지 않을 것으로 보인다. 갈대의 경우 전 지역에서 유전적 변이가 다양하며 역세에 비하여 유전적 변이가 상대적으로 많이 나타나고 있기 때문에 염류 피해지의 복원에 활용할 수 있는 자원인 갈대의 경우 종자를 지역별로 수집하기 위한 다양한 인프라를 구축하여 향후 복원 사업에 대비하여야 한다.

## 사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ013159 012018)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## REFERENCES

- Bakker JP, R van Diggelen, RM Bekker and RH Marrs. 2012. Restoration of dry grasslands and heathlands. pp. 173-187. In *Restoration Ecology: The New Frontier* (van Andel J and J Aronson eds.). John Wiley & Sons. New Jersey.
- Becker U, G Colling, P Dostal, A Jakobsson and D Matthies. 2006. Local adaptation in the monocarpic perennial *Carlina vulgaris* at different spatial scales across Europe. *Oecologia* 150:506-518.
- Bower AD, JBS Clair and V Erickson. 2014. Generalized provisional seed zones for native plants. *Ecol. Appl.* 24:913-919.
- De Kort H, J Mergeay, K Vander Mijnsbrugge, G Decocq, S Maccherini, HH Kehlet Bruun, O Honnay and K Vandepitte. 2014. An evaluation of seed zone delineation using phenotypic and population genomic data on black alder *Alnus glutinosa*. *J. Appl. Ecol.* 51:1218-1227.
- Dobson AP, AD Bradshaw and AJM Baker. 1997. Hopes for the future: restoration ecology and conservation biology. *Science* 277:515-522.
- Fenster CB and MR Dudash. 1994. Genetic considerations for plant population restoration and conservation. pp. 34-62. In *Restoration of endangered species: conceptual issues, planning and implementation* (Bowles ML, CJ Whelan eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Hobbs RJ and DA Norton. 1996. Towards a conceptual framework for restoration ecology. *Restor. Ecol.* 4:93-110.
- Hong JK, CJ Yang, SH Oh and YM Lee. 2014a. Molecular phylogenetic study of section *Sabina* (Genus *Juniperus*) in Korea based on chloroplast DNA *matK* and *psbA-trnH* sequences data. *Korean J. Pl. Taxon.* 44:51-58.
- Hong JK, CJ Yang, YM Lee and JH Kim. 2014b. Molecular phylogenetic study of *Pinus* in Korea based on chloroplast *psbA-trnH* and *atpF-H* sequences data. *Korean J. Pl. Taxon.* 44:111-118.
- Hamilton NRS. 2001. Is local provenance important in habitat creation? A reply. *J. Appl. Ecol.* 38:1374-1376.
- Hufford KM and SJ Mazer. 2003. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends Ecol. Evol.* 18:147-155.
- Jorgensen MH, A Elameen, S Klemsdal and S Fjellheim. 2014.

- Use of molecular markers for defining site specific seed material for restoration in Norway. pp. 57–74. In *Guidelines for Native Seed Production and Grassland Restoration* (Kiehl A, A Kirmer, N Shaw and S Tischew eds.). Cambridge Scholars Publishing.
- Joshi J, B Schmid, MC Caldeira, PG Dimitrakopoulos, J Good, R Harris, A Hector, K Huss-Danell, A Jumpponen, A Minns, CPH Mulder, JS Pereira, A Prinz, M Scherer-Lorenzen, ASD Siamantziouras, AC Terry, AY Troumbis and JH Lawton. 2001. Local adaptation enhances performance of common plant species. *Ecol. Lett.* 4:536–544.
- Jones TA. 2003. The restoration gene pool concept: beyond the native versus non-native debate. *Restor. Ecol.* 7:42–50.
- Kiehl K, A Kirmer, S Tischew and N Shaw. 2014. *Guidelines for Native Seed Production and Grassland Restoration*. pp. 2–11. (Kiehl K, A Kirmer and N Shaw eds.). Cambridge Scholars Publishing.
- Kim NC, HY Kim and MY Choi. 2015. The study on the utilization of soil seed bank for the restoration of original vegetation. *J. Korea Soc. Environ. Restor. Technol.* 18:201–214.
- Kim JY, JC Moon, HY Kim, S Shin, K Song, KH Kim and BM Lee. 2017. Identification of downy mildew resistance gene candidates by positional cloning. *Appl. Plant Sci.* 5:P1600132.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16:111–120.
- Leimu R and M Fischer. 2008. A meta-analysis of local adaptation in plants. *PLoS One* 3:e4010.
- Lesica P and FW Allendorf. 1999. Ecological genetics and the restoration of plant communities: mix or match? *Restor. Ecol.* 7:42–50.
- Malaval S, B Lauga, CR Roger and G Largier. 2010. Combined definition of seed transfer guidelines for ecological restoration in the French Pyrenees. *Appl. Veg. Sci.* 13:113–124.
- McKay JK, CE Christian, S Harrison and KJ Rice. 2005. “How local is local?”—A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restor. Ecol.* 13:432–440.
- MEA. 2005. *Ecosystems and human well-being: Synthesis*. Millennium Ecosystem Assessment. Washington, DC.
- Miller SA, A Bartow, M Gisler, K Ward, AS Young and TN Kaye. 2011. Can an ecoregion serve as a seed transfer zone? Evidence from a common garden study with five native species. *Restor. Ecol.* 19:268–276.
- Montalvo AM and NC Ellstrand. 2000. Transplantation of the subshrub *Lotus scoparius*: testing the home-site advantage hypothesis. *Conserv. Biol.* 14:1034–1045.
- Montalvo AM and NC Ellstrand. 2001. Nonlocal transplantation and outbreeding depression in the subshrub *Lotus scoparius* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 88:258–269.
- Park BJ, SC Kim, WT Kim, YH Yoon, YH Cho, HK Kang, HK Oh, KJ Shin, YJ Eo, TS Yoon, KE Jang and MY Kwak. 2012. Density and species composition of soil seed bank in rural stream topsoil. *J. Environ. Sci.* 21:1419–1424.
- Raven PH. 2002. Science, sustainability, and the human prospect. *Science* 297:954–958.
- Reisch C. 2007. Genetic structure of *Saxifraga tridactylites* (Saxifragaceae) from natural and man-made habitats. *Conserv. Genet.* 8:893–902.
- Rice KJ and NC Emery. 2003. Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Front. Ecol. Environ.* 9:469–478.
- Schmitt J and SE Gamble. 1990. The effect of distance from the parental site on offspring performance and inbreeding depression in *Impatiens capensis*: a test of the local adaptation hypothesis. *Evolution* 44:2022–2030.
- Schoen DJ and AHD Brown. 2001. The conservation of wild plant species in seed banks attention to both taxonomic coverage and population biology will improve the role of seed banks as conservation tools. *Bioscience* 51:960–966.
- St Clair JB, FF Kilkenny, RC Johnson, NL Shaw and G Weaver. 2013. Genetic variation in adaptive traits and seed transfer zones for *Pseudoroegneria spicata* (bluebunch wheatgrass) in the northwestern United States. *Evol. Appl.* 6:933–948.
- Vander Mijnsbrugge K, A Bischoff and B Smith. 2010. A question of origin: where and how to collect seed for ecological restoration. *Basic Appl. Ecol.* 11:300–311.
- Vitousek PM, HA Mooney, J Lubchenco and JM Melillo. 1997. Human domination of earth’s ecosystems. *Science* 277:494–499.

Received: 26 October 2018

Revised: 28 October 2018

Revision accepted: 29 October 2018