

설악산 대청봉 눈잣나무(*Pinus pumila* (Pall.) Regel) 집단의 유전다양성과 공간적 유전구조

송정호, 임효인*, 홍경낙, 장경환, 홍용표

국립산림과학원 산림유전자원부 산림유전자원과

Genetic Diversity and Spatial Genetic Structure of Dwarf Stone Pine in Daecheongbong Area, Mt. Seorak

Jeong-Ho Song, Hyo-In Lim*, Kyung-Nak Hong, Kyung-Hwan Jang and Yong-Pyo Hong

Division of Forest Genetic Resources, Department of Forest Genetic Resources,
Korea Forest Research Institute, Suwon 441-847, Korea

Abstract - *Pinus pumila*, which occurs in the northeast Asia, is found limitedly in Daecheongbong area of Mt. Seorak in the South Korea. This population was chosen to study spatial pattern, genetic diversity and spatial genetic structure. There were 48 polymorphic and 30 monomorphic I-SSR markers. A total of 65 individuals which distributed in the study site (40 m × 70 m) showed weakly aggregate distribution (Aggregate Index = 0.871). A total of 40 genets were observed from 65 individuals through I-SSR genotype comparison. Proportion of distinguishable genotype (G/N), genotype diversity (D) and genotype evenness (E) were 61.5%, 0.977 and 0.909, respectively. In spite of the small number and the limited distribution, Shannon's diversity index ($I = 0.567$) was relatively high as compared with those of other plant species. Spatial autocorrelation using Tanimoto's distance showed that the genetic patch was established within 12 m. Based on Mantel tests, there was relatively low correlation between genetic distance and geographic distance. Therefore, it seems the *P. pumila* population was formed by many parent trees in early stage. For *ex situ* genetic conservation of *P. pumila*, the sampling strategy is efficient at least above 12 m between individual trees.

Key words - *Pinus pumila*, I-SSR markers, Sampling strategy, Genetic patch

서 언

눈잣나무(*Pinus pumila* (Pall.) Regel)는 소나무속(*Pinus*)에 속하고 중국, 일본, 몽고, 사할린 등의 동북아시아에 분포하며, 한국에서는 장백산, 묘향산, 금강산, 설악산 등의 정상부 지역에 불연속적으로 나타난다(Kong, 2000, 2006; IUCN, 2011). 이중 설악산 눈잣나무 집단은 남한에 존재하는 유일한 집단으로서 바람이 심한 능선부와 산정 부근에 소규모 군락 또는 아집단의 형태로 불규칙하게 나타나는데(Kwon *et al.*, 2010), 중청봉과 대청봉 사이 능선의 양쪽에서 가장 대규모의 집단을 이룬다(Kong, 2000).

눈잣나무는 세계자연보존연맹(IUCN, International

Union for Conservation of Nature and Natural Resource)의 적색목록(Red List) 평가기준에 의하면 약관심종(LC, Least Concern)으로 구분되어 멸종의 위협정도가 높지 않은 것으로 보고되고 있다(IUCN, 2011). 그러나 국가단위에서 설악산 눈잣나무에 대해 IUCN에서 제시한 평가기준을 적용한 결과 일본 혼슈 중부지역과 함께 눈잣나무의 남방 분포한계지에 위치하여 유전자원 측면에서 중요하며, 고산지역에 제한적으로 분포하고 개체수도 적어서 최근 기후변화에 따른 자생지 환경악화로 인해 멸절 위험이 매우 높다(KNA, 2008).

눈잣나무는 낮은 고도에서는 원대가 곧추서는 덩불형태(globose shape)로 자라지만, 높은 고도에서는 강한 바람과 효율적인 광합성을 하기 위해 지표면에 누운 형태(creeping shape)로 자라는 특징이 있다(Gebauer *et al.*, 2010). 설

*교신저자(E-mail) : llstorm@empal.com

약산 눈잣나무는 산 정상부에 분포하며 퍼지는 형태로 자라기 때문에 유성번식과 더불어 땅에 닿은 가지에서 뿌리를 내려 개체를 형성하는 무성번식을 겸하고 있다. 눈잣나무와 같이 유성번식과 무성번식을 겸하는 식물은 무성번식의 종류와 강도가 집단내 유전적 공간구조에 큰 영향을 미친다. 예를 들어 눈으로 식별되는 개체가 많더라도 유전적으로 구분되는 개체(genet)가 적을 경우 유전다양성이 부족하여 종자번식이 이루어지더라도 근친교배의 영향으로 집단이 절멸의 위험에 처할 가능성이 높다(Sydes and Peakall, 1998). 따라서 집단의 유전변이의 양과 패턴 등의 정보를 정확히 예측하기 위해서 집단의 유전적 연구와 병행하여 클론형성능(clonality)을 파악해야 한다(Chung and Epperson, 2000). 또한 개체수가 적고 보존가치가 높은 식물의 효율적인 보존을 위해서는 집단 내 형성되어 있는 공간적 유전구조를 파악하는 것이 중요하다(Waller *et al.*, 1987; Godt and Hamrick, 1998; Escudero *et al.*, 2003).

지금까지 러시아와 일본의 눈잣나무 집단을 대상으로 한 생태적, 피난처 연구뿐만 아니라 동위효소를 이용한 유전적 연구가 꾸준히 수행되어 왔다(Goncharenko *et al.*, 1993; Tani *et al.*, 1996; Anderson *et al.*, 2010; Gebauer *et al.*, 2010). 또한 일본에서는 DNA 연구를 통한 집단의 유전구조 분석을 통해 고산지역의 눈잣나무 집단이 가지에서 뿌리를 내리는 무성번식과 조류에 의한 종자산포를 통한 유성번식을 겸하여 형성되었다는 것을 입증하였으며, 이외에도 눈잣나무와 섬잣나무의 변종(*P. parviflora* var. *pentaphylla* (Mayr) Henry)간의 잡종 현상을 밝혀내는 등 눈잣나무에 대한 다양한 연구가 진행되어 왔다(Watano *et al.*, 1995, 1996, 2004; Tani *et al.*, 1998; Senjo *et al.*, 1999). 그러나 우리나라의 설악산 눈잣나무에 대한 연구는 생태적 및 생리적 특성이 조사되었으며(Kong 2000, 2006; Kim *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2010), 특히 눈잣나무의 유전적인 연구는 동위효소를 이용한 유전학적 연구(Hong *et al.*, 2004a) 이외에는 없는 상태이다. 동위효소 표지자는 그 동안 집단 분석에 널리 이용되어 왔으나 조사할 수 있는 유전자좌의 수가 제한되어 있으며, DNA표지자는 동위효소에 비해 더 많은 유전자에서의 변이를 추정할 수 있기 때문에 무성번식이나 자가수정에 의해 유전다양성이 낮은 집단이나 개체를 식별할 수 있는 가능성이 커지는 장점이 있다(Bachmann, 1994).

본 연구는 I-SSR 표지자를 이용하여 희귀수종 설악산

눈잣나무 집단의 유전다양성과 공간분포에 따른 유전적 구조를 분석하여 현지의 유전자원 보존을 하기 위한 유전적 군락의 크기 및 표본추출 전략을 제시하고자 수행되었다.

재료 및 방법

조사지역 개황 및 시료채취

본 연구의 눈잣나무 자생집단은 설악산 대청봉과 중청대 피소 사이의 능선지역(해발고 약 1,684 m, 남서사면)을 대상으로 하였다. 눈잣나무는 등산로를 따라 주변에 약 60,000 m² 면적으로 분포하고, 주변에는 분비나무(*Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim.), 눈측백(*Thuja koraiensis* Nakai), 설악눈주목(*Taxus caespitosa* Nakai), 사스래나무(*Betula ermanii* Cham.), 두메오리나무(*Alnus maximowiczii* Callier), 땃덩이나무(*Lonicera caerulea* var. *edulis* Turcz. ex Herder), 만병초(*Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don) 등이 서식하고 있다. 2011년 5월 가로 70 m(남서방향), 세로 40 m(북동방향)의 조사구를 설치하고, 조사구에 분포하는 눈잣나무 65개체의 크기를 측정하였으며 각 개체의 근원부의 위치정보를 기록하였다. 가지가 서로 분리되어 있으며 독립된 근원부를 가지는 특징을 근간으로 개체를 구분하였고, 각 개체의 유전적 동질성을 파악하기 위하여 모든 개체에서 침엽시료를 채취하였다.

DNA 분리 및 I-SSR PCR

채취된 눈잣나무의 침엽은 일정한 분량(30 mg/개체)을 파쇄기를 이용하여 분리한 후 DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 DNA를 분리하였다. DNA 양은 분광광도계(ND-1000, Nano-Drop Technologies, Wilmington, DE, USA)를 이용하여 정량하였다. I-SSR 증합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)은 주형 DNA 6 ng, 10 × buffer, 1 mM dNTP, 0.025% BSA 각각 1.5 ul, 2 mM MgCl₂ 1.2 ul, 1.5 uM I-SSR primer 3.75 ul, Promega Flexi GoTaq(Promega Corp., Madison, WI) 0.6 U 및 증류수가 포함된 총 15 ul의 반응액을 95°C에서 초기 열변성 5분, 95°C에서 열변성 1분, 50~54°C에서 annealing 1분, 72°C에서 2분간 증폭이 이루어지는 과정을 30회 반복한 후 72°C에서 10분간 최종 증폭시켰다(Applied Biosystems Gene Amp. PCR system 9700). I-SSR primer는 UBC primer Set #9(University of British Columbia,

Canada) 46개를 사용하였으며, 이 가운데 재현성이 우수하고 다형성을 보이는 9개의 primer를 사용하였다(Table 1). PCR 증폭산물은 1 × TBE buffer를 사용하여 2% agarose gel에서 2시간 30분 전기영동 하였고, ethidium bromide로 정색하여 UV trans-illuminator상에서 사진을 찍고 증폭산물의 존재 유무를 판정하였다. DNA size marker를 기준으로 특정 크기(bp)를 지나는 증폭산물의 유무에 따라 '1'과 '0'으로 코딩하여 자료행렬로 전환하였다.

자료분석

Clark and Evans(1954)의 군집지수(aggregation index, I)를 사용하여 조사지역내 눈잣나무의 분포형태를 파악하고, 밀도, 피도, 개체간 평균거리, 개체의 평균면적 등을 구하여 집단의 개황을 분석하였다.

I-SSR PCR에 의해 생성된 다형성 증폭산물을 바탕으로 POPGENE 1.32 program(Yeh *et al.*, 1997)을 이용하여 Shannon의 다양성지수(diversity index, H' ; Lewontin, 1972)를 구하여 눈잣나무 집단의 유전다양성을 추정하였다. 모든 개체의 유전자형을 비교하여 개체별 genet의 구성 여부를 판단하였고 조사된 모든 위치에서의 증폭산물 표현형이 일치하는 개체들은 해당 유전자에서의 유전자형이 동일한 것으로 간주하여 무성번식에 의한 번식체로 처리하였다.

클론형성능 분석을 위해 유전자형 비율(G/M), 유전자형 다양성(D)과 유전자형 균등도(E) 등 세 가지 통계량을 계산하였다. 유전자형 비율은 관찰된 genet의 수(G)를 총 개체 수(M)로 나눈 비율로 계산하였다(Ellstrand and Roose, 1987). 유전자형 다양성(Genotype diversity)은 제한된 표본크기를 고려하여 변형된 Simpson의 다양성지수(Pielou, 1969)를 이용하였고 유전자형 균등도(Genotype evenness)는 Fager(1972)의 방법을 이용하였다.

유전적 공간구조를 구명하기 위해 Tanimoto distance를 이용하여 눈잣나무 집단의 공간적 자기상관 분석을 실시하였으며, 자료분석은 SGS v.1.0d 프로그램(Degen *et al.*, 2001b)을 사용하였다. Distogram에서의 거리등급(distance class)은 4 m 간격으로 10개 거리등급으로 나뉘고, 각 거리등급에서 3,000회의 permutation분석에 의해 95% 신뢰구간을 산출하여 자기상관성의 유의성 여부를 검정하였다. 또한 무성번식이 유전적 공간구조에 미치는 영향을 알아보기 위해 genet 수준에서의 공간구조도 동일한 방법으로 조사하였다. 유전적 거리와 지리적 거리의 상관관계를 알아보기 위해 genet 수준에서 Mantel 검정을 실시하였으며, 자료분석은 Isolation by Distance Web Service (IBDWS) v.3.21 프로그램(Jensen *et al.*, 2005)을 사용하였고 10,000회의 permutation분석에 의해 유의성 여부

Table 1. Sequences of 9 primers successfully used in the I-SSR analysis and number of amplified bands per primer and their polymorphism

Primer	Sequence (5'-3')	TA ^a (°C)	TB ^b	PB ^c	PPB ^d (%)
UBC #811	(GA) ₈ C	52	7	3	42.9
UBC #812	(GA) ₈ A	50	7	4	57.1
UBC #820	(GT) ₈ C	52	9	4	44.4
UBC #840	(GA) ₈ YT*	52	14	10	71.4
UBC #841	(GA) ₈ YC*	54	6	2	33.3
UBC #842	(GA) ₈ YG*	54	7	5	71.4
UBC #847	(CA) ₈ RC*	54	10	8	80.0
UBC #850	(GT) ₈ YC*	54	6	2	33.3
UBC #851	(GT) ₈ YG*	54	12	10	83.3
Species level	-	-	78	48	61.5

*Y = (C, T); R = (A, G).

^aAnnealing temperature.

^bTotal bands.

^cPolymorphic bands.

^dPercentage of polymorphic bands.

를 검정하였다. 유전적거리는 Nei(1978)의 방법을 이용하였으며, Phylip v.3.69 프로그램(Felsenstein, 2009)을 사용하여 표(matrix)를 작성하였다. 단, 눈잣나무는 지표면에 누워서 자라는 특성 때문에 모수를 추정하는 것이 곤란하여, 동일 유전자형의 번식체가 2개 이상인 경우 그 중간점을 genet의 위치로 정하였다.

결 과

눈잣나무 집단의 공간분포

조사구 2,800 m²(40 m × 70 m)내에 총 65개체가 분포하였고 밀도는 0.02개/m²이었다(Fig. 1). 눈잣나무는 장-

단정 0.8 m × 0.7 m의 가장 작은 개체부터 8.4 m × 4.0 m의 가장 큰 개체까지 다양한 크기로 분포하고 있었다. 눈잣나무가 차지하는 총 면적은 422.8 m²으로 피도는 15.1%였고, 평균 수관폭은 장 3.1 m(±1.6), 단 1.8 m(±0.89), 평균면적은 6.31 m²(±6.05), 개체 중심간 평균 거리는 2.31 m이었다. Clark and Evans(1954)의 군집지수(*R*)는 개체들의 공간적 분포가 임의 분포일 경우는 1이고, 0에 가까울수록 집중분포를 나타내며, 1보다 클 경우는 균일한 분포를 의미한다(Krebs, 1999). 채집한 눈잣나무의 위치자료를 바탕으로 군집지수(*R*)를 계산한 결과, 군집지수는 0.871(*P* < 0.05)로 눈잣나무 개체들이 공간적으로 약하게 집중분포하고 있음을 알 수 있었다.

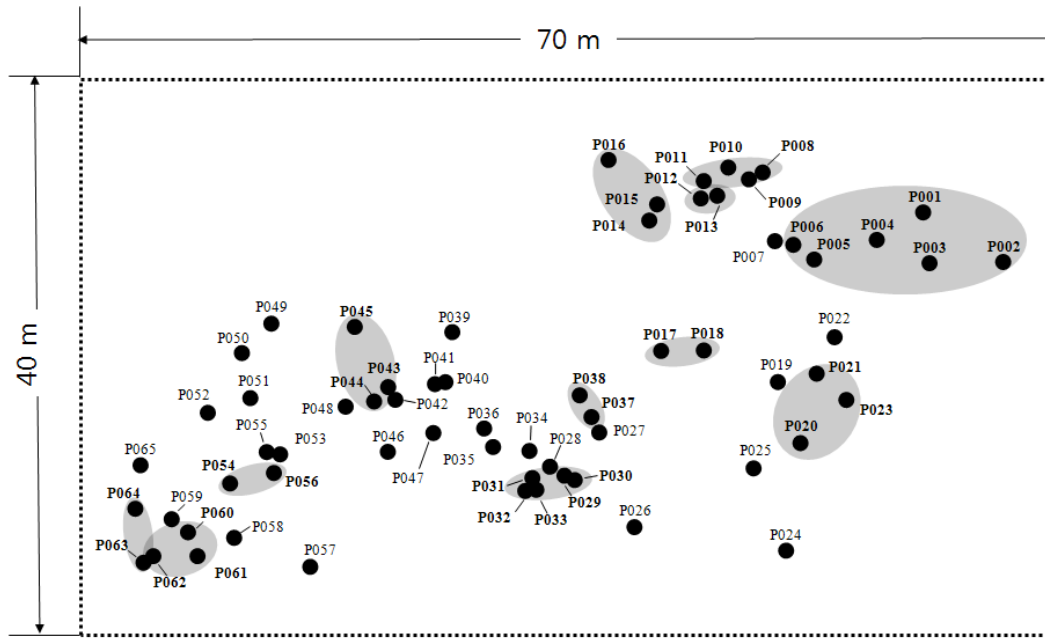


Fig. 1. Distribution of *P. pumila* in the study site. The spatial pattern of these individuals is not random (Aggregation index = 0.871, significant at 5% level). Individuals in blocks have the same genotypes.

Table 2. The genetic diversity of *P. pumila* population

<i>N</i> ^a	<i>I</i> ^b	<i>G</i> ^c	Genotypic diversity		
			(<i>G/N</i>) ^d	<i>D</i> ^e	<i>E</i> ^f
65	0.567	40 (12)	61.5	0.977	0.909

^aNumber of individuals.

^bShannon's Information index.

^cNumber of genets (with 2 of more ramets).

^dProportion of distinguishable genotypes.

^eGenotype diversity.

^fGenotype evenness.

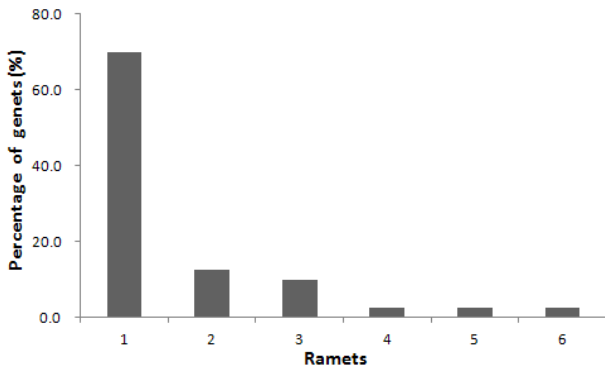


Fig. 2. Distribution of the number of ramets for genet within population.

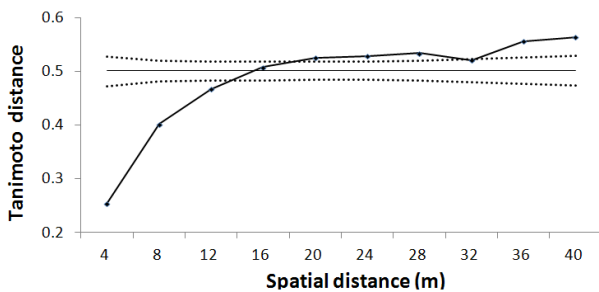
눈잣나무 집단의 유전구조

9개 I-SSR primer에서 생산된 증폭산물 중에서 식별이 뚜렷한 총 78개를 분석 대상으로 하였다. 이 중 다형성 증폭산물은 48개, 단형성 증폭산물은 30개로서 다형성 증폭산물의 비율은 61.5%였다(Table 1).

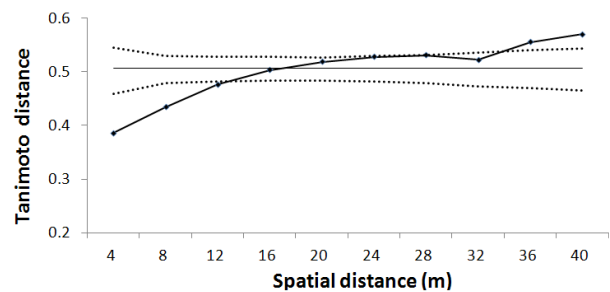
48개의 다형성 증폭산물을 이용하여 모든 개체의 유전자형(multilocus genotype)을 비교한 결과 총 65개체 중 유전자형이 서로 다른 40개의 genet이 식별되어 유전자형 비율(G/M)이 61.5%로 나타났으며, Shannon의 다양성지수는 0.567로 나타났다(Table 2). 동일한 유전자형을 가진 개체들은 모두 지리적으로 근접해 있었고(Figure 1), 특별한 물리적 장애물이 존재하지 않았으므로 동일한 클론으로 판단할 수 있었다. 40개 genet의 분포양상을 살펴보면 단일 유전자형을 지닌 genet이 28개(70%)로 가장 높게 나타났으며, 나머지 12개 genet은 2~6개의 ramet으로 구성되었다(Fig. 2). 유전자형 다양성(D)은 집단 내에서 두 개

체를 추출할 때 두 개체가 서로 다른 유전자형을 가지는 확률로서 모든 개체가 동일한 유전자형을 가질 경우 0의 값을, 모든 개체가 서로 다른 유전자형을 가질 경우 1의 값을 가진다. 또한 유전자형 균등도(H)는 유전자형의 균일한 정도를 나타내는 지수로서 모든 개체가 동일한 유전자형을 가질 경우 0의 값을, 모든 개체가 서로 다른 유전자형을 가질 경우 1의 값을 가진다. 조사지역 내의 눈잣나무 집단의 유전자형 다양성은 0.977, 유전자형 균등도는 0.909로 각각 나타났다.

Tanimoto distance를 이용한 공간적 자기상관성 분석을 실시한 결과 조사지역 내의 눈잣나무 집단은 약 12 m 이내에서 분포하는 개체들 간에 유전적 유사성이 높아 자기상관성이 인정 되었고, 12 m에서 16 m 범위 내에서 임의 분포를 나타냈다. 그 이후 16 m에서 28 m 사이에 있는 개체 간에는 유전적 이질성을 보였으나, 28 m에서 32 m 사이에서 다시 임의분포를 나타내었고, 32 m 이상 떨어진 개체들 간에는 다시 유전적 이질성을 나타내었다(Fig. 3A). 공간적 유전구조는 클론 형성의 정도에 따라 영향을 받으므로 (Reusch *et al.*, 1999) genet 수준에서의 눈잣나무 집단의 공간구조를 파악한 결과 앞의 결과와 동일하게 12 m 이내에서 자기상관성이 인정 되었고, 32 m 이상 떨어진 개체들 간에는 유전적 이질성이 나타났다. 그러나 4 m 내에 존재하는 개체 간 유전적 거리가 0.25에서 0.39로 높아졌고, 16 m에서 28 m 사이에서 보였던 유전적 이질성이 완화되어, 16 m에서 32 m까지 임의분포를 보여 차이를 보였다(Figure 3B). Mantel 검정을 실시하여 유전적 거리와 지리적 거리의 상관분석을 실시한 결과 눈잣나무 개체들이 낮은 정의상관($r = 0.193$, $P < 0.01$)을 나타내었다.



(A) Individual level



(B) Genet level

Fig. 3. Correlogram for *P. pumila* using Tanimoto genetic distance with 48 I-SSR markers. The solid line is the observed value, the horizontal line is means the random structure (expected value as 0.5), and the two dotted lines indicate the upper and the lower confidence limit at 95% level from 3,000 permutations, respectively.

고 찰

I-SSR 표지자로 분석한 설악산 눈잣나무 집단의 Shannon의 다양성지수(H')는 0.567로 지금까지 목본식물에서 보고된 소나무 0.450(Hong *et al.*, 2004b), 비자나무 0.453(Hong *et al.*, 2000), 눈향나무 0.463(Choi *et al.*, 2004b), 들쪽나무 0.470(Han *et al.*, 2005), 복분자딸기 0.576(Kang *et al.*, 2003) 수종들에 비해 비교적 높은 값을 나타냈다. Tani *et al.*(1998)과 Nakonechnaya *et al.*(2010)에 의하면 러시아와 일본에 분포하는 눈잣나무 집단의 경우도 근연 침엽수종에 비해 높은 유전다양성을 나타내는 것으로 보고되고 있어 본 연구결과와 동일한 경향을 보였다. 눈잣나무는 신생대 4기 플레ისტ오세에 한반도로 유입되었고 후빙기에 북쪽으로 밀려나면서 산정에 정착한 것으로 보고된다(Kong, 2000, 2006). 따라서 과거 빙하기에 널리 분포하던 집단의 유전적 다양성이 현재까지 유지되어 높은 유전적 다양성이 나타나는 것으로 추정되었다. 그러나 국내 설악산 눈잣나무 집단에 대한 동위효소 분석에서는 유전변이량이 낮은 값을 보였다는 연구결과와는 차이를 나타냈다(Hong *et al.*, 2004a). 이러한 이유는 DNA 표지자를 이용한 식물의 유전다양성에 대한 정보가 일반적으로 동위효소에 비해 비슷하거나 많으며(Ayres and Ryan, 1997; Esselman *et al.*, 1999; Wallace, 2002), 실제로 Tani *et al.*(1998)은 일본의 눈잣나무 집단의 유전다양성 분석에서 동위효소에서 같은 유전자형을 가진 일부 개체들이 DNA 표지자에서 서로 다른 유전자형으로 세분화된다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서 DNA 표지자와 동위효소를 이용한 분석에서 유전다양성 차이는 동위효소와 I-SSR을 이용한 DNA 표지자간의 해상력의 차이에서 비롯된 것으로 판단된다.

일반적으로 식물종이 가지는 유전다양성은 지리적 분포특성과 교배양식 및 번식방법의 영향을 크게 받는다(Hamrick *et al.*, 1992). 설악산 눈잣나무 집단이 고산지역이라는 제한된 분포와 비교적 적은 개체수에도 불구하고 유전다양성이 높은 결과는 종자 또는 무성번식만을 하는 수종보다 종자 및 무성번식을 겸하는 수종들이 유전다양성이 높게 나타나는 특징과 일치하는 것으로 나타났다(Hamrick *et al.*, 1992). 또한 Fig. 1에서 보는 바와 같이 설악산 눈잣나무 집단의 대부분의 개체들이 각기 다른 genet으로 이루어진 것에서 알 수 있듯이 무성번식보다는 종자에 의한 유성생식에 의해 개체가 전파되고 집단이 형

성되는 비율이 높기 때문에 유전다양성이 높게 나타났으며, 이러한 결과는 제한적으로 분포하는 시로미의 경우에서도 보고된 바 있다(Choi *et al.*, 2004a).

종 수준에서 유전자형 비율(G/M)은 61.5%로 나타났으며(Table 2), 일본에 분포하는 눈잣나무에서 보고된 유전자형 비율 76.5%에 비해 낮은 값을 나타냈다(Tani *et al.*, 1998). 그러나 종자 및 무성번식을 겸하는 빗나무류와 우묵사스레피에서 보고된 유전자형 비율(35.0~61.3%)과는 비슷하거나 높은 수준을 나타냈다(Chung and Epperson, 2000; Vaughan *et al.*, 2007). 한편 이러한 원인은 동일 수종이라도 각 집단의 입지조건에 따라 치수 갱신, 종자생산 능력 등 번식 특성에 따른 것으로(Torimaru and Tomaru, 2005; Vaughan *et al.*, 2007), 설악산 눈잣나무 집단이 일본의 집단에 비해 종자에 의한 유성번식 비율이 낮기 때문이다.

공간적 자기상관성 분석 결과, 약 12 m 내에 분포하는 개체들 간에는 자기상관성을 보였다(Fig. 3). 무성번식과 종자번식을 겸하는 식물의 유전적 공간구조 분석에 대한 연구결과를 살펴보면, 관목성 식물인 우묵사스레피(Chung and Epperson, 2000)와 복분자딸기(Kang *et al.*, 2003)의 경우에는 각각 24 m와 20 m 이내에서 공간적 유전구조가 형성되었다. 수고가 3 m에 이르는 우묵사스레피나 복분자딸기에 비해 눈잣나무는 수고가 낮아 유전적 구조의 크기가 상대적으로 제한된 것으로 보이며, 이는 수고가 낮은 눈향나무와 시로미의 경우에 각각 10 m와 8 m 이내로 비교적 작게 유전구조가 형성된 것에서도 알 수 있다(Choi *et al.*, 2004a, 2004b). 또한 눈잣나무가 공간적으로 집중분포를 보이며 작은 유전적 공간구조를 나타내는 이유는 종자산포의 매개체인 잣까마귀(*Nucifraga caryocatactes*)와 설치류의 먹이저장 습성 때문으로 추정된다(Tani *et al.*, 1998; Degen *et al.*, 2001a; Kong, 2006; Jeong *et al.*, 2007). 잣까마귀류는 눈잣나무 구과를 땅에 묻을 때 하나의 나무에서 수집한 구과를 한 군데에 모아놓는 습성이 있으며(Tomback, 1980), 일본에서는 잣까마귀의 근연종인 *N. columbiana*에의 먹이습성에 의해 비슷한 유전자형을 가진 개체들이 모여서 자란다고 보고된 바 있다(Tani *et al.*, 1998; Kajimoto, 2002).

일부 차이는 있었지만 전체적으로 개체 및 genet 수준에서의 거리등급에 따른 자기상관성 경향은 유사한 것으로 나타났다. 다만 개체 수준에서 16-28 m 거리구간에서의 유전적 이질성이 genet 수준에서는 임의분포를 보였는데,

이러한 원인은 중복된 동일 유전자형 번식체가 제외되어 genet 수준에서의 전체수가 감소함에 따라 신뢰구간의 폭이 넓어졌기 때문으로 해석되었다(Fig. 3). Mantel 검정에 의한 눈잣나무 개체들의 지리적거리와 유전적거리 간에 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 그러나 낮은 상관성을 보인 것은 설악산 눈잣나무 집단이 초기에 여러 개의 모수로부터 형성되었기 때문으로 추정되었다.

설악산 눈잣나무 집단은 유전다양성이 비교적 높은 수준으로 분석되었으나 집단의 크기가 작기 때문에 앞으로도 유전적 부동의 영향을 받을 가능성이 높다. 또한 눈잣나무 유구과는 잣까마귀와 설치류의 먹이자원으로 종자 성숙단계 이전인 7~8월에 모두 소실되기 때문에 전략적인 구과 수집을 통한 유전자원 보존대책이 필요하다. 특히, 산림유전자원보전 측면에서 설악산 눈잣나무 집단의 현지의 유전자 보전을 위해서는 개체 선발시 최소 12 m 이상의 거리를 두어야 하며, 최대 32 m 이상의 거리에서 추출할 경우 유전적으로 이질적인 개체를 선발할 가능성이 높아 효율적인 것으로 판단되었다.

적 요

눈잣나무는 동북아시아가 주 분포지로 남한에서는 설악산 고산지역에만 제한적으로 분포한다. 본 연구는 설악산 눈잣나무 집단의 분포형태와 특성, 유전다양성 및 공간분포에 따른 유전구조를 파악하였다. 선발된 9개 I-SSR primer에서 총 78개 I-SSR 증폭산물을 얻었으며, 30개의 단형성 증폭산물을 제외한 48개의 증폭산물을 분석에 이용하였다. 조사구(40 m × 70 m)에는 눈잣나무 65개체가 자생하고 있었으며, 채집한 눈잣나무의 위치자료를 바탕으로 군집지수를 계산한 결과 약하게 집중분포(Aggregation Index = 0.871)하고 있음을 확인하였다. 모든 개체에 대하여 I-SSR 유전자형을 비교한 결과, 65개체 중 유전자형이 서로 다른 40개의 genet이 식별되었다. 유전자형 비율(G/N)은 61.5%, 유전자형 다양성(D)은 0.977, 유전자형 균등도(E)는 0.909로 각각 나타났다. Shannon의 다양성지수($H' = 0.567$)는 적은 개체수와 제한적 분포에도 불구하고 다른 수종들에 비해 비교적 높은 유전다양성을 나타냈다. 공간적 자기상관 분석을 실시한 결과 조사지역 내의 눈잣나무 집단은 12 m 이내에서 유전적으로 유사한 군락구조를 갖고 있는 것으로 나타났다. Mantel 검정 결과 유전적 거리와 지리적 거리

간에 낮은 상관관계를 나타내 눈잣나무 집단이 초기에 여러 개의 모수에서 형성된 것으로 추정되었다. 본 연구결과 설악산 눈잣나무 집단의 현지의 유전자 보존을 위한 표본 추출 전략은 최소 12 m 이상의 거리를 두는 것이 효율적인 것으로 나타났다.

인용문헌

- Anderson, P.M., A.V. Lozhkin, T.B. Solomatkina and T.A. Brown. 2010. Paleoclimatic implications of glacial and postglacial refugia for *Pinus pumila* in western Beringia. *Quaternary Res.* 73(2):269-276.
- Ayres, D.R. and F.J. Ryan. 1997. The clonal and population structure of a rare endemic plant, *Wyethia reticulata* (Asteraceae): allozyme and RAPD analysis. *Mol. Ecol.* 6(8):761-772.
- Bachmann, K. 1994. Molecular markers in plant ecology. *New Phytol.* 126:403-418.
- Choi, H.S., K.N. Hong, J.M. Chung, B.Y. Kang and W.W. Kim. 2004a. Genetic diversity and spatial genetic structure of *Empetrum nigrum* var. *japonicum* in Mt. Halla, South Korea. *Jour. Korean For. Soc.* 93(3):175-180 (in Korean).
- Choi, H.S., K.N. Hong, J.M. Chung and W.W. Kim. 2004b. Spatial genetic structure and genetic diversity of a rare endemic *Juniperus chinensis* var. *sargentii* in Mt. Halla, Korea. *Korean J. Ecol.* 27(5):257-261 (in Korean).
- Chung, M.G. and E.K. Epperson. 2000. Clonal and spatial genetic structure in *Eurya emarginata* (Theaceae). *Heredity* 84(2):170-177.
- Clark, P.J. and F.C. Evans. 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35(4):445-453.
- Degen, B., H. Caron, E. Bandou, L. Maggia, M.H. Chevallier, A. Leveau and A. Kremer. 2001a. Fine-scale spatial genetic structure of eight tropical tree species as analysed by RAPDs. *Heredity* 87(4):497-507.
- Degen, B., R. Petit and A. Kremer. 2001b. SGS-Spatial Genetic Software: A computer program for analysis of spatial genetic and phenotypic structures of individuals and populations. *J. Hered.* 92(5):447-448.
- Ellstrand, N.C. and M.L. Roose. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Am. J. Bot.* 74(1):123-131.
- Escudero, A., J.M. Iriónida and M.E. Torres. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation.

- Biol. Conserv. 113(3):351-365.
- Esselman, E.J., L. Jianqiang, D.J. Crawford, J.L. Windus and A.D. Wolfe. 1999. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA and intersimple sequence repeat markers. Mol. Ecol. 8(3):443-453.
- Fager, E.W. 1972. Diversity: a sampling study. Am. Nat. 106 (949):293-310.
- Felsenstein, J. 2009. PHYLIP (Phylogeny Inference Package). University of Washington, Seattle. Version 3.69. <<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip>> (2012. 3. 7).
- Gebauer, R., D. Volařík, T. Funda, I. Fundová, A. Kohutka, V. Klapetek, M. Martinková, O.A. Anenkhonov and A. Razuvaev. 2010. *Pinus pumila* growth at different altitudes in the Svyatoi Nos Peninsula (Russia). J. For. Sci. 56(3):101-111.
- Godt, M.J.W. and J.L. Hamrick. 1998. Allozyme diversity in the endangered pitcher plant *Sarracenia rubra* ssp. *alabamensis* (Sarraceniaceae) and its close relative *S. rubra* ssp. *rubra*. Am. J. Bot. 85(6):802-810.
- Goncharenko, G.G., V.E. Padutov and A.E. Silin. 1993. Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. I. Population structure, genetic variation, and differentiation in *Pinus pumila* (Pall.) Regel from Chukotsk and Sakhalin. Silvae Genet. 42(4-5):237-246.
- Hamrick, J.L. M.J.W. Godt and S.L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forest. 6(1):95-124.
- Han, S.D., Y.P. Hong, H.Y. Kwon, B.H. Yang and C.S. Kim. 2005. Genetic variation of two isolated relict populations of *Vaccinium uliginosum* L. in Korea. Jour. Korean For. Soc. 94(4):209-213 (in Korean).
- Hong, Y.P., K.J. Cho, Y.Y. Kim, E.M. Shin and S.K. Pyo. 2000. Diversity of I-SSR variants in the populations of *Torreya nucifera*. Jour. Korean For. Soc. 89(2):167-172 (in Korean).
- Hong, Y.P., H.Y. Kwon, B.H. Yang, S.W. Lee, C.S. Kim and S.D. Han. 2004a. Genetic status of an isolated relict population of Dwarf Stone Pine in Mt. Seorak. Jour. Korean For. Soc. 93(5):393-400 (in Korean).
- Hong, Y.P., H.Y. Kwon, K.S. Kim, K.N. Hong and Y.Y. Kim. 2004b. Discordance between geographical distribution and genetic relationship among populations of Japanese red pine in Korea revealed by analysis of I-SSR markers. Silvae Genet. 53(3):89-92.
- IUCN. 2011. IUCN Red list of threatened species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org> (2012. 3. 7.).
- Jensen, J.L., A.J. Bohonak and S.T. Kelley. 2005. Isolation by distance, web service. BMC Genet. 6: 13. Version 3.21. <<http://ibdws.sdsu.edu/>> (2012. 3. 7).
- Jeong, J.H., Y.J. Park and Z.S. Kim. 2007. Genetic diversity and spatial structure of *Symplocarpus renifolius* on Mt. Cheonma, Korea. Korean J. Plant Res. 20(6):530-539.
- Kajimoto, T. 2002. Factors affecting seedling recruitment and survivorship of the Japanese subalpine stone pine, *Pinus pumila*, after seed dispersal by nutcrackers. Ecol. Res. 17(4):481-491.
- Kang, B.Y., K.N. Hong, J.M. Chung and Y.P. Hong. 2003. Spatial genetic structure of Korean black raspberry (*Rubus coreanus*) at Mt. Chiak using I-SSR markers. Jour. Korean For. Soc. 92(6):558-566 (in Korean).
- Kim, C.S., S.H. Han, W.Y. Lee, J.C. Lee, Y.K. Park and C.Y. Oh. 2005. Biochemical adaptation of *Pinus pumila* on low temperature in Mt. Seorak, Korea. Korean J. Plant Res. 8(3):217-224.
- Kong, W.S. 2000. Geoecology on the subalpine vegetation and landscape of Mt. Sorak. Journal of the Korean Geographical Society 35(2):177-187 (in Korean).
- Kong, W.S. 2006. Biogeography of native Korean Pinaceae. Journal of the Korean Geographical Society 41(1):73-93 (in Korean).
- Korea National Arboretum (KNA). 2008. Rare plants data book in Korea. GEOBOOK, Seoul, Korea. p. 332 (in Korean).
- Krebs, C.J. 1999. Ecological Methodology (2nd ed.). Addison Welsey Educational Publishers, Inc. CA, USA. pp. 192-195.
- Kwon, H.J., J.H. Gwon, K.S. Han, M.Y. Kim and H.K. Song. 2010. Subalpine forest vegetation of Daecheongbong Area, Mt. Seoraksan. Kor. J. Env. Eco. 24(2):194-201 (in Korean).
- Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. Evol. biol. 6:381-398.
- Nakonechnaya, O.V., A.B. Kholina, O.G. Koren, V. Janecek, A. Kohutka, R. Gebauer and N. Zhuravlev. 2010. Characterization of gene pools of three *Pinus pumila* (Pall.) Regel populations at the range margins. Russ. J. Genet. 46(12): 1417-1425.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89(3):583-590.
- Pielou, E.C. 1969. An introduction to mathematical ecology. Wiley-Interscience, NY, USA. pp. 1-286.
- Reusch, T.B.H., W. Hukriede, W.T. Stam and J.L. Olsen. 1999. Differentiating between clonal growth and limited gene flow

- using spatial autocorrelation of microsatellites. *Heredity* 83(2):120-126.
- Senjo, M., K. Kimura, Y. Watano, K. Ueda and T. Shimizu. 1999. Extensive mitochondrial introgression from *Pinus pumila* to *P. parviflora* var. *pentaphylla* (Pinaceae). *J. Plant Res.* 112(1):97-106.
- Sydes, M.A. and R. Peakall. 1998. Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Mol. Ecol.* 7(1):87-93.
- Tani, N., N. Tomaru, M. Araki and K. Ohba. 1996. Genetic diversity and differentiation in populations of Japanese stone pine (*Pinus pumila*) in Japan. *Can. J. Forest Res.* 26(8): 1454-1462.
- Tani, N., N. Tomaru, Y. Tsumura, M. Araki and K. Ohba. 1998. Genetic structure within a Japanese stone pine (*Pinus pumila* Regel) population on Mt. Aino-Dake in central Honshu, Japan. *J. Plant Res.* 111(1):7-15.
- Tomback, D.F. 1980. How nutcrackers find their seed stores. *Condor* 82:10-19.
- Torimaru, T. and N. Tomaru. 2005. Fine-scale clonal structure and diversity within patches of a clone-forming dioecious shrub, *Ilex leucoclada* (Aquifoliaceae). *Ann. Bot.* 95(2): 295-304.
- Vaughan, S.P., J.E. Cottrell, D.J. Moodley, T. Connolly and K. Russell. 2007. Clonal structure and recruitment in British wild cherry (*Prunus avium* L.). *Forest Ecol. Manag.* 242 (2-3):419-430.
- Wallace, L.E. 2002. Examining the effects of fragmentation on genetic variation in *Platanthera leucophaea* (Orchidaceae): Inferences from allozyme and random amplified polymorphic DNA markers. *Plant Spec. Biol.* 17(1):37-49.
- Waller, D.M., D.M. O'Malley and S.C. Gawler. 1987. Genetic variation in the extreme endemic *Pedicularis furbishiae* (Scrophulariaceae). *Conserv. Biol.* 1(4):335-340.
- Watano, Y., M. Imazu and T. Shimizu. 1995. Chloroplast DNA typing by PCR-SSCP in the *Pinus pumila*-*P. parviflora* var. *pentaphylla* Complex (Pinaceae). *J. Plant Res.* 108(4):493-499.
- Yeh, F.C., R.C. Yang, T.B.J. Boyle, Z.H. Ye and J.X. Mao. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta. Edmonton, Canada.

(Received 8 March 2012 ; Revised 16 April 2012 ; Accepted 26 June 2012)