creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

농학석사 학위논문

캄보디아 경제수종 Burma Padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.)와 Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre)의 풍매 가계 간 생장특성 및 유전변이

Genetic Variation in Growth Characteristics of Open-pollinated families of Burma Padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz) and Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) in Cambodia

2018 년 8 월

서울대학교 대학원

산림과학부 산림환경학전공

염 다 빈

캄보디아 경제수종 Burma Padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.)와 Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre)의 풍매 가계 간 생장특성 및 유전변이

지도 교수 강 규 석

이 논문을 농학석사 학위논문으로 제출함

2018 년 8 월

서울대학교 대학원

산림과학부 산림환경학전공

염 다 빈

염다빈의 농학석사 학위논문을 인준함

2018 년 8 월

위 원 장 _____ (인)

부위원장 _____ (인)

위 원 _____ (인)

초 록

우수한 종자와 묘목 생산은 캄보디아의 황폐화된 산림을 복구하는데 핵심적인 전제조건이다. 이에 따라, 차대검정림 및 채종원을 설립하기 위한 수형목 선발이 캄보디아 핵심사업으로 시행되었다. 캄보디아의 생태지역으로부터 경제수종인 2 개 수종의 수형목을 각각 100 개체씩 선발하였다. 수형목들은 모수로서 선정되었고, 그 200 개체로부터 반형매 (풍매) 차대 검정림을 조성하기 위해 종자를 채집하고 발아시켰다. 수형목 및 수종 간 수고 및 근원경에서 큰 변이가 나타났다. 수형목의 평균 수령은 19.4 년이었다. 수고의 평균은 14.8, DBH 는 25.5 였다. 각 수종 별 풍매차대 검정림에서 측정된 묘고, 근원경 및 수관폭 조사 데이터를 토대로 통계분석을 시행하였다. *Pterocarpus macrocarpus* 100 개 가계의 평균 수고는 95.7 cm 였으며(127.1−73.6 cm), 평균 근원경은 20.6 mm (16.9−26.5)로 나타났다. *Dalbergia cochinchinensis* 의 평균 수고는 133.5 cm 였으며 가장 높은 평균을 갖는 가계는 전체 평균의 140%의 값을 보였다. 근원경 또한 평균 18.6 mm 였는데, 가장 큰 생장을 보인 가계가 가장 낮은 생장을 보인 가계에 비해 221%의 값을 보였다. 분산분석 결과 두 수종 모두 가계 간 그리고 블럭 간 차이가 큰 것으로 나타났다. two−way ANOVA 분석 후 유전력 계산 결과, 개체 유전력은 0.16 이었고, 가계 유전력은 0.56 으로 나타나 유전적인 영향이 크게 작용한다고 판단할 수 있었다. 개체 유전력보다 가계 유전력이 높으므로 선발 시 개체선발보다는 가계선발이 이루어져야 할 것이다. 각 수종에서 수고와 근원경 모두 평균 이상의

값을 갖는 가계를 선발한 결과, *Pterocarpus macrocarpus* 는 100 가계 중 26, *Dalbergia cochinchinensis* 는 37 가계가 우수한 것으로 나타났다. 이를 유전간벌 시에 적용하여 선발 강도를 90%까지 높일 경우, 수고에서 *Pterocarpus macrocarpus* 는 24%, *Dalbergia cochinchinensis* 는 28.8%의 Genetic gain 을 얻을 수 있을 것으로 예측되었다. 계통발생 분석(Phylogenetic analysis) 결과, *Dalbergia cochinchinensis* 의 100 개 가계는 유전적 거리 차이에 의해 12 개의 그룹으로 나누어졌다.

주요어 : *Pterocarpus macrocarpus*, *Dalbergia cochinchinensis*, 풍매 가계, 유전변이, 차대검정, 개량효과

학 번 : 2016-27688

목 차

제 1 장 서 론 1

제 1 절 연구배경 1

제 2 절 연구목적 4

제 2 장 연 구 사 5

제 1 절 Burma Padauk (Pterocarpus macrocarpus Kurz.)의 생태 및 연구 5

제 2 절 Tracwood (Dalbergia cochinchinensis Pierre)의 생태 및 연구 7

제 3 절 선발육종 및 차대검정 연구 9

제 3 장 재료 및 방법 12

제 1 절 수형목 및 차대검정림 개황 12

제 2 절 차대검정림 생장조사 18

제 3 절 통계분석 및 유전력 추정 18

제 4 절 개량효과 추정 21

제 5 절 DNA 바코딩 및 계통수(phylogenetic tree) 분석 21

제 4 장 결 과 26

제 1 절 *P. macrocarpus* 차대의 생장 특성 26

제 2 절 *D. cochinchinensis* 차대의 생장 특성 30

제 3 절 유전력 및 개량효과 추정 33

제 4 절 DNA 바코딩 결과 및 계통수 43

제 5 장 고 찰 45

제 6 장 결 론 49

인용문헌 50

Abstract 62

List of Table

Table 1. Summary table of place visited and plus tree selected..... 13

Table 2. Growth characteristics of 100 plus trees selected of *P. macrocarpus* (upper) and *D. cochinchinensis* (lower) 14

Table 3. Two-way analysis and expected mean square within a site 19

Table 4. Primer information for 3 tested chloroplast markers..... 23

Table 5. Growth characteristics of 100 open-pollinated progenies of *P. macrocarpus* 27

Table 6. Growth characteristics of 100 open-pollinated progenies of *D. cochinchinensis*..... 30

Table 7. ANOVA one-way results..... 33

Table 8. ANOVA two-way results for height growth of *P. macrocarpus* 34

Table 9. ANOVA two-way results for height growth of *D. cochinchinensis* 39

Table 10. Soil analysis result of 2 sites..... 47

List of Figure

Figure 1. Forest cover study 1973−2014 1

Figure 2. Burma padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Karz.) 5

Figure 3. Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre) (Ida, 2017) 7

Figure 4. location of provinces for 200 plus trees in Cambodia .. 12

Figure 5. Map of sites for progeny test in Cambodia 16

Figure 6. Mother tree layout in progeny test sites of two speicies, *P. macrocarpus* and *D. cochinchinensis* 17

Figure 7. Seed Orchard Layout 22

Figure 8. Family mean of the height of *P. macrocarpus* in Khun Ream, Cambodia 28

Figure 9. Family mean of the DRC of *P. macrocarpus* in Khun Ream, Cambodia 29

Figure 10. Family mean of the height of *D. cochinchinensis* in Khun Ream, Cambodia 31

Figure 11. Family mean of the DRC of *D. cochinchinensis* in Khun Ream, Cambodia 32

Figure 12. Scatterplot for selection of superior families in height and DRC growth in *P. macrocarpus* 35

Figure 13 . Selection differential of height growth by the selection of superior 26 families in *P. macrocarpus* 36

Figure 14. Genetic response for height and DRC growth at various selection intensity in a clonal seed orchard of *P. macrocarpus* 37

Figure 15. Scatterplot for selection of superior families in height and DRC growth in *D. cochinchinensis* 40

Figure 16. Selection differential of height growth by the selection of superior 37 families in *D.cochinchinensis* 41

Figure 17. Genetic response for height and DRC growth at various selection intensity in a clonal seed orchard of *D. cochinchinensis* 42

Figure 18. Intraspecific phylogenetic tree of 100 plus trees selected of *Dalbergia cochinchinensis* 44

제 1 장 서 론

제 1 절 연구배경

캄보디아는 1973 년까지 전 국토의 72.3%가 산림으로 이루어져 있었으나, 최근 몇 십년 간 무분별한 벌채와 화전 및 연료 채취 등 농지로의 전환이 일어나면서 2014 년 48%로 산림 면적이 크게 감소했다. 이제 황폐지 면적(48.4%)이 산림 면적(47.7%)보다 높아진 상황에 이르렀고, 캄보디아 내에서도 그 위험성을 인지하고 다양한 사업을 시행 중에 있다.

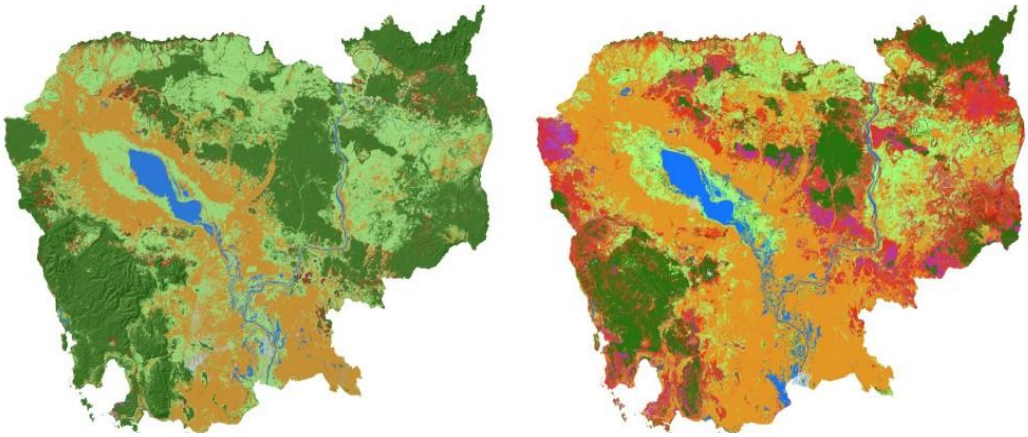


Figure 1. Forest cover study 1973-2014

캄보디아 왕립 정부(RGC:the Royal Government of Cambodia)에서 2010 년부터 진행 해 온 국가 산림 프로그램(NFP:National Forest Program)이 있다. 이 프로그램은 2029 년까지 지속가능한 산림 경영과 발전을 목표로 삼고 있으며, NGO 및 여러 연구 기관이 협업하고 있다. 그러나 근본적인 조림을 위한 종자

공급원이 마련되지 않았고, 안정적이고 장기적인 관점에서의 종자 및 묘목의 보급을 위해서는 육종프로그램이 필요하다. 2015 년부터 10 년간 AfoCo (the ASEAN-Korea Forest Cooperation)와의 협력을 통해 캄보디아 주요 산림 복원을 위한 유전 연구 프로젝트를 시작하였는데, 이런 캄보디아의 국가적 조림 개발 프로그램은 조림을 통해 국내 목재 수요를 공급하는 것 이외에도, 지역 주민들의 수입 증가, 유역 보호 및 침식 조절 등 다목적 조림에 목적을 두고 있다. 해당 조림지들이 다목적 조림을 위해 넓게 개발되고 장기적으로 안정적인 수요를 가지고 있는 종을 선정하는 것이 중요하며, 또한 종자 보급 및 지속적인 조림이 가능하도록 채종원 및 차대검정림을 조성하는 것이 필수적이다. 하지만 캄보디아 내에서의 육종 연구가 미흡하고 채종원이 조성된 사례가 없어 주요 경제수종으로 목재 수요가 높은 수종에 대해서 우선적으로 육종 프로그램을 실시하도록 하였다(NIFoS & AFoCo, 2016)

최근 캄보디아뿐만 아니라 열대 천연림의 생산성이 크게 감소하는 반면, 급격한 경제 성장 및 인구 증가로 인하여 목재에 대한 수요는 크게 증가하고 있어, 목재 수요에 대한 시장공급이 크게 부족해질 것으로 보인다. 이러한 상황에서 열대림 조성 사업은 목재, 바이오매스 생산이라는 경제적 기능과 함께 기후변화 저감, 생물다양성 보존 등 공익적 기능의 발휘에 있어 중요한 대안으로 대두되고 있다. 인공조림은 시장에서 원하는 상업수종을 동령림으로 조성하여 관리함으로써 단위면적당 생산성을 높일 수 있다.

캄보디아에 처음으로 조성되는 종자 관리원이기 때문에 캄보디아뿐만 아니라 라오스부터 베트남까지 포함하는 'Greater Mekong Region (GMR)' 전역에서 광범위한 지리적 분포를 가지는

자연 개체군이 있는 수종을 선발하였다. 수형목은 캄보디아 내에 위치한 여러 산지에서 Cambodia Tree Seed Project 에서 만들어진 Farmer Tree Planting Manual(DANIDA, 2003) 기준에 맞추어 수종 별 100 본을 선발하였다.

육종 방향을 설정함에 있어서 수형목 선발(Plus tree selection)은 모든 육종 기법의 기본이 된다. 수형목은 야생 천연림 또는 인공림으로부터 그 생장과 형질이 우수한 개체 혹은 목표로 하는 형질을 가지고 있는 개체를 말한다. 그러나 선발된 수형목의 특성이 유전적으로 발현된 것인지 생육환경에 의한 것인지 확인하는 작업이 필요하다. 따라서 차대검정이란 선발된 수형목에 대하여 다음 세대를 생산한 모수의 유전적 형질을 판단하는 것이다. 다음 세대에 유전되는 비율과 환경과의 관계를 조사하여 유전매개 변수를 추정하고, 현재의 수형목으로부터 더 우수한 차세대 수형목을 선발하는 것을 주요 목적으로 한다(Kang, 2001). 캄보디아 내에서 선발된 수형목은 접수를 채취하여 접목묘 채종원(CSO;Clonal Seed Orchard)을 구성하고, 동시에 수형목과 풍매(wind pollination)된 종자를 가지고 풍매차대 검정(open-pollinated progeny test)을 하였다. 차대검정림은 서로 떨어진 지역 간의 차이를 보고자 두 지역(site)으로 나누어 조성하였다. 장기적인 목적을 달성하기 위해서는 채종원과 차대검정림에서의 다양한 생장 특성 및 유전 변이를 지속적으로 모니터링해 나아가야 한다.

제 2 절 연구 목적

본 연구의 목적은 캄보디아 최초로 조성된 *Pterocarpus macrocarpus* Kurz (Burma padauk) 및 *Dalbergia cochinchinensis* Pierre (Tracwood) 두 수종의 차대검정림에서 가계 별 생장 특성을 조사하여 다음과 같은 3 가지 목적을 설정하였다. 1) 가계 간 생장량 변이(variation)를 분석하고, 차대검정림 내 각 수종 별 블록(블럭) 간 차이가 존재하는지 파악하며, 2) 광의의 유전력(broad-sense heritability)을 추정하여 유전간벌(genetic thinning) 시 얻을 수 있는 개량효과(Genetic gain)를 예측하고자 하였다. 또한, 3) 각 수종 별 100 개 모수의 계통수 분석(phylogenetic tree analysis)을 통해 종내 유전 다양성을 보존하기 위한 방안을 마련하고자 하였다. 최종적으로는 본 차대검정림의 생장 데이터 분석을 통해 조기 검정에 활용할 수 있도록 하는 데에 목적을 두고 있다. 장기적인 모니터링을 토대로 특정 수종의 육종 프로그램 전략을 수립하고자 한다.

제 2 장 연 구 사

제 1 절 Burma padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.)의 생태 및 연구

Figure 2. Burma padauk (*Pterocarpus macrocarpus* Karz.)

Pterocarpus 는 열대 지역에 분포하는 약 20 종으로 이루어진 속이며, 그 중 5 종이 인도양 지역에 분포한다(Soerianegara & Lemmens, 1984). *Pterocarpus macrocarpus* Kurz.는 중대형의 낙엽수종으로 콩과(Fabaceae)에 속해있다. 주로 태국과 미얀마, 베트남까지도 분포하며, 태국에서는 pradu 로, 미얀마에서는 sena 또는 praduak 로 불린다(Soerianegara & Lemmen, 1994). 일반적으로 다른 수종들과 함께 온대 혼효림 또는 dipterocarp 숲에서 100~600m 고도에서 자란다(Santisuk & Niyomdham, 1983). 성숙목은 15~30

m 까지 자라며 꽃은 총상화서 또는 원추화서로 양성화이고, 꽃잎은 5 장이 노란색을 띠고 열매는 납작한 폐과다(Soerianegara & Lemmen, 1984).

Liengsiri(1997)가 화아 및 결실 단계에 대해서는 연구한 바 있지만, 수분(fertilization)이나 열매 개량 또는 손실 시기에 대해서는 논한 바 없다. 또한 11 개의 자연 집단에서 동위효소분석으로 유전변이를 분석했으며, 자가 불화합성이 크다는 결론을 내렸지만 그 발생 시기에 대해서는 밝히지 못했다(Liengsiri et al. 1995,. 1998). Yupa & John(2002)에서는 Burma padauk 의 수분성공율이 높지만 자가수분율이 높아 조기 결실에 따른 손실 또한 존재한다는 것을 알아냈다. 또한 여러 열대활엽수종에서 자가불화합성이 수정 후 씨방에서 이루어지기 때문에(OSI;ovarian self-incompatibility) 수분 후에도 지속적인 관리가 필요할 것으로 보인다. 또한 수정 후 자가수분으로 인해 발생하는 자식약세(inbreeding depression)도 생식에 영향을 미치는데, OSI 와 자식약세를 구별하기 어렵기 때문에 수정이 이루어지기 전 화분오염, 자가수분을 방지할 수 있는 대책을 충분히 마련해야 한다.

기존에 가계 및 지역 간 생장 특성이나 집단 유전에 대한 연구는 없으며, 분류군으로서의 종 특성에 대한 조사만 이루어졌다(Francis, 1989; FAO, 1989; Dy Phon, P., 2000; Joker, 2000; CTSP, 2003; LTSP, 2009; FOB, 2013). 이외에 2 차대사산물 에 대한 연구 및 동위효소(isozyme)을 이용한 유전 분석과 발현 및 추출물에 대한 연구가 진행되어 왔다. 최근 이 수종에 대한 연구는 flavonoids 화합물과 관련된 부분이 활발히 이루어지고 있다. 화학추출물에서 여러

효소와 섭식기피제 (antifeedants)와 같은 물질들, 흰개미저항성 및 항산화효능 등 다양한 기능이 밝혀진 약용수종이다(Doungyotha & Owens, 2002; Liengsiri et al., 1995; Liengsiri, 1999).

제 2 절 Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre)의 생태 및 연구

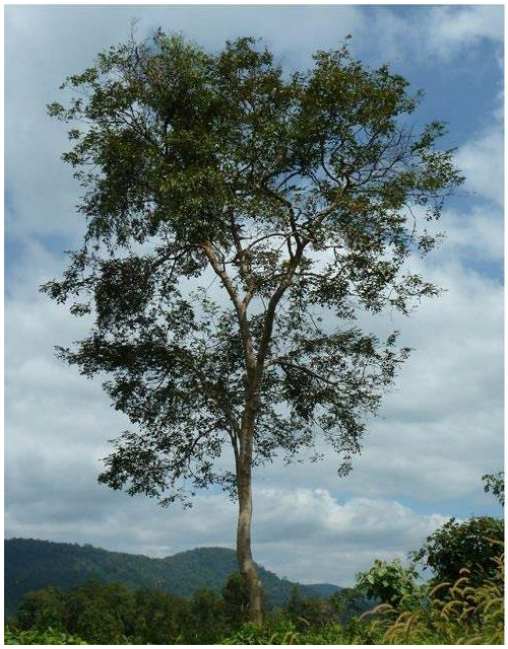


Figure 3. Tracwood (*D. cochinchinensis* Pierre) (Ida, 2017)

Dalbergia (Fabaceae)는 남아메리카, 아프리카, 아시아 및 마다가스카의 열대 및 아열대 지역에 분포하는 약 250 종이 포함된 속이다 (Cardoso et al., 2013; Saha et al 2013; Vatanparast et al., 2013). *D. cochinchinensis* 는 캄보디아, 라오스, 태국 그리고 베트남에서 주로 발견되며, Thailand Rosewood, Siamese Rosewood, or Tracwood 로 알려져 있다. 장기수이며 성숙목은 수고 25~30

m 까지 생장하는 상록수종이다. 그늘에서 생장하지 못하며 점토질의 배수가 용이한 토양 조건에서 잘 자란다. 열대 저지대 산림에서 고도 400 m 까지 분포하는 것으로 알려져 있다. 또한 수분은 일반적으로 곤충에 의해 이루어지며 질소 고정 능력과 병해충에 내성이 있는 수종이다(Harriet & Pablo, 2008; Vosso, 2002).

Dalbergia 속에서는 집단 유전학과 관련된 연구가 태국, 라오스 및 베트남에서 진행되었다. 각 나라 또는 지역에서 자생하는 개체군을 조사하여 유전 다양성을 평가하는 연구가 활발하게 진행되었다. 핵 유전자좌(nuclear loci)에서의 다양성을 다른 열대 수종과 비교하고, 여러가지 마커(marker)를 적용시켜 보면서 개체군 간의 차이를 분석하는 연구가 이루어졌지만, 인공적인 조림을 통해 이루어진 집단 내에서의 유전자 분석이나 집단 유전학적인 연구는 이루어지지 않았다. 기존에 연구(Soonhuae, 1994; Yooyuen et al., 2012; Hien & Phong, 2012)에서 밝혀진 점은 Dalbergia 속 내에서 태국의 개체군에 비해 캄보디아 개체군이 확연한 종 간 변이를 보인다는 점이었다. 따라서 캄보디아와 태국 이외에 다른 메콩 강 유역의 국가들에 분포하는 집단을 연구할 필요가 있는데, 기존에 Madagascar 섬 내에서 Dalbergia 속 집단들의 유전적 변이를 분석하여 지리적 거리와 유전적 거리의 상관관계를 밝히고 DNA 바코딩(Barcoding)을 통해 종간 식별 및 변이 분석을 진행한 연구가 있다(Sonja, 2016).

Dalbergia 의 추출물은 진통제, 항염증제 및 해열제로 알려져 있다(Rasamiravaka et al., 2013; Saha et al., 2015; Hassan et al., 2015). 또한 Dalbergia 속은 브라질 자단 (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth.), 인도 자단 (*Dalbergia latifolia* Roxb.)과 같이

높은 품질과 가치가 높은 목재로 평가되어 가구, 음악 악기를 만드는 데에 많이 사용된다(Barrett et al. 2010; Hassold, 2016).

D. cochinchinensis 는 멸종 위기에 처한 야생 동식물의 국제 거래에 관한 협약(CITES)에 따라 IUCN Red List 취약(VU)등급을 받고, 국제 무역 규정에 의해 보호받고 있는 종이다(Asian Regional Workshop, 1998). 그러나 여전히 불법 벌채로 위험에 처해있다(Barrett et al. 2013). 최근 주요 수출목이면서 용재수종으로 사용되는 Dalbergia 에 대한 관심이 높아지고 수요가 증가하면서, 지속적인 공급, 생산 및 조림이 가능하도록 장기적인 육종 전략이 필요할 것으로 보인다.

제 3 절 선발육종 및 차대검정 연구

임목에 대한 육종연구가 17 세기 전후로 시작되었고, 19 세기 이후 선발육종 방법을 이용한 개량 종자에 대한 관심이 높아졌다. 임목 개량을 위해서는 교배를 통한 차대 검정을 거쳐 우수한 유전자를 여러 세대에 걸쳐 선발해 나아가야 하며, 품종개량을 위해 유전 다양성을 확보함과 동시에 육종 집단을 지속적이고 장기적으로 유지 및 관리할 필요하다.

선발육종을 위해서는 관리가 이루어지지 않은 임분이나 천연 갱신된 임지에서 획득하고자 하는 형질을 가진 개체인 수형목을 우선 선발한다. 그 선발된 개체목들을 가지고 풍매 혹은 인공교배 차대검정림을 만들고,

동시에 획득형질을 개량하고 관리할 수 있도록 우량종자 생산을 목적으로 하는 채종원을 조성한다.

국내 국립품종관리센터에서는 1971 년 이후 수형목을 선발하는 기준을 개편하여 지정해 두고 있다. 「산림자원의 조성 및 관리에 관한 법률」에 따르면, 천연림에서 활엽수 수형목을 선발할 때에는 최근 15 년 이상의 생장이 직경 20% 이상, 수고 5%, 직경 20% 이상 커야 하고, 다만 형질이 뛰어날 때는 생장이 평균 이상만 되면 선발할 수 있다. 그 외에도 수간이 통직하고 지하고가 높으며, 병충해에 걸리지 않아야 하고 종자가 많이 결실되는 개체를 수형목으로 선발하도록 하고 있다.

차대검정림이 조성된 이후 풍매차대검정에서는 가계검정(family evaluation) 결과에 따라 수형목의 우수 및 불량을 판단하여 다음 세대를 위한 가계를 선발할 수 있다. 가계 선발은 육종에서 개체별 로자식 또는 2 개체간 교배를 통해 차대를 얻고, 다시 그 차대를 각각 근친교배하여 가계를 양성한 후 그 중 우량한 가계를 선발하는 방법이다. 표현형의 평균치를 토대로 가계 전체를 선발하는 방법으로, 유전력이 낮은 형질에 대해서는 효과적이지만 근친교배의 위험이 크다. 임목 육종에서 단일 선발 형태로는 잘 이루어지지 않고 개체 선발 등 다른 방법과 병행하여 이루어진다(Libby, 1969).

동남아시아의 여러 국가에서 2010 년 전후로 다양한 육종 관련 국제 협업이 이루어져 오고 있다(Jalonen & Choo, 2009). 태국과 인도네시아에서는 세계적인 주요 용재 수종인 Teak(*Tectona grandis* L.f.)에 집중적인 연구가 진행되었다. 하지만 캄보디아 내에서는 선발 육종이 본격적으로 이루어진 사례가 없으며, 2015 년 8 월부터

DANIDA 가 보고한 캄보디아 주요 수종 3 종을 선정하여 수형목 선발 및 차대 검정림을 조성하기 시작하였다. 초기 생장률을 꾸준히 파악하여 성숙 생장과의 연관성에 따라 조기에 검정할 수 있다면, 장기간이 소요되는 임목 육종에서 보다 효과적인 결과를 얻을 수 있다. 따라서 차대의 생장을 모니터링하면서 지속적인 데이터 분석을 하는 것이 중요하다.

제 3 장 재료 및 방법

제 1 절 수형목 및 차대검정림 개황

1. 수형목 선발 현황

두 수종 모두 캄보디아 전역에 많은 산지가 분포하고 있으며, 주로 많은 개체가 자생하는 군집(산지) 8 곳을 선정하였다. 그리고 각 산지에서 수형목 선발 기준에 따라 수종 별 100 본씩 선발하였다. 산지별로 선발 가능한 개체수에 차이가 있었으므로, *P. macrocarpus* 는 8 곳 모두에서 고르게 선발하였으나 *D. cochinchinensis* 는 Kratie, Mondulkiri 산지를 제외한 6 곳에서 선발하였다. 자세한 산지 및 선발 개체 수는 Table1 과 같고, 각 산지의 캄보디아 내 위치는 Figure 4 와 같다.

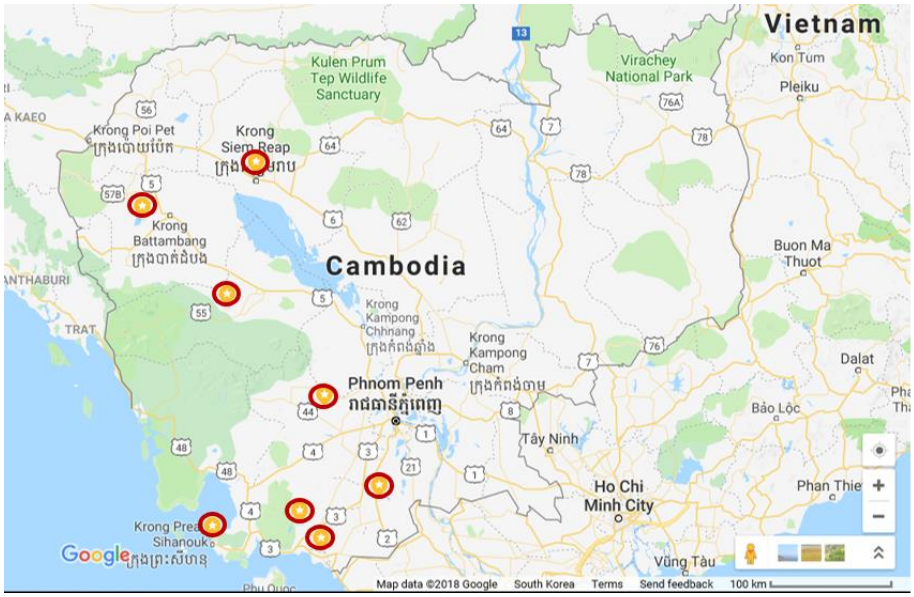


Figure 4. location of provinces for 200 plus trees in Cambodia

Table 1. Summary table of place visited and plus tree selected

Province	Place visited	species	
		D. cochinchinensis	*P. macrocarpus*
Preah Vihear	Decho Bosh Sbov (Phnom Troab)	6	3
Siem Reap	Seed Source Area in Khun Ream	32	15
	Toul Tnong in Srae Noy		8
Kratie	Svay Chreas in Snuol		9
Mondulkiri	Keo Seima Protection Forest		16
Koh Kong	Srae Ambil area		21
	Srae Ambil pagoda	10	
	Military camp (Koh Kong towm)	10	
Kep	Phnom Kvay		11
Kampong Speu	Leap Kuy	30	5
Pursat	Sbov Reak pagoda (Phnom Kravanh)	1	
	Preah Ponlea pagoda in Phnom Kravanh	5	12
	Toek Chench/ Phnom Kravan	6	
Total		100	100

수형목 선발 시 수형목의 수령, 수고 및 흉고직경을 함께 측정하였다. *P. macrocarpus*는 100 개체 평균 수령이 22.7 년으로 *D. cochinchinensis* 는 19.8 년으로 3 년 정도 많았다. 평균 수고와 흉고직경에서는 *P. macrocarpus* 가 각각 15.7 m, 39.1 cm 로 조사되었고, *D. cochinchinensis* 는 그보다 약간 낮은 수치인 14.9 m 와 25.4 cm 였다(Table 2).

Table 2. Growth characteristics of 100 plus trees selected of *P. macrocarpus* (upper) and *D. cochinchinensis* (lower)

P. macrocarpus	Age	Height (m)	DBH (m)	Crown (m)
Mean	22.7	15.7	39.1	8.5
SD	5.1	3.3	9.5	2.7
CV(%)	22.3	21.2	24.2	32.2
Max.	40.0	22.2	67.0	19.0
Min.	14.0	7.4	19.2	4.0

D. cochinchinensis	Age	Height (m)	DBH (m)	Crown (m)
Mean	19.8	14.9	25.4	6.2
SD	8.8	3.7	6.3	1.7
CV(%)	44.3	25.1	24.8	27.6
Max.	70.0	25.0	52.0	11.0
Min.	11.0	8.0	14.5	4.0

2. 조사지 개황

차대검정림의 가계 간 생장 차이를 정확히 측정하기 위해 반복의 필요성을 염두에 두고 조성하였다. 식재하는 곳에 따라 같은 개체라도 생육에 차이를 보일 수 있고, 캄보디아의 환경 조건 또한 비교적 민감하기 때문에 동일한 구성으로 각기 다른 두 지역에 풍매 차대 검정림(open-pollinated progeny test forest)을 구성하였다. 선발된 수형목 100 본으로부터 풍매 종자를 채취하여 Siem reap 근교 지역에 조성하였으며, 경사가 낮은 지대에 잔존목들을 제거한 뒤 묘목들이 식재하였다. 두 지역(site)의 이름 및 위치는 Figure 5 와 같다.

Figure 5. Map of sites for progeny test in Cambodia

Site1:Khun Ream commune, Banteay Srei district,

Site2:Chan Sor commune, Sout Nikom district

각 지역(site)마다 4 개의 블록(block)을 설정하고 블록 간 간격은 10m 로 설계되었다(Figure 6). 각 블록은 3ha 의 면적을 가지고 있으며 *P. macrocarpus* 및 *D. cochinchinensis* 두 수종마다 0.9ha 의 면적이 할당되었다. 블록 안에는 100 개의 플롯(plot)을 구성하도록 조성되었고(플롯 당 6m×15m), 각 플롯 안에는 모수(수형목) 번호 별로 10 본의 차대를 식재하였다. 따라서 한 블록마다 식재되는 전체 본 수는 식재 간격 3m×3m 로 1,000 본, 한 지역 전체에는 4,000 본이 되도록 조성되었다.

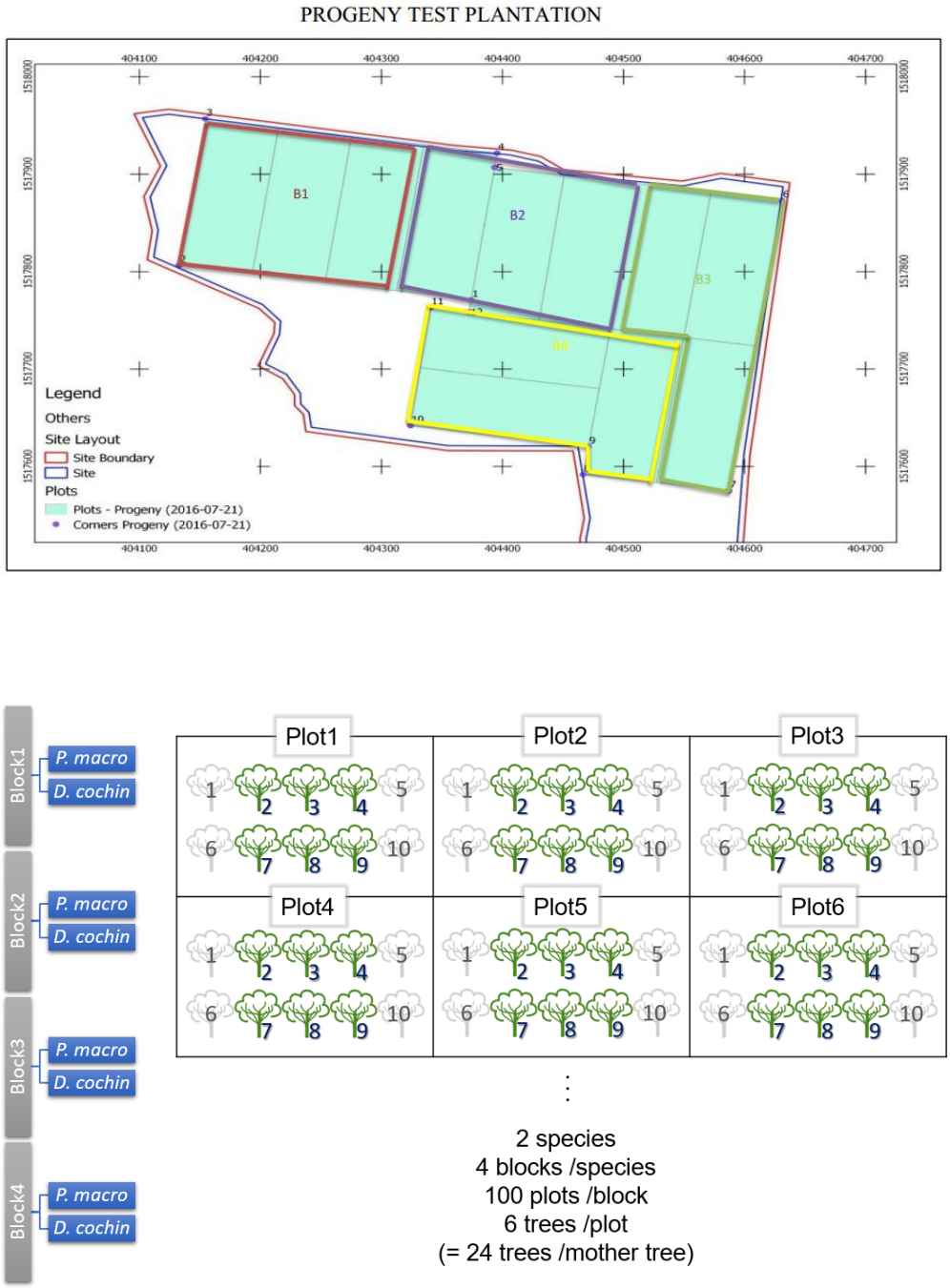


Figure 6. Mother tree layout in progeny test sites of two speicies, *P. macrocarpus* and *D. cochinchinensis*

제 2 절 차대검정림 생장조사

차대검정림이 조성된 이후 차대목의 묘령이 6 개월, 1 년생이 되었을 때 묘고(seedling height)와 근원경(DRC: diameter at root collar), 수관폭(crown width)을 측정하였다. 유묘 생장을 분석하여 추후 벌기령에 이르기 전 선발에 이르는 기간을 단축할 수 있도록 하기 위해서 최소 6 개월의 간격을 두고 생장 조사를 진행하였다. 가계 별로 4000 본을 심었지만, Figure 6 에서 볼 수 있듯이 양 옆 플롯(plot)과 인접한 4 개체는 제외하고 플롯 당 6 본의 생장 데이터를 조사하여 수종 당 총 2,400 개체의 생장 데이터를 수집하였다.

제 3 절 통계분석 및 유전력 추정

조사된 생장 데이터는 가계(F) 간 차이가 존재하는지 파악하기 위해 ANOVA 분석을 시행하였다. 또한 균일한 입지조건인 지역(site)이라도 토양 구성, 배수성, 비옥도 등이 조금씩 다르기 때문에 블록(B) 간 차이를, 가계와 반복의 교호작용(B×F) 효과도 분석하였다. 따라서 관찰된 생장 데이터 값과 요인들 간의 관계를 파악하기 위한 선형 모델을 만들고, 이원분산분석(two-way ANOVA)을 통해 결과를 도출하였다. 통계분석을 위한 프로그램으로는 R ver. 3.4.3(2017)을 활용하였다. 분석을 위한 선형 모델과 이원분산분석표는 아래와 같다.

1. 가계 및 블록 간 선형회귀모델

$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + BF_{ij} + e_{ijk}$

- Y_{ijk} = Observation on the k' th tree in the j' th family, in the i' th block , i=1 to 4, j= 1 to 100, k=1 to 6.
- μ = Overall mean
- E_{ijk} = Normally and independently distributed random deviation of k' th tree, i=1 to 4, j= 1 to 100, k=1 to 6.

2. 가계 및 블록 이원분산분석표

Table 3. Two-way analysis and expected mean square within a site

Source	Df	Expected Mean Square (EMS)
Block (B)	b-1	$\sigma_e^2 + n\sigma_{bf}^2 + nf\sigma_b^2$
Family (F)	f-1	$\sigma_e^2 + n\sigma_{bf}^2 + nb\sigma_f^2$
B x F	(b-1)(f-1)	$\sigma_e^2 + n\sigma_{bf}^2$
Within plot	bf(n-1)	σ_e^2

이원분산분석 결과를 이용해 유전력을 추정하였다. 개체 유전력(h_i^2)은 100 가계와 상관없이 4800 본 전체의 유전 영향을 볼 수 있고, 가계 유전력(h_f^2)은 100 가계 간에 유전적인 영향이 얼마나 전달되는 지를 파악할 수 있는 지표이다(Becker, 1963).

- Individual heritability : $h_i{}^2 = \frac{4\sigma_f^2}{\sigma_f^2+\sigma_{fb}^2+\sigma_e^2}$
- Family heritability : $h_f{}^2 = \frac{4\sigma_f^2}{\sigma_f^2+\sigma_{fb}^2/b+\sigma_e^2/fb}$

제 4 절 개량효과 추정

추정된 유전력의 신뢰성을 높이기 위해서, 묘고와 근원경에 있어서 평균치를 넘는 생장량을 보인 가계를 선발하고 해당 가계들만으로 차대를 구성했을 때 생길 수 있는 선발차(selection differential)을 구하였다.

생장 데이터를 바탕으로 추후 채종원에서 유전 간벌을 시행했을 때, 즉 간벌 강도(thinning intensity)를 10% 간격으로 높였을 때 예측되는 개량효과(genetic gain)를 추정해 보았다.

제 5 절 DNA 바코딩 및 계통수(phylogenetic tree) 분석

100 개 가계의 유전적 거리를 알아보고자 차대검정림 옆에 조성되어 있는 접목묘 채종원(Clonal Seed Orchard)에서 잎 시료를 채취하였다. 채종원은 식재간격 5m × 5m 로 차대검정림과 같은 시험지 내에 있으며, ha 당 각 모수 별 4 본씩 총 400 본이 임의 배치로 식재되어 있다.

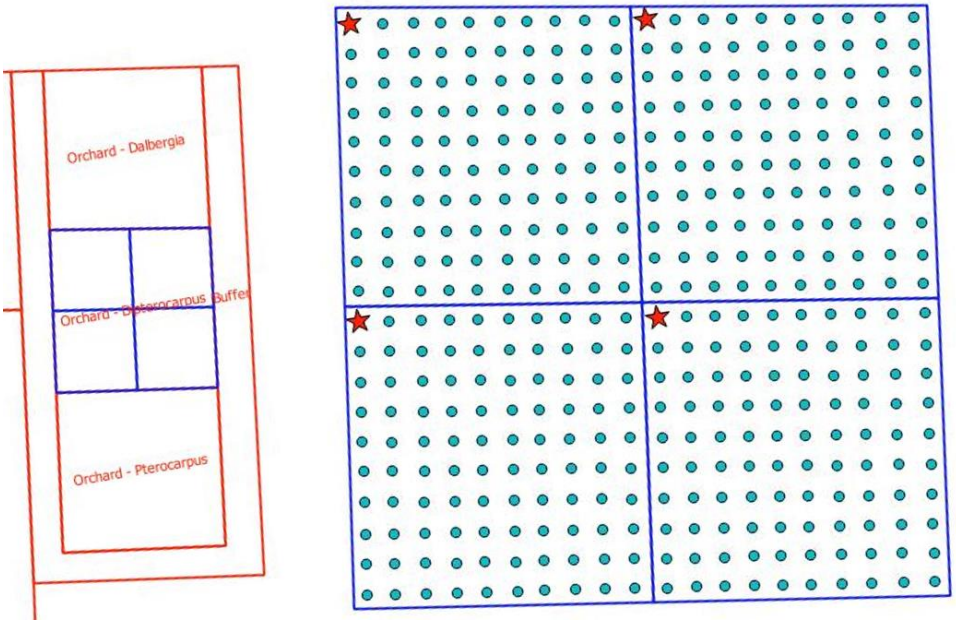


Figure 7. Seed Orchard Layout

DNA 바코딩이란 신속하고 자동화된 분류 방법으로, 어떤 생물체의 DNA 에 있는 짧은 유전적 마커(short genetic marker)를 사용하여 그 생물체가 어떤 특정 종에 속하는 지를 동정하는 것이다(Herbert et al., 2003). 일반적으로 종내 유전적 거리는 2-3% 내외로 알려져 있으며, 같은 종 내에서의 바코딩은 식별(identification)을 위한 것이 아니라 지리적인 거리와의 상관성을 검증하는데 주로 사용된다(Meier et al., 2006). 같은 집단군 안에 유사한 종이 많이 분포하여 유전적 다양성을 파악하고자 할 때 쓰이는데, 마다가스카(Madagascar) 섬 내에서의 *Dalbergia* 속의 여러 종들을 분자 식별(molecular identification)하기 위해서도 사용된 바 있다(Sonia, 2016). 본

연구에서는 선발된 수형목 가계를 그룹화하는 데에 그 목적을 두고 진행하였다.

기존 연구에서 *Pterocarpus* 속과 *Dalbergia* 속의 바코딩을 통해 종 간 식별(interspecific identification)이 이루어져 왔는데(Hassold, 2016; Yu et al., 2016), 기존 연구에서 가장 효율이 높았던 3 개 마커(marker)를 선정하여 진행한 뒤, DNA 서열 획득 용이성, 그 서열의 질을 토대로 계통수 분석(phylogenetic tree analysis)에 사용할 마커(marker)의 결과를 사용하기로 하였다.

Table 4. Primer information for 3 tested chloroplast markers

Region	Primer_fwd	Primer_rev	Primer sequence (5' – 3')
ITS	ITS_1f	ITS_4r	TCCGTAGGTGAACCTGCGG/ TCCTCCGCTTATTGATATGC
matK	matK4	matK19	CCTTCGATACTGGGTGAAAGAT/ CCAGACCGGCTTACTAATGGG
trnL (UAA)	trnL_cf	trnL_dr	CGAAATCGGTAGACGCTACG/ GGGGATAGAGGGACTTGAAC

채취해 온 잎 시료로부터 QIAGEN DNA 추출 mini kit 를 이용하여 엽록체 DNA (cpDNA; chloroplast DNA)를 추출하였다. *D. cochinchinensis*는 비교적 혁질화가 진행되지 않은 잎이 많았고 왁스층이 적었으나, *P. macrocarpus* 는 어린 잎이 없고 왁스층이

단단했기 때문에 DNA 추출 후 마커 부착 및 증폭이 제대로 일어나지 않아 본 연구에서는 *D. cochinchinensis* 에서만 DNA 시퀀싱 이후 계통 분석을 할 수 있었다. 사용한 바코딩 마커의 종류와 그 서열은 Table 4 와 같다.

바코딩을 진행하기 위해 선정한 ITS (internal transcribed spacer), matK (maturase K), trnL (UAA) 등 세 종류의 marker 를 적용시켜 PCR (중합효소 연쇄 반응; polymerase chain reaction)로 증폭시켰다. ITS 는 균류(fungi)의 식별에 주로 사용되어왔고(Kress et al., 2005; Pang, 2013), mat K 는 전체 식물계에서 종 간 식별에 필수적인 마커로 알려져 있다(Burgess et al., 2011). trnL 은 최근 식물체에 적용 가능한 유용하다는 연구가 진행되면서 활발하게 사용되고 있는 마커이며, 본 연구에서 이상 세 마커를 부착시켜 실험을 진행하였다(Hartvig, 2015; Jiao et al., 2018).

PCR 은 열변성(denaturation) 과정을 95℃에서 2 분간 진행한 이후, 동일한 온도로 30 초씩 32 회 설정하였다. 결합(annealing)은 58℃에서 30 초 진행하고, 중합(extension) 과정에서는 30 초동안 72℃ 유지시켰다. 이후 72℃에서 5 분간 추가로 중합(extension) 할 수 있도록 설정하였다.

DNA 서열 획득 용이성, 그 서열의 질에 있어서 mat K 마커가 가장 적합하다고 판단할 수 있었고, 해당 마커로 *D. cochinchinensis* 의 100 개 수형목 가계의 DNA 바코딩 분석을 진행하였다. DNA 시퀀싱 정렬(alignment) 및 Clustral W, 계통 분석을 하기 위해서 MEGA X (Kumar, 2018)를 사용하였다.

그리고 계통 분석 모델은 Kimura 2-parameter model 을 선택하였다(Amrita, 2012; Kimura, 1980). MEGA X 를 통해 시퀀싱된 염기 정보를 입력하고, Clustral W 를 통해 전체 100 개 수형목 데이터를 비교하여 재정렬하였다. 이후 Kimura 2-parameter 모델을 적용하여 100 개 가계 간 유전적 거리를 추정하여 계통 분석을 진행하였다.

제 4 장 결 과

제 1 절 *P. macrocarpus* 차대의 생장 특성

P. macrocarpus 의 Khun Ream 의 1 년생 묘목의 생장데이터를 분석해본 결과, 평균 묘고는 95.69 cm 였고, 가장 높은 생장을 보인 가계의 묘고(127.09 cm)는 가장 낮은 가계(73.63 cm)의 173%로 큰 변이가 나타났다. Figure 7 에 나타난 바와 같이 100 가계 간에 변이를 보이는 것을 알 수 있다. 근원경(DRC)은 평균 20.56 mm 였으며, 가계 간에 16.86 mm-26.54mm 가 나타난 것을 확인 할 수 있었다(Figure 8).

모든 생장 특성에서 가계 간 변이가 뚜렷하게 관찰되었는데, 이를 간단히 요약해보면 아래와 같다(Table 5). 수관폭 조사 결과에서도 9cm 로 가장 낮은 47 번 가계 차대들의 평균과 150cm 이었던 28 번 가계의 차대 평균값은 큰 차이를 나타냈다. 모든 생장 특성에서 변동 계수(CV; Coefficient of variation)가 0.3 이상이었으므로 Khun Ream 지역에서의 *P. macrocarpus* 의 가계 간 생장 변이는 전체적으로 차이가 크게 조사되었다.

Table 5. Growth characteristics of 100 open-pollinated progenies of *P. macrocarpus*

Characteristics	Height(cm)	DRC(mm)	Crown(cm)
Mean	95.69	20.56	55.21
Standard deviation	36.38	7.24	23.36
Coefficient of variation	0.38	0.35	0.42
Minimum (Mother tree ID)	10 (85)	4 (47)	9 (47)
Maximum (Mother tree ID)	250 (25,69,78)	113 (80)	150 (28)

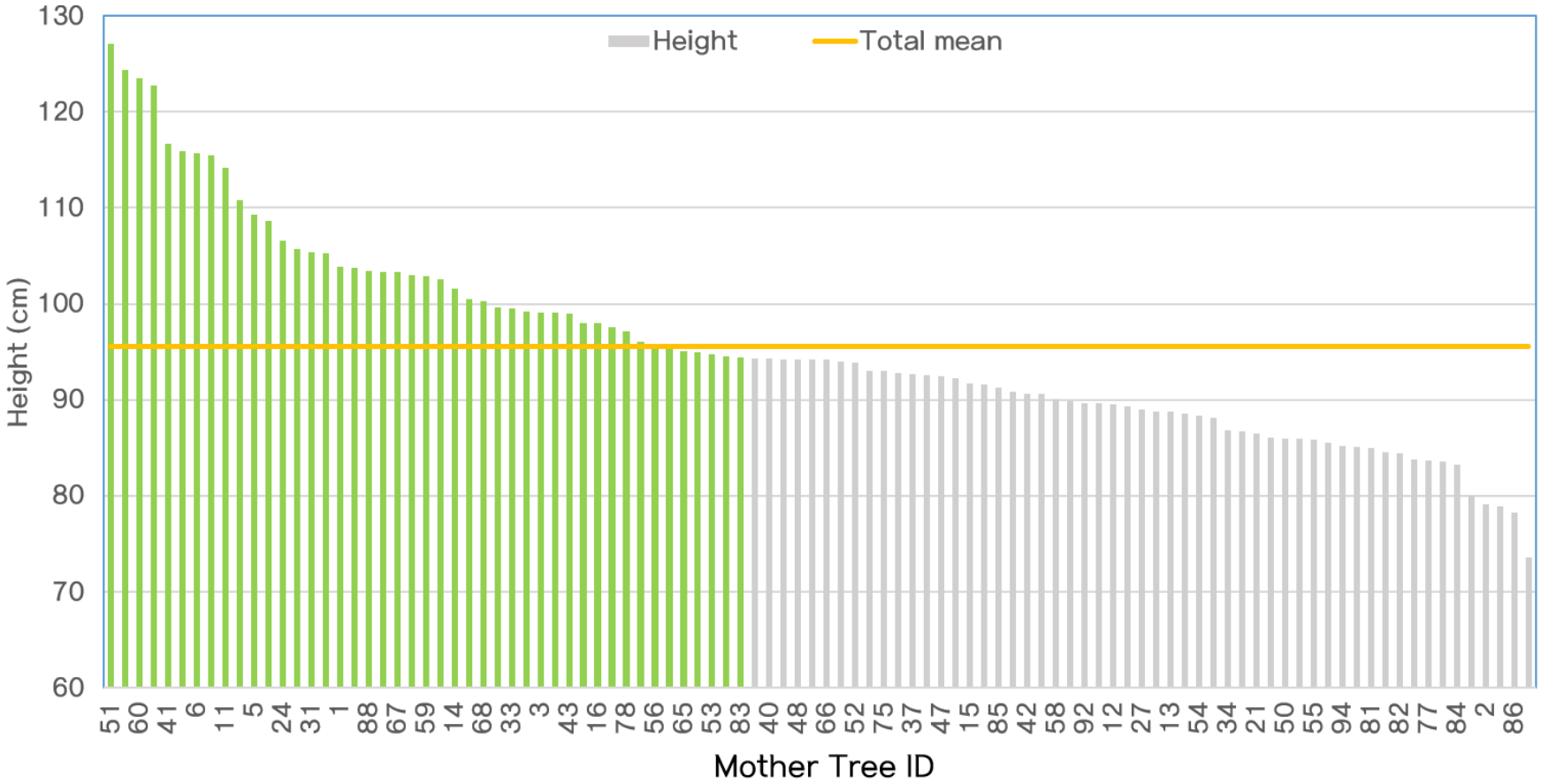


Figure 8. Family mean of the height of *P. macrocarpus* in Khun Ream, Cambodia

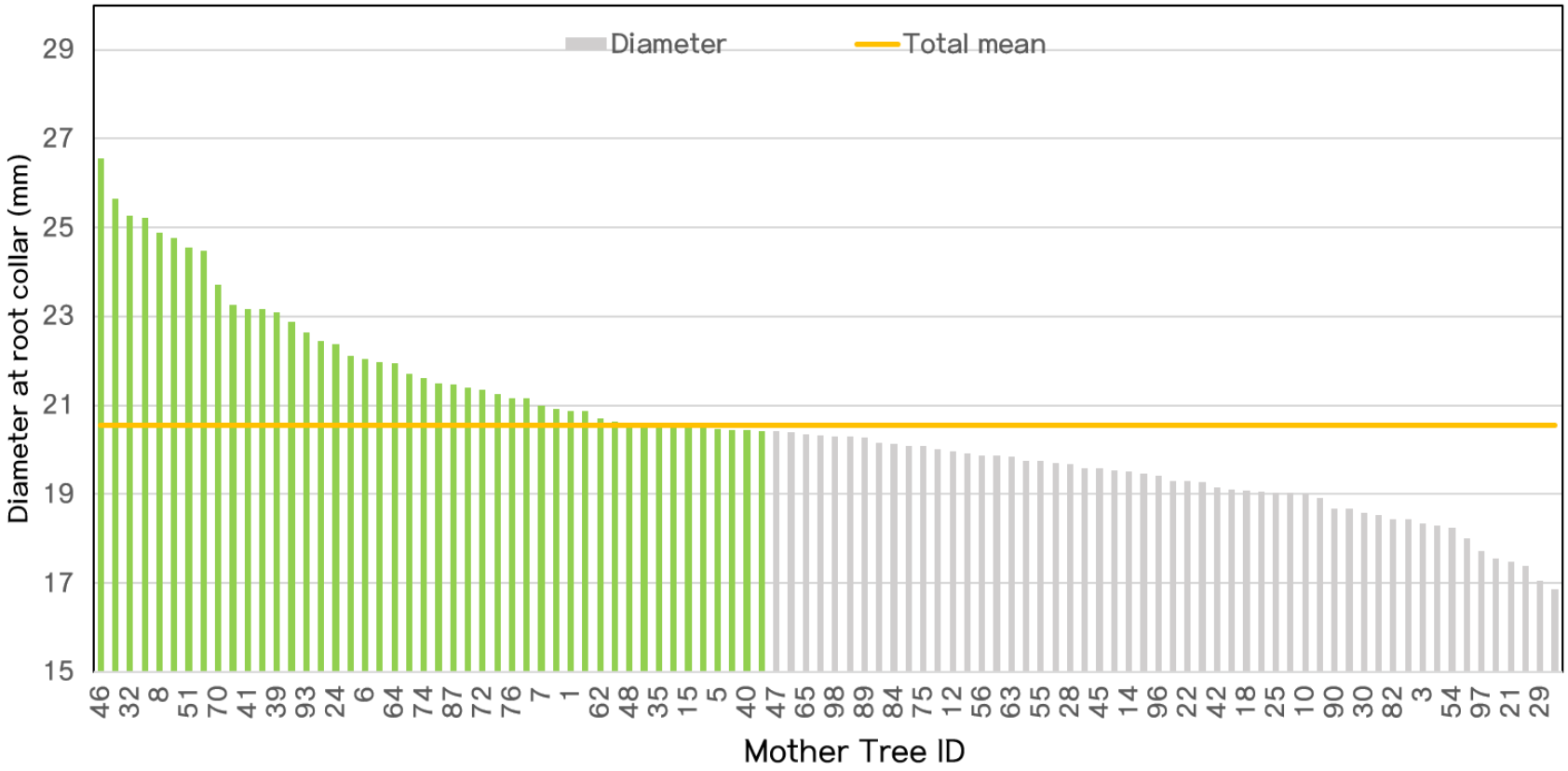


Figure 9. Family mean of the DRC of *P. macrocarpus* in Khun Ream, Cambodia

제 2 절 *D. cochinchinensis* 차대의 생장 특성

Table 6. Growth characteristics of 100 open-pollinated progenies of *D. cochinchinensis*

Characteristics	Height(cm)	DRC(mm)	Crown(cm)
Mean	133.55	18.62	63.41
Standard deviation	5.99	7.74	31.55
Coefficient of variation	0.40	0.42	0.50
Minimum (Mother tree ID)	20 (16,52,86)	4 (49,58)	5 (34,45,90)
Maximum (Mother tree ID)	300 (22,43)	50 (60)	190 (38,63,88)

D. cochinchinensis 에서는 Khun Ream 평균 묘고가 133.55cm, 근원경은 18.62mm 로 *P. macrocarpus* 에 비해 묘고 생장은 좋지만 직경 생장은 조금 낮게 조사되었다(Table 6). Fig. 9 와 10 에 나타난 바와 같이, *D. cochinchinensis* 의 묘고, 근원경 및 수관폭은 가계 간 차이가 큰 것으로 나타났다. *P. macrocarpus* 과 동일하게 수관폭에 있어서 가장 변동 계수가 크다는 것을 확인하였다.

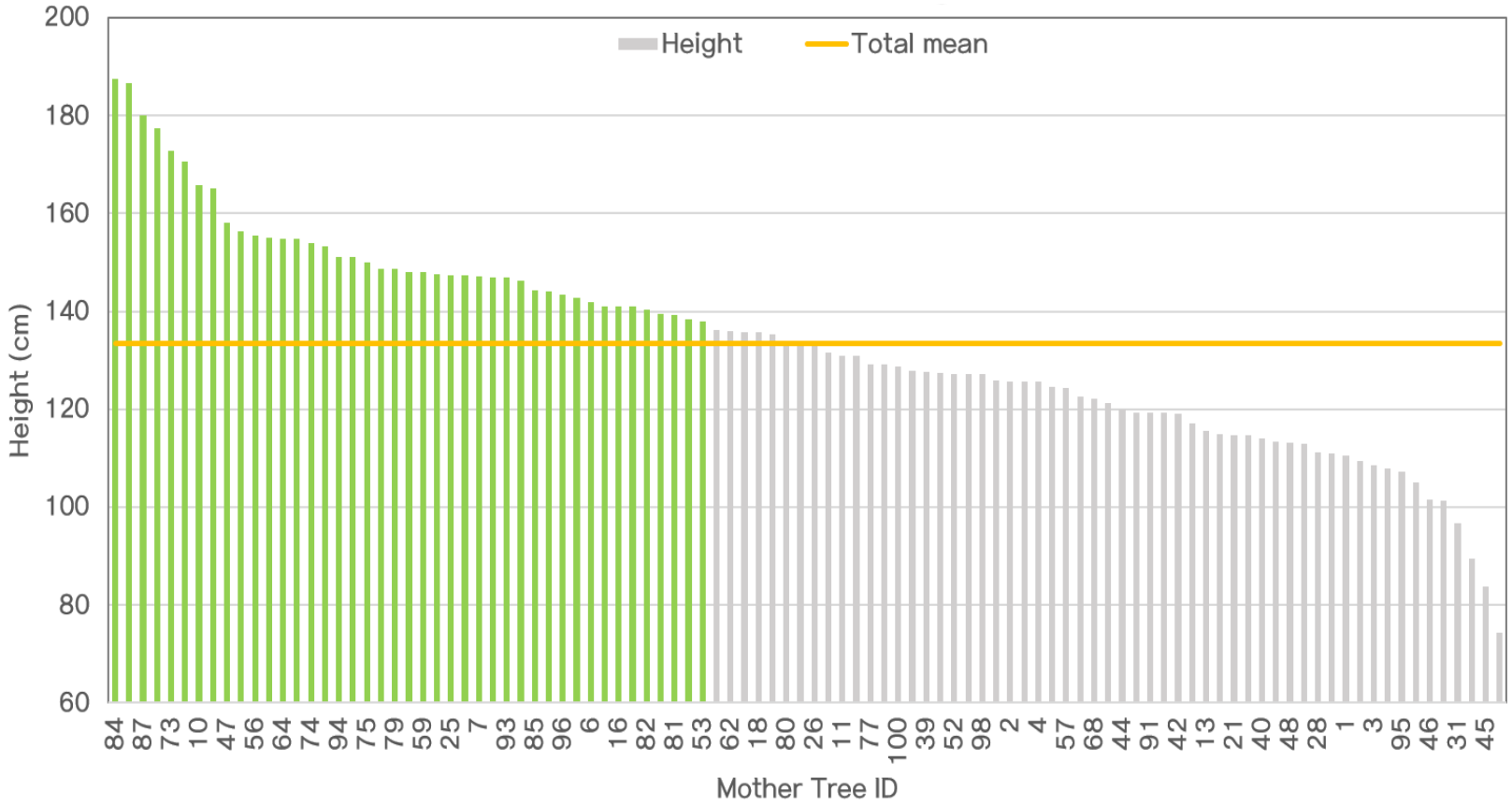


Figure 10. Family mean of the height of *D. cochinchinensis* in Khun Ream, Cambodia

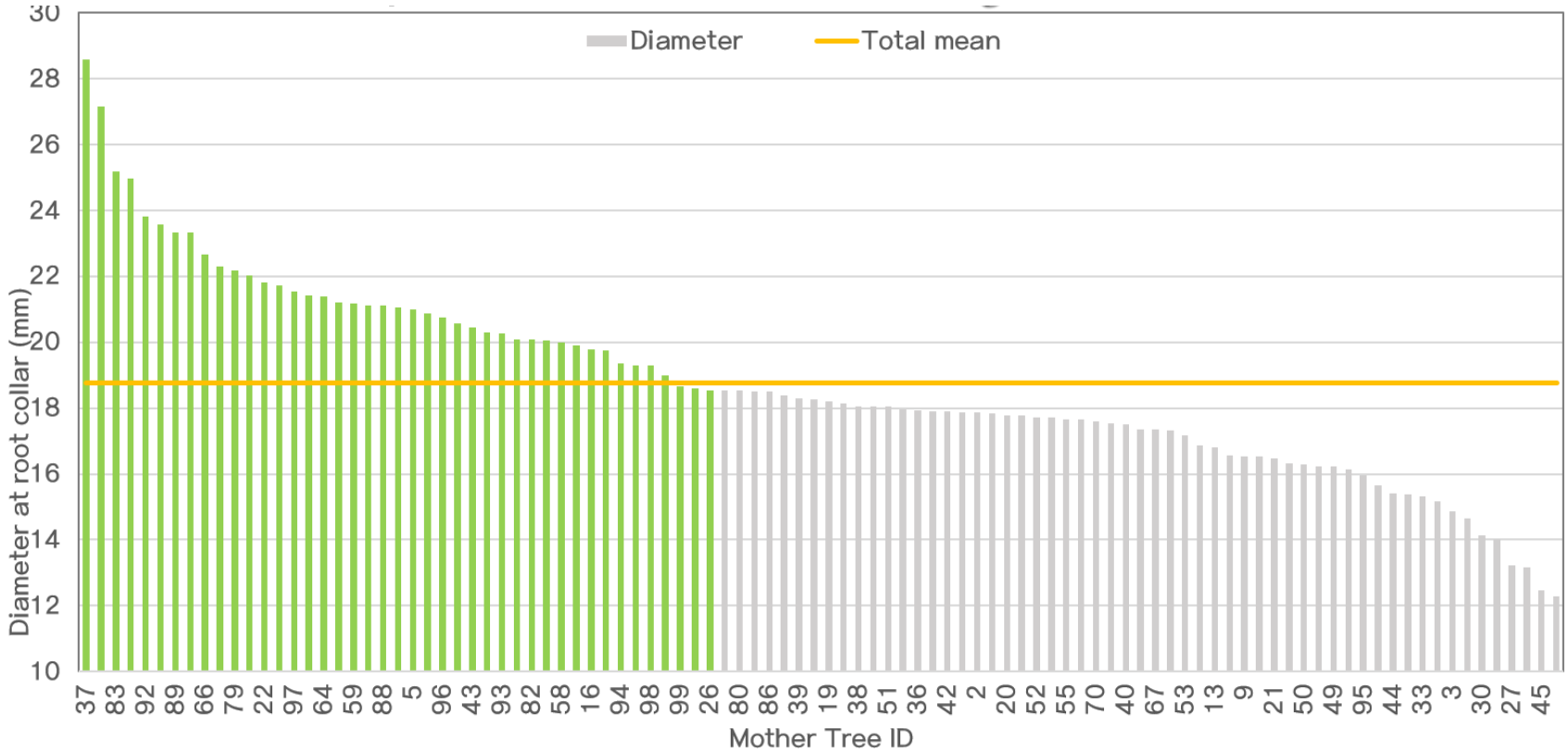


Figure 11. Family mean of the DRC of *D. cochinchinensis* in Khun Ream, Cambodia

제 3 절 유전력 및 개량효과 추정

1. 일원분산분석 및 유전력 추정 결과

일원분산분석 결과, 두 수종 모두 전체 생장 특성에서 가계 간에 차이가 확인되었다($p<0.01$)(Table 7).

Table 7. ANOVA one-way results

Species	*Pterocarpus macrocarpus*			*Dalbergia cochinchinensis*		
	Height (cm)	DRC (mm)	Crown (cm)	Height (cm)	DRC (mm)	Crown (cm)
Among family	2561**	89.22**	1032**	10018**	196.14**	3123.3**
Within familly	1267	50.97	660	2589	81.08	897.7

2. *P. macrocarpus* 이원분산분석 및 유전력 추정 결과

이원분산분석을 통해 유전력을 추정한 결과(Table 8), *P. macrocarpus* 의 개체 유전력(h_i^2)은 0.16 으로 계산되었고, 따라서 2,400 개체 간에는 비교적 약한 유전적인 영향이 존재하는 것을 알 수 있다. 반면 가계 유전력(h_f^2)은 0.56 으로 가계 내에서의 유전적인 영향이 크게 작용하였다.

개체 유전력보다 가계 유전력이 높으므로 선발 시 개체 선발보다는 가계 선발이 이루어져야 한다. 추가적으로 오차 분산(Error variance)이 높게 나왔기 때문에 유전적인 요인 외에 환경적인 요인이 생장에 영향을 주었을 가능성이 있다.

Table 8. ANOVA two-way results for height growth of *P. macrocarpus*

σ_b^2: block variance, σ_f^2: family variance, σ_{fb}^2: variance of interaction of block and family, σ_e^2: error variance;

h_i^2 : individual heritability, h_f^2 : family heritability

P.macrocarpus	Df	Sum Sq	Mean Sq	Variance		heritability	
Block(B)	3	400420	133473.3	σ_b^2	−44.8	h_i^2	0.16
Familiy(F)	99	248072	2505.8	σ_f^2	4336.4	h_f^2	0.56
B x F	297	640331	2156.0	σ_{fb}^2	106578.4		
Within plot	2000	1720771	860.4	σ_e^2	860.4		

3. *P. macrocarpus* 의 선발차 및 개량효과 추정

수형목 선발 시 캄보디아 내에서 *P. macrocarpus* 의 주요 용재 수종으로서의 수요를 고려하여 수고와 흉고직경을 기준으로 선발하였다. 따라서 차대에서도 가계(모수) 집단 별로 묘고와 근원경의 평균을 x, y 축으로 하여 산점도(scatter plot)를 그린 결과, *P. macrocarpus* 는 26 개 가계가 묘고와 근원경 생장이 모두 전체 평균보다 높게 나타나 우수한 것으로 분석되었다(Figure 12).

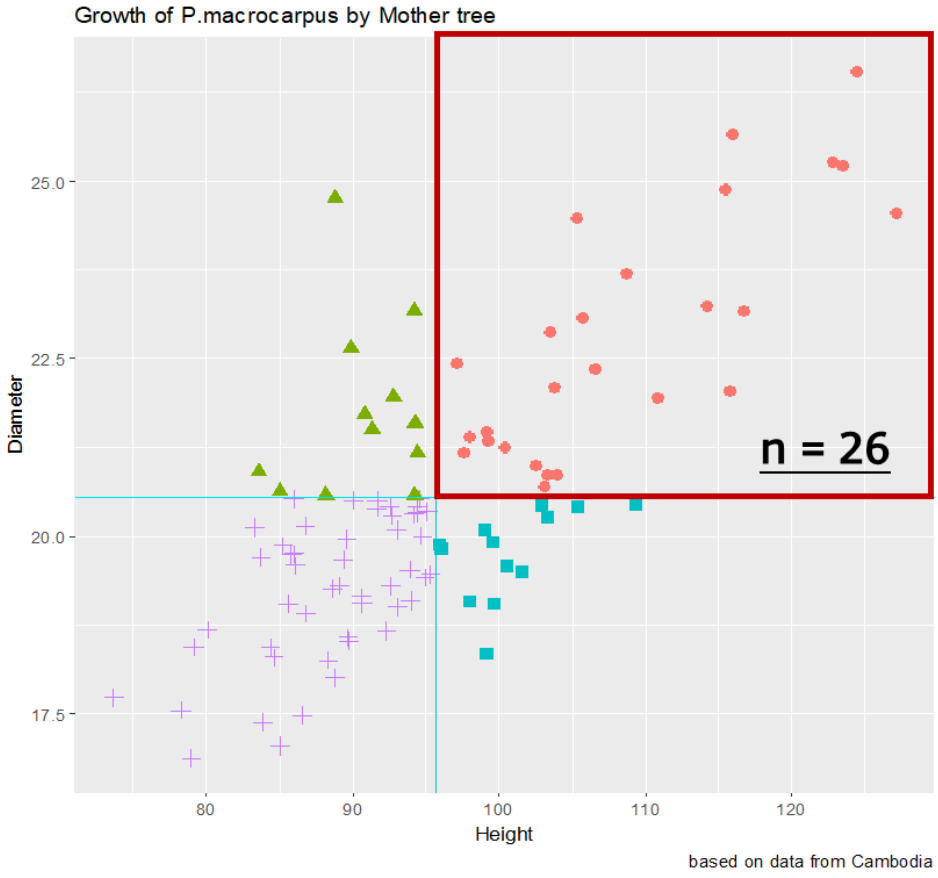


Figure 12. Scatterplot for selection of superior families in height and DRC growth in *P. macrocarpus*

이를 통해서 100 가계 중에서 현재까지 생장이 우수하다고 판단되는 가계들만 선발하여 새로운 집단을 만들었을 때의 선발차(selection differential)를 계산하였다(Figure 13). 정규분포 그래프에서 어둡게 표시된 부분이 선발된 가계이며, 모집단(전체 100 가계)의 묘고 평균(parental mean)이 95.69 cm 였던 데에 반해, 우수한 가계로 분석된 26 개 가계로 구성한 예상 차대 집단의 평균(progeny mean)은 108.61 cm 로 13.5%가 증가함을 알 수 있었다.

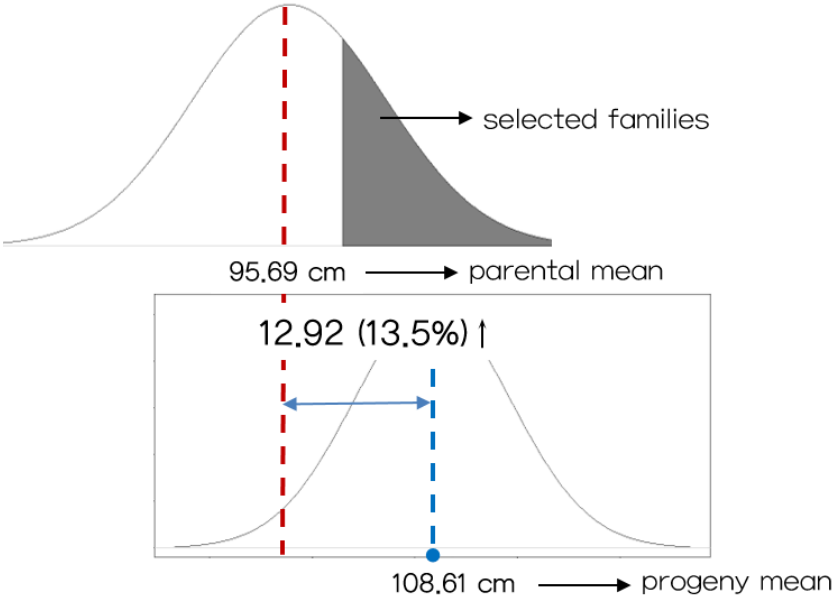
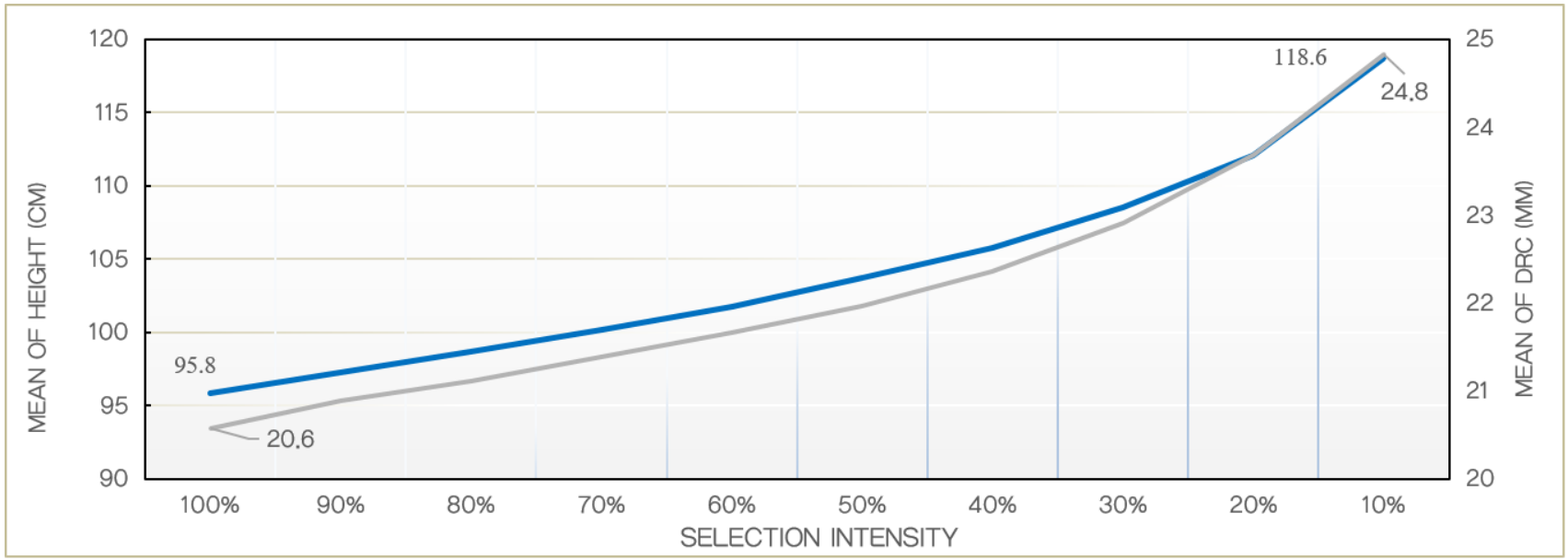


Figure 13 . Selection differential of height growth by the selection of superior 26 families in *P. macrocarpus*

선발차를 예측한 후 이를 실제 선발 강도(selection intensity) 10% 간격으로 실행한다고 가정했을 때의 개량 효과를 추정하였다(Figure 14). *P. macrocarpus* 에서 비교적 높은 묘고 및 근원경 생장을 보이는 50%의 가계를 선발한다면, 묘고에서는 8.3%, 근원경에서는 6.9%의 개량 효과가 추정되는 것으로 나타났다.



Selection intensity (t)		10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
Height	$\bar{x}$t	97.2	98.7	100.2	101.8	103.7	105.7	108.5	112.1	118.6
	ΔG (%)	1.6	3.1	4.7	6.3	8.3	10.5	13.4	17.1	24.0
RCD	$\bar{x}$t	20.9	21.1	21.4	21.7	22.0	22.4	22.9	23.7	24.8
	ΔG (%)	1.6	2.7	4.0	5.4	6.9	8.7	11.4	15.2	20.8

Figure 14. Genetic response for height and DRC growth at various selection intensity in a clonal seed orchard of *P. macrocarpus*

4. *D. cochinchinensis* 이원분산분석 및 유전력 추정 결과

이원분산분석을 통해 *D. cochinchinensis* 의 가계 및 개체 유전력을 추정한 결과는 Table 9 와 같았다. *D. cochinchinensis* 의 개체 유전력(h_i^2) 또한 0.16 으로 계산되었고, 가계 유전력(h_f^2)은 0.56 이었다. *P. macrocarpus* 와 마찬가지로 오차 분산이 높게 나와 본 수종의 차대검정림 또한 환경적인 영향을 받았을 가능성이 높다고 할 수 있다.

Table 9. ANOVA two-way results for height growth of *D. cochinchinensis*

σ_b^2: block variance, σ_f^2: family variance, σ_{fb}^2: variance of interaction of block and family, σ_e^2: error variance;

h_i^2 : individual heritability, h_f^2 : family heritability

D. cochinchinensis	Df	Sum Sq	Mean Sq	Variance		heritability	
Block(B)	3	292888	97629.3	σ_b^2	460.5	h_i^2	0.16
Familiy(F)	99	1008320	10185.1	σ_f^2	15156.6	h_f^2	0.56
B x F	297	2245171	7559.5	σ_{fb}^2	373942.9		
Within plot	2000	3027379	1513.7	σ_e^2	1513.7		

5. *D. cochinchinensis* 의 선발차 및 개량효과 추정

D. cochinchinensis 는 묘고와 근원경 두 생장 특성 모두에서 전체 평균의 이상을 보이는 가계가 37 개로 나타났으며, 수형목 선발 기준과 동일하므로 100 개 차대에서의 우수 가계로 선발하였다(Figure 15).

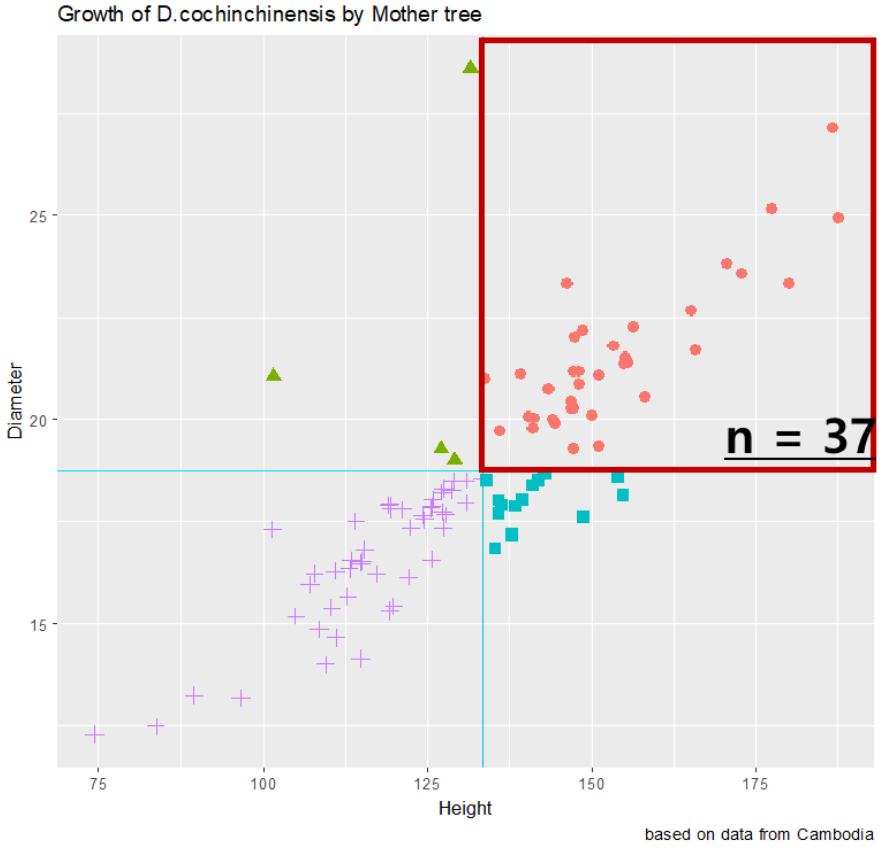


Figure 15. Scatterplot for selection of superior families in height and DRC growth in *D. cochinchinensis*

이를 통해서 *D. cochinchinensis* 에서 현재까지 생장이 우수하다고 판단되는 37 가계만 선발하여 새로운 집단을 만들었을 때의 선발차를 계산해 보았다(Figure 16). 전체 묘고 평균이 두 수종 모두에서 각각 12.92cm, 19.71cm 만큼 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 우수 가계를 선발했을 때 충분한 개량 효과가 나타날 것이라고 기대할 수 있었다.

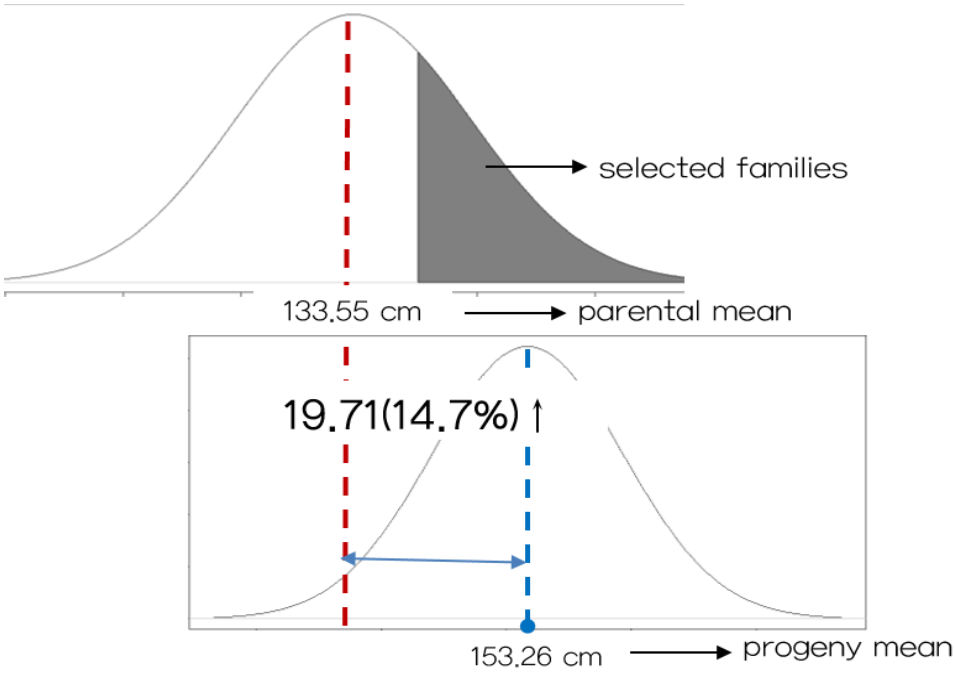
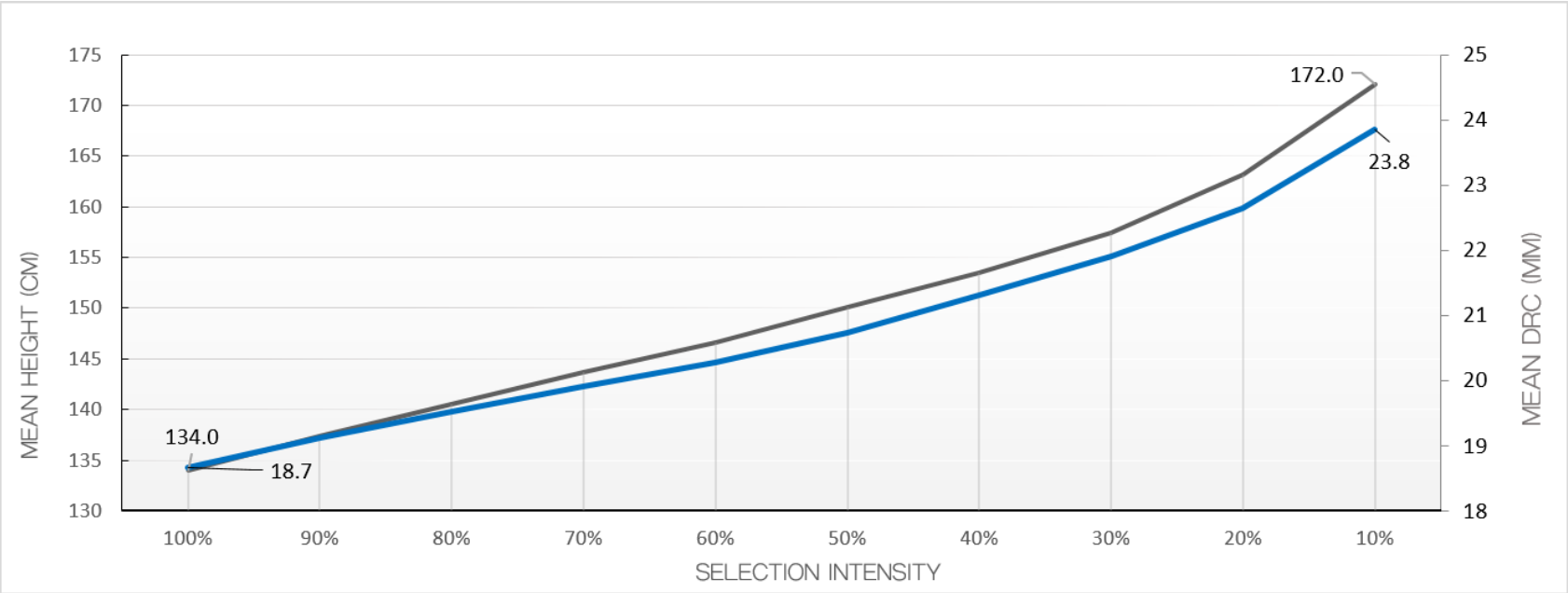


Figure 16. Selection differential of height growth by the selection of superior 37 families in *D.cochinchinensis*

금후 채종원에서 차대검정 성적을 바탕으로 유전 간벌, 즉 간벌 강도를 10% 간격으로 한다고 가정했을 때의 개량 효과를 추정해 보면, *D. cochinchinensis* 는 2.9%부터 28%까지 개량 효과가 높아지는 것을 확인하였다(Figure 17). 꾸준한 생장 특성 분석을 통해 유전 간벌 시 선발을 통해 높은 개량 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대되었다.



Selection intensity (t)		10%	20%	30%	40%	**50%**	60%	70%	80%	90%
Height	$\bar{x}$t	137.43	140.54	143.65	146.66	150.07	153.54	157.40	163.13	172.02
	ΔG (%)	2.90	5.24	7.56	9.82	12.37	14.96	17.86	22.15	28.81
RCD	$\bar{x}$t	19.13	19.53	19.91	20.28	20.74	21.31	21.91	22.65	23.85
	ΔG (%)	2.71	4.88	6.90	8.90	11.37	14.46	17.69	21.65	28.09

Figure 17. Genetic response for height and DRC growth at various selection intensity in a clonal seed orchard of *D. cochinchinensis*

제 4 절 DNA Barcoding 결과 및 Phylogenetic tree

D. cochinchinensis 의 잎 시료에서 추출한 엽록체 DNA 에 ITS, matK 및 trnL 세 종류의 표지자(marker) 를 모두 부착시킨 후, 시퀀싱을 진행하였다. 그 중 평균 종 간 유전거리(intraspecific genetic distance)및 식별(identification) 성공률이 가장 높았던 matK 를 선정하였다. 미국 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 유전자 은행(gen bank)에 등록되어 있는 서열과 비교 분석하는 BLAST(Stephen et al., 1997)를 시행한 결과, 기존에 등록되어 있던 유전자 번호 KT852840.1(*D. cochinchinensis* isolate leafA maturase K (matk) Gene)와 일치도가 높게 나타났다.

100 개의 염기서열을 Clustal W 를 이용해 염기 서열 공백(gap)과 소실된 데이터가 없도록 정렬한 후, 최종적으로 남은 627 개의 염기 서열을 기반으로 분석을 진행하였다. MEGA X 로 계통수 분석을 수행한 결과는 아래 Fig 18 과 같다.

D. cochinchinensis 100 개 가계의 유전적 거리를 추정한 결과, 12 그룹으로 나누어졌다. 그리고 Figure. 15 의 산점도에서 우수 가계로 선발했던 37 개 가계를 각 그룹에 대입한 결과(•), 11 개의 그룹에서 각 그룹 당 1~6 개의 우수 가계가 포함되는 것을 볼 수 있었다. 가계 선발 시에, 유전적으로 매우 가깝게 그룹 지어진 개체들 내에서만 선발이 이루어진다면, 세대를 거듭함에 따라 유전적 다양성이 낮아지게 되므로 이를 사전에 고려할 필요가 있다. 우수한 생장을 보이는 가계를 선발함과 동시에 유전적으로 다양한 가계를 선발할 수 있을 것이다.

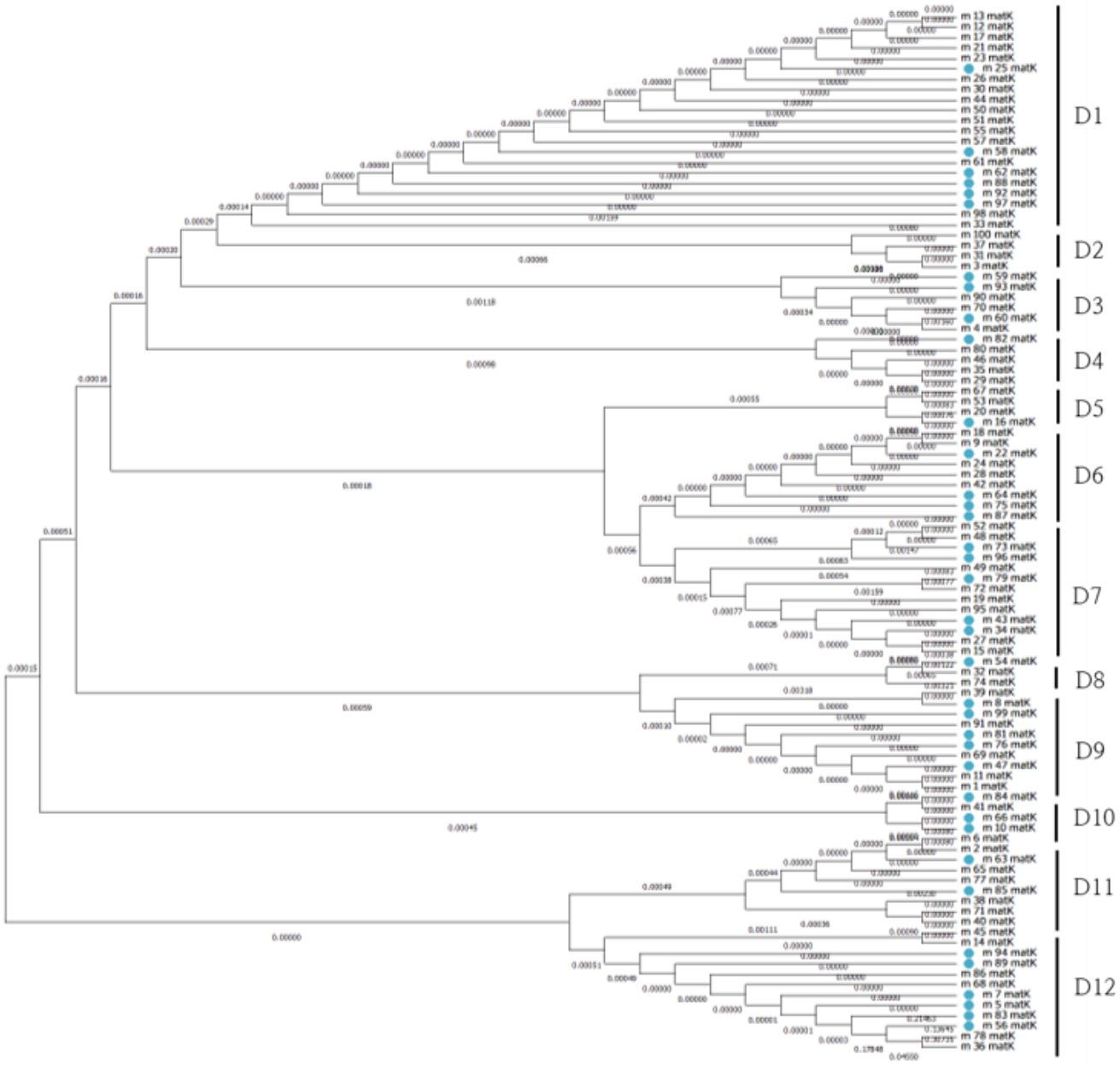


Figure 18. Intraspecific phylogenetic tree of 100 plus trees selected of *Dalbergia cochinchinensis*

제 5 장 고 찰

1. 생장 특성

캄보디아 Khun Ream 과 Chan Sor 두 지역에 조성된 *P. macrocarpus* 및 *D. cochinchinensis* 차대검정림에서 6 개월생, 1 년생 묘고 및 근원경 생장 조사를 진행하였고 가계 간 차이가 크게 나타났다. 아직 유시 생장 데이터이므로 바로 유전 간벌에 활용할 수는 없지만, Magnussen (1988)이 발표한 연령 간 상관 모델(age-age correlation model)에 따르면 조기 검정을 통해 성숙목의 생장을 예측하는 것이 가능하다. 또한 국내에서도 소나무의 유묘 생장을 모니터링하여 성숙목과의 관계를 밝혀본 결과 8 년생 개체에서 조기 검정이 가능함이 밝혀진 바 있다(Han, 1991). 따라서 캄보디아 차대검정림의 생장 조사를 지속적으로 진행한다면, 속성수가 아닌 두 수종의 선발 시기를 앞당겨 보다 빠르게 진전 세대 선발 및 보급이 가능할 것이다.

현재의 생장 특성을 분석하여 선발을 위한 초기 생장률 데이터를 누적하는 것도 중요하지만, 생장 조사가 이루어지면서 차대검정림의 효율적인 관리 방안에 대해서도 고민하고 관개 시설이나 병충해와 같은 외부 요인으로부터 생장에 영향을 받지 않도록 주의하는 것이 필요하다. 캄보디아 현지의 환경은 온도가 높아 잎이 타는 엽소 현상과 식엽 해충으로 인한 피해도 볼 수 있었다. 또한 토양 성분의 차이가 같은 지역 내의 블록 간에도 크게 나타나는 편이었기 때문에 이러한 환경 인자들을 통제해 주어야 정확한 분석과 조기 검정이 이루어질 수 있을

것이다. 육종 프로그램이 성공하기 위해서는 선발 시기를 앞당길 수 있는 조기 검정이 핵심적이며, 조성 초기인 현재 생장 모니터링은 이와 같은 목적을 이루기 위한 가장 중요한 연구라고 생각된다.

2. 유전력 및 개량효과

이원분산분석 결과, 두 수종 모두 묘고 생장에 있어서 가계 유전력은 0.56, 개체 유전력이 0.16 으로 추정되었다. 생장에 있어서 유전적인 영향이 큰 것은 채종원의 조성 목적에 부합하지만, 블록과 가계의 교호작용(interaction)의 분산이 상당이 높게 나온 것을 볼 수 있었다. 오차 분산으로 보여지는 유전 외의 부분, 즉 환경적인 영향이 큰 것은 아래 Table 10 에서 볼 수 있듯이 지역 간, 같은 지역 내에서도 블록 간 토양 성분이 크게 차이가 나는 것으로 그 이유를 짐작할 수 있다. 환경적인 요인을 통제해 나간다면 오차 분산은 더욱 감소될 수 있고 유전력에도 영향을 미치지 않기 때문에 더욱 정확한 추정이 가능할 것이다. 하지만 블록과 가계의 교호작용이 크게 나타난 것은 지속적인 데이터 분석을 통해 규명해야 한다.

인도네시아에서 이와 동일하게 진행된 칼리만탄 지역의 *Shorea macrophylla* (de Vr.) Ashton 관련 연구에서는, 1 년생에서 묘고의 가계 유전력이 0.39 로 높았으나 4 년생에서는 0.22 로 하락하였다. 개체 유전력 또한 약 0.09 에서 0.05 로 낮아져 유묘의 생장에 따라 유전력이 다르게 추정될 수 있다는 것을 확인하였다(Widiyatno et al., 2014).

Table 10. Soil analysis result of 2 sites

	pH	CEC	Ca	Mg	K	Na
KR2	6.0	4.91	193.61	20.54	18.23	67.18
KR4	5.4	3.54	91.69	34.56	7.63	8.63
CS1	4.4	4.72	35.41	8.87	28.36	6.00
CS4	4.5	5.50	51.90	15.37	27.40	5.73

Naiem (2014)에서도 3.5 년생 *Shorea leprosula* Miq. 묘고에서 가계 유전력 0.14, 개체 유전력 0.07 으로 나타났다. 열대 지역의 다양한 기후에서 생장하는 만큼 유전력에 있어서도 다양한 인자들로부터 영향을 받기 때문에 앞으로의 지속적인 모니터링에 있어서도 조사지의 요인들을 충분히 고려해야 할 것이다.

일반적으로 채종원 혹은 차대검정림을 조성할 때에는 완전 임의 배치법(complete randomized design)을 사용한다. 모든 클론 혹은 가계 내 ramet 이 조사지 전체에 무작위로 분포할 수 있도록 식재하는 방법이다. 그러나 본 차대검정림에서는 동일한 플롯 안에 한 가계를 10 개체씩 식재하였다. 환경영향에 민감한 열대 수종인 만큼 가계 간 차이뿐만 아니라 블록 간 차이, 가계 및 블록의 교호작용에 의한 차이가 크게 나타난 것은 식재 방법에 있어서 충분한 고려가 이루어지지 않았기 때문이라고 생각된다. 따라서 가계 간 차이를 정확히 추정하고 환경으로 인한 변이를 파악하기 위해서는 식재 방법의 변화가 필요하다. 현재 동일 가계로만 하나의 플롯이 이루어져 있으므로, 플롯의 구분없이 100 개체씩 40 개 블록으로 설계하는 것이 현재의 식재방식보다 효율적이다. 전체 4000 본을 4 개 블록으로 나누어 분석하는 것에 비해 40 개 블록으로 더욱 세분화하여 분석하는 것이 가계 간 차이를

파악하고, 토양이나 기후 등 민감한 열대 지역의 생장량을 파악하는 데에 있어서 효과적일 것이다. 차대검정림에 비해 최종적으로 재적이 우수한 개량 종자 생산을 목적으로 하는 채종원에서는 이러한 배치법(seed orchard design)에 대한 연구가 활발히 이루어져 왔다(Chaloupková, K. et al., 2016; El-Kassaby, Y. A. et al., 2014; Giertych, 1975). 수종과 조성 규모, 가계 수, 그리고 환경 조건에 따라서 다양한 배치가 이루어지기 때문에, 캄보디아 내에서도 적합한 배치법을 찾아 적용하는 것이 시급하다. 이와 동시에 열대의 환경요인을 통제하고, 병해충으로 인한 변이가 생기지 않도록 지속적인 관리가 요구된다.

제 6 장 결 론

캄보디아 내의 자연 군집에서 선발한 수형목의 풍매 종자로 조성된 차대 시험림에서 가계 간의 변이가 존재했으며, 1 년생 묘령에서 묘고와 근원경 모두 가계 간 생장량의 차이가 뚜렷하게 나타났다. 따라서 본 차대검정림을 통한 모수의 추정, 채종원 유전간벌 등 관리에 필요한 육종학 정보에 대한 지속적인 모니터링이 요구됨을 알 수 있었다.

또한 차대의 생장 변이를 보기 위한 이원분산분석 결과, 블록과 가계, 그리고 블록 및 가계 의 교호작용 또한 생장량의 변이에 영향을 미친 것으로 분석되었다. 유전력 계산 결과, 가계 유전력이 높게 나왔으므로, 추후 선발 시 가계 선발이 우선시 되어야 할 것이다. 하지만 개체 유전력 역시 고려하여, 가계 선발 후 개체 선발이 동시에 이루어진다면 보다 효율적인 선발 성과를 낼 수 있을 것으로 판단된다. 나아가 토양 분석과 같은 기후 인자를 더욱 고려하여 생장량에 미치는 유전적인 영향을 극대화하고 환경적인 영향을 최소화할 수 있도록 관리하는 방안이 필요할 것이다.

가계 선발 시 얻을 수 있는 개량효과를 추정한 결과, 묘고와 근원경 모두에서 20% 이상의 효율이 예상되었다. 조기 선발 기술을 개발할 수 있도록 지속적인 조사, 분석을 통하여 유시생장과 벌기령의 생장량에서 상관 관계를 파악해 나아가야 한다.

끝으로 가계 선발 시 DNA barcoding 결과, 그룹화된 즉, 유전적으로 가까운 개체들을 선발한다면 세대를 거듭함에 따라 유전적 다양성이 낮아지게 된다. 본 연구에서 계통수 분석을 통해 알아낸 가계

간 유전적 거리(genetic distance)를 고려하여 가계 선발을 할 수 있을 것이다.

캄보디아에서 두 수종에 대한 목재 수요를 충당하고 충분한 개량종자 및 묘목을 보급하여 생산성을 높이기 위해 우수 가계 선발을 위한 본 연구가 기초자료를 제시할 수 있을 것이다.

인용 문헌

Kang, K. S. (2001). Genetic gain and gene diversity of seed orchard crops. Ph, D, Dissertation, Acta University Agriculturae Suecuae. Sweden. Silvestria 187, 8-75

Kang, K. S., El-Kassaby, Y. A., Han, S. U., & Kim, C. S. (2005). Genetic gain and diversity under different thinning scenarios in a breeding seed orchard of quercus accutissima. Forest Ecology and Management, 212(1), 405-410.

Kim, J. H., & Won, H. (2016). Identification of cambodian gnetum (gnetaceae, gnetales) species by DNA barcoding. Korean journal of plant taxonomy, 46(2), 163-174.

Lee, W. Y., Park, E. J., Jeon, B. H. & Han S. U. (2011) Relationships of Growth Characteristics Between Adult Trees and Their Seedlings in Open-Pollinated Pinus densiflora Families, KJBS. vol.43, no.4, pp. 330-336

Han, S. U., Kim, J. S. (2007). Establishment and management of seed orchard for production of improved seed. NIFoS, Seoul

Han, S. U., Sohn, S. I., Kim, J. H., Jhun, G. S., (1991). Determination of Age - Age Correlation and Optimum Selection Age through

Juvenile Selection Efficiency in Pinus densiflora S. et Z. KJBS, 1991, Vol.23(2), p.139

Amrita Srivathsana, b. a. R. M., (2012). On the inappropriate use of Kimura-2-parameter (K2P) divergences in the DNA-barcoding literature. Cladistics 28: 190-194.

Araüjo, M. R. A., Coulman, B. E., Rakow, G. (2002). Genetic variation, heritability and progeny testing in meadow bromegrass. Plant Breeding, 121, 417—424.

Asian Regional Workshop (Conservation & Sustainable Management of Trees, Viet Nam, August 1996). 1998. Dalbergia cochinchinensis. The IUCN Red List of Threatened Species 1998

Becker, W. A. 1964. Heritability of a response to an environmental change in chickens. Genetics 50: 783 -788.

Boyle, T. J. B., Cossalter, C. & Griffin, A. (1997). Genetic resources for plantation forestry. Aciar monograph series, 43, 25-64.

Chaloupková, K., Stejskal, J., El-Kassaby, Y.A. (2016). Tree Genetics & Genomes 12, 105.

Donnelly, D., Nangle, B., Prendergast, J. & O'sullivan, A. (1968). Dalbergia species—v. Isolation of r-5-o-methyllatifolin from

dalbergia cochinchinensis, pierre. Phytochemistry, 7(4), 647-649.

Doungyotha, Y. and Owens J. N. (2002). The Reproductive Biology and Reproductive Success of *Pterocarpus macrocarpus* Kurz1. Biotropica 34(1): 58-67.

El-Kassaby, Y.A., Fayed, M., Klápště, J. (2014). Tree Genetics & Genomes 10, 555.

FA, CTSP. (2004). Cambodian Tree Species Monographs. Phnom Penh, Cambodia: Forestry Administration (FA) and Cambodian Tree Seed Project (CTSP)

Giertych, M. (1975). Seed orchard designs. Seed orchards (Faulkner R, ed). Forestry Commission, Bulletin, (54), 25-37.

Harriet G. & Pablo S. (2008). Strategies for the Sustaibable Use and Management of Timber Trees - SE Asia. UNEP-WCMC. Cambridge, UK.

Hartvig, I., Czako, M., Kjær, E. D., Nielsen, L. R. & Theilade, I. (2015). The Use of DNA Barcoding in Identification and Conservation of Rosewood (*Dalbergia* spp.). PLoS One 10(9): e0138231.

Hartvig, I., So, T., Changtragoon, S., Tran, H. T., Bouamanivong, S., Theilade, I. Nielsen, L. R. (2018). Population genetic structure

of the endemic rosewoods *Dalbergia cochinchinensis* and *D. oliveri* at a regional scale reflects the Indochinese landscape and life-history traits. Ecol Evol 8(1): 530-545.

Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proc Biol Sci, 270(1512), 313-321.

Jalonen, R., Choo, K. Y., Hong, L.T. & Sim, H.C. (2009) Forest genetic resources conservation and management: status in seven South and Southeast Asian countries. Bioversity International, p.143

Jiao, L., Yu, M., Wiedenhoeft, A. C., He, T., Li, J., Liu, B., & Yin, Y. (2018). DNA Barcode Authentication and Library Development for the Wood of Six Commercial Pterocarpus Species: the Critical Role of Xylarium Specimens. Sci Rep 8(1): 1945.

Kimura M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16:111-120.

Kumar S., S. G., Li M., Knyaz C., & Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution

Lert Chuntanaparb,(1975) Planning breeding programme for Tropical hardwood, Nat. Hist. Bull. Siam Soc, 26:79-97

Libby, W. J., Stettler, R. F. & Seitz, F. W. (1969). Forest genetics and forest-tree breeding. pp.173-184

Liengsiri, C. (1999). Genetic variation studies in Pterocarpus macrocarpus kurz as revealed by isozyme, morphological and physiological traits. University of Alberta,

Liengsiri, C., Yeh, F. C. H., & Boyle, T. J. B. (1995). Isozyme analysis of a tropical forest tree, Pterocarpus macrocarpus Kurz (Vol. 74).

Liu, R., Li, Y., Shao, F., Chen, L., Wen, X., Zhang, P. & Huang, H. (2016). A new chalcone from the heartwood of Dalbergia cochinchinensis. Chemistry of Natural Compounds, 52(3), 405-408.

Liu, R., Wen, x., Shao, F., Zhang, P., Huang, H. & Zhang, S. (2016). Flavonoids from heartwood of Dalbergia cochinchinensis - flavonoids from heartwood of Dalbergia cochinchinensis. 01: 89-93.

Magnussen, S. (1988) Minimum Age-To-Age Correlations in Early Selections, Forest Science, Volume 34, Issue 4, pp.928-938

Maranhão, C. A., Pinheiro, I. O., Santana, A. L. B. D., Oliveira, L. S., Nascimento, M. S., & Bieber, L. W. (2013). Antitermitic and antioxidant activities of heartwood extracts and main flavonoids of hymenaea stigonocarpa mart. International Biodeterioration & Biodegradation, 79, 9–13.

Moritsuka, E., Chhang, P., Tagane, S., Toyama, H., Sokh, H., Yahara, T., & Tachida, H. (2017). Genetic variation and population structure of a threatened timber tree dalbergia cochinchinensis in cambodia. Tree Genetics & Genomes, 13(6), 115.

Naiem, M., Widiyatno, & Al-Fauzi, M. Z. (2014). Progeny test of shorea leprosula as key point to increaseproductivity of secondary forest in pt balik papan forestindustries, east kalimantan, indonesia. Procedia Environmental Sciences, 20, 816–822.

Niyomdham C. (2002). An account of Dalbergia (Leguminosae- Papilionoideae) in Thailand. Thai Forest Bulletin (Botany), 30, 124–166.

Niyomdham C., Hô P. H., Dy Phon, P., & Vidal, J. E. (1997). Flore du Cambodge, du Laos et du Viêtnam : 29, Leguminoseae - Papilionoideae, Dalbergieae Morat P., editor. (Ed.), Paris: Muséum National d'Histoire Naturelle.

Open Development Cambodia. ODC forest cover studies (1973–2014). from https://opendevelopmentcambodia.net/

Pathak, V., Shirota, O., Sekita, S., Hirayama, Y., Hakamata, Y., Hayashi, T. & Satake, M. (1997). Antiandrogenic phenolic constituents from Dalbergia cochinchinensis. Phytochemistry, 46(7), 1219.

Saitou, N. & Nei M. (1987). The neighbor–joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4:406–425.

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., & Chen, W. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (its) region as a universal DNA barcode marker for fungi. Proc Natl Acad Sci U S A, 109(16), 6241–6246.

Sett, R., Mishra, J. P. & Rana, P. K. (2016). Seed production of teak in different orchards of central India: The present scenario. International Journal of Science, Environment and Technology, 5(3), 969–990.

So, T., Theilade, I. & Dell, B. (2010). Conservation and utilization of threatened hardwood species through reforestation an example of Afzelia xylocarpa (Kruz.) Craib and Dalbergia

cochinchinensis Pierre in Cambodia. Pacific Conservation Biology 16(2): 101−116.

Soonhuae, P. (1994) Estimation of genetic variation in Thailand rosewood (Dalbergia cochinchinensis Pierre). Kasetsart University, Thailand. Thesis.

Soonhuae, P., Boyle, T. & Yeh, F. (1995). The population genetics of Dalbergia cochinchinensis Pierre and implications for genetic conservation. In Population genetics and genetic conservation of forest trees.

Srisomsap, C., Svasti, J., Surarit, R., Champattanachai, V., Sawangareetrakul, P., Boonpuan, K. & Chokchaichamnankit, D. (1996). Isolation and characterization of an enzyme with β−glucosidase and β−fucosidase activities from Dalbergia cochinchinensis pierre. The Journal of Biochemistry, 119(3), 585−590.

Stephen, F., Altschul, T. L. M., Alejandro A., Schäffer, Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & David J. Lipman. (1997). Blast 2.8.0+. Nucleic Acids Res. 25, pp.3389−3402.

Sucher, N. J. (2012). Plant DNA fingerprinting and barcoding. Springer Protocols.

Surarit, R., Matsui, H., Chiba, S., Svasti, J., & Srisomsap, C. (1996). Chemical modification of β-glucosidase/β-fucosidase from dalbergia cochinchinensis pierre by conduritol b epoxide. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 60(8), 1265-1268.

Svasti, J., Srisomsap, C., Techasakul, S., & Surarit, R. (1999). Dalcochinin-8′-o-β-d-glucoside and its β-glucosidase enzyme from *Dalbergia cochinchinensis*. Phytochemistry, 50(5), 739-743.

Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A. & Willerslev, E. (2007). Power and limitations of the chloroplast trnl (uaa) intron for plant DNA barcoding. Nucleic Acids Res, 35(3), e14.

Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Mol Biol. 17: 1105-1109.

Team, R. C. (2017). R: A language and environment for statistical computing: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from https://www.R-project.org/

Toonkool, P., Metheenukul, P., Sujiwattanarat, P., Paiboon, P., Tongtubtim, N., Ketudat-Cairns, M. & Svasti, J. (2006). Expression and purification of dalcochinase, a β-glucosidase

from dalbergia cochinchinensis pierre, in yeast and bacterial hosts. Protein expression and purification, 48(2), 195-204.

Toriyama, J., Hak, M., Imaya, A., Hirai, K., & Kiyono, Y. (2015). Effects of forest type and environmental factors on the soil organic carbon pool and its density fractions in a seasonally dry tropical forest. Forest Ecology and Management, 335, 147-155.

TRENDS, F. (2015). Conversion timber, forest monitoring, and land-use governance in Cambodia. Forest Trade and Finance.

Van Breugel, M., Hall, J. S., Craven, D. J., Gregoire, T. G., Park, A., Dent, D. H. & Ibarra, D. (2011). Early growth and survival of 49 tropical tree species across sites differing in soil fertility and rainfall in panama. Forest Ecology and Management, 261(10), 1580-1589.

Vosso, J. A. (2002) Tropical Tree Seed Manual. USDA Forest Service.

Vu Thi Thu, H. (2012). Genetic diversity among endangered rare dalbergia cochinchinensis (fabaceae) genotypes in vietnam revealed by random amplified polymorphic DNA (rapd) and inter simple sequence repeats (issr) markers. African Journal of Biotechnology, 11(35).

White T. J., Bruns T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press; pp. 315–322.

Widiyatno, Naiem, M., Purnomo, S., & Jatmoko. (2014). Evaluation of four years old progeny test of shoreamacrophylla in pt sari bumi kusuma, central Kalimantan. Procedia Environmental Sciences, 20, 809–815.

Wojciechowski, M. F., Lavin, M. & Sanderson, M. J. (2004). A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well–supported subclades within the family. Am J Bot. 91: 1846–1862

Yamada, Y. (1962). Genotype by environment interaction and genetic correlation of the same trait under different environments. Jap. J. Genetics 37: 4988509.

Zhang, F., Xu, C., Li, M., Chen, X., Zhou, Q., & Huang, A. (2016). Identification of Dalbergia cochinchinensis (cites appendix ii) from other three Dalbergia species using ft–ir and 2d correlation ir spectroscopy. Journal of the International Academy of Wood Science, 50(4), 693–704.

Abstract

Genetic Variation and Growth Characteristics among Open-pollinated Families of Burma Padauk (*Pterocarpus macrocarpus*) and Tracwood (*Dalbergia cochinchinensis*) in Cambodia

Yeom Da -Bin
Forest Environmental Science
College of Agriculture and Life Science
Seoul National University

A total of 200 plus trees of economic timber species, *Pterocarpus macrocarpus* KurZ. and *Dalbergia cochinchinensis* Pierre., were selected from across all natural stands in Cambodia. The plus trees were selected as mother trees so that the seeds from the 200 plus trees were collected and germinated for the establishment of half-sib (open-pollinated) progeny test plantation. There was a much variation of height and diameter at root collar (DRC) among plus trees and species. For *Dalbergia cochinchinensis*, the average age of selected 100 plus trees was 19.4 years old and the average of tree height was 14.8 m (ranged 7.0-25.0), and the

mean DBH was 25.5 mm (ranged 14.5−52.0), respectively. The scion of selected plus trees was collected and grafted for establishing two hectares clonal seed orchard of two species in 2016. The seed orchard was established with a spacing of 5 x 5 m. Statistical analysis was carried out on the basis of the height, root collar diameter (RCD), and crown−width growth measured for each species. The average height of *Pterocarpus* was 95.7 cm (ranged 73.6−127.1) and the average of RCD was 20.6 mm (range 16.9−26.5). *Dalbergia* had the average height of 133.5 cm and the mean of best family showed 140 % higher height (187.5 cm) than the average. The average of RCD was also 18.6 mm and the highest family showed 221% superiority compared to the lowest. According to the two−way ANOVA analysis, there were significant differences among families in both species. The individual heritability was 0.16 and the family heritability was 0.56. Since the heritability based on family mean was higher than the individual heritability, the family selection should be made rather than the individual selection. Among 100 open−pollinated in each species, the numbers of families showing higher height and DRC growth than grand mean were 26 families in *Pterocarpus macrocarp*us and 37 families in *Dalbergia cochinchinensis*. If we select the top 10 % individual (=thin out lower 90%) with superior height growth in seed orchards, the genetic gain of *Pterocarpus* and *Dalbergia* would be 24% and 28.8% for height growth, respectively.

As a result of phylogenetic analysis, 100 families of *Dalbergia cochinchinensis* were divided into 12 groups by genetic distance difference.

Keyword : open-pollinated families, genetic variation, progeny test, genetic gain, *Pterocarpus macrocarpus, Dalbergia cochinchinensis*

Student Number : 2016-27688