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

농학박사 학위논문

고창과 서귀포 편백 채종원에서 클론 간 개화, 결실 변이 및 유전 특성

Clonal Fertility Variation and Genetic Characteristics at the Seed Orchards of *Chamaecyparis obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

2023년 2월

서울대학교 대학원

농림생물자원학부 산림환경학 전공

박 지 민

고창과 서귀포 편백 채종원에서 클론 간 개화, 결실 변이 및 유전 특성

지도 교수 강 규 석

이 논문을 농학박사 학위논문으로 제출함
2022년 12월

서울대학교 대학원
농림생물자원학부 산림환경학 전공
박 지 민

박지민의 농학박사 학위논문을 인준함
2023년 1월

위 원 장 박 일 권 (인)

부위원장 강 규 석 (인)

위 원 김 현 석 (인)

위 원 이 희 재 (인)

위 원 김 인 식 (인)

초 록

편백은 우리나라의 목재 생산을 위한 주요 수종으로, 통직하고 가벼우며 향기와 광택이 있어 내장재, 선박재 등으로 사용되고 공원수나 정원수로도 널리 이용된다. 또한 정유와 향료 등 다양한 기능성 물질이 많아 최근 조림 선호 수종으로 주목받고 있으며 다양한 지역에서 식재를 시도하고 있다. 하지만 난대 수종으로 기후에 따라 조림목의 생존율이 매우 감소하는 경향을 나타내기 때문에 다양한 기후에 적응이 가능한 우수 종자 및 종묘의 보급이 시급하다. 임목 육종의 바탕을 이루는 채종원의 조성 목적은 유전적으로 개량된 종자를 안정적으로 생산하고 보급하는 데 있다. 유전적 개량은 수형목으로 증식된 채종목 간 자연 교배를 통해 생산된 차대(종자)로 개량하고자 하는 모수의 특성과 유전 구조가 전이되어 극대화되는 것을 의미한다. 이와 관련하여 클론 간 배우자 생산 능력과 기여도를 추정하고, 이들의 종자 생산 과정에 관여하는 유전 특성을 분석함으로써 채종원산 종자의 품질을 증명하고 효과적인 채종원 관리 방안을 제시할 수 있다. 본 연구에서는 1969년에 조성된 서귀포 편백 채종원과 2015년에 조성된 고창 편백 채종원에서 3년간(2020~2022년) 개화량 및 구과 생산량을 조사하여 얻은 자료를 토대로 생식 과정에 관계된 몇 가지 특성을 계량화하였다. 고창 채종원에서의 경우 61개 클론 중 전체 개화량의 50%에 기여하는 암구화의 상대적인 비율은 20~25%이었으며, 수구화의 상대적인 비율은

10~15%로 나타나 암구화가 수구화보다 다소 높게 나타났다. 배우체 수준에서 유효 집단 크기는 암구화의 경우 23.64(2021)~37.38(2022년)이었으며, 수구화는 15.52(2021)~19.84(2022년)로 암구화보다 다소 낮게 추정되었고, 구과 수준에서는 20.15(2022)~35.94(2021년)로 추정되었다. 서귀포 채종원에서는 23개 클론 중 전체 개화량의 50%에 기여하는 암구화의 상대적인 비율이 5~21%이었으며, 수구화의 상대적인 비율은 5~15%로 나타나 고창 채종원에서와 마찬가지로 암구화가 수구화보다 다소 높게 나타났으며 소수 클론에 의해 편중되는 현상이 다른 수종에 비하여 높게 나타났다. 배우체 수준에서 유효 집단 크기는 암구화의 경우 6.40(2021)~15.45(2022년), 수구화의 경우 4.32(2021)~9.58(2022년)로 암구화에 비해 다소 낮게 추정되었으며, 구과의 경우 7.30(2020)~10.71(2021년)로 추정되어 배우체 수준보다 높게 나타났다. 고창 채종원에서의 클론 간 개화량에 대한 개체 유전력은 암구화의 경우 0.150(2022)~0.309(2021년), 수구화는 0.161(2020)~0.326 (2021년), 구과는 0.013(2022)~0.133(2020년)으로 접합자 수준에서의 유전력이 낮게 추정되었다. 서귀포 채종원에서의 클론 간 개화량에 대한 개체 유전력은 암구화의 경우 0.086(2022)~0.297(2021년), 수구화의 경우 0.077(2021)~0.489(2020년)로 추정되었으며, 구과는 0.156(2022)~0.408(2021년)로 추정되었다. 그리고 두 채종원 모두에서 개체 유전력보다 클론 유전력이 매우 높았다. 암, 수구화 개화량과 구과 생산량 간 상관분석 결과, 2020년도 서귀포 채종원에서의 수구화와 구과 생산량은 유의한 상관을 보이지 않았으며, 이를 제외한 나머지는 모두 유의한 정의 상관을

보였다. 2020년부터 2021년까지 2년간 고창과 서귀포 채종원에서 전수로부터 개체목당 10개 구과를 채취하여, 클론 간 구과와 종자의 특성을 분석하였다. 고창 채종원에서의 경우 2020년의 충실 종자율은 72.69%, 비립 종자율은 27.31%, 고사 배주율은 11.57%, 종자 효율은 57.96%로 추정되었다. 2021년의 충실 종자율은 56.43%, 비립 종자율은 43.57%로 충실 종자율과 비립 종자율의 비율이 유사하였다. 종자 효율은 46.98%로 추정되어 2020년에 비해 다소 낮게 나타났으며, 발아율은 클론당 평균 5.09%로 매우 저조하였다. 서귀포 채종원에서의 경우 2020년의 충실 종자율은 9.46%, 비립 종자율은 90.54%, 고사 배주율은 33.06%로 확인되어 충실 종자 결실이 매우 저조하였으며, 종자 효율이 7.51%로 낮게 추정되었다. 2021년의 충실 종자율은 25.77%, 비립 종자율은 74.23%, 고사 배주율은 3.33%로 추정되었다. 종자 효율은 24.36%로 2020년에 비해 종자 효율은 증가하였지만 충실 종자 결실이 저조하였다. 클론당 평균 발아율은 3.13%로 고창 채종원에서와 마찬가지로 매우 저조하였다. 고창과 서귀포 채종원의 유전 모수를 확인하기 위하여 microsatellite 표지를 이용하여 2021년에 생산된 성숙 종자를 대상으로 타가 교배율과 화분 오염률, 근친 교배율을 확인하였다. 고창 채종원의 모수에서 확인된 이형 접합도 기대치는 0.740이었으며, 관측치는 0.796으로 추정되었다. 종자에서 확인된 이형 접합도 기대치는 0.702이었으며, 관측치는 0.756이었다. 모수와 종자의 고정지수는 각각 −0.062와 −0.074로 나타났다. 서귀포 채종원의 모수에서 이형 접합도 기대치는 0.683이었으며, 관측치는 0.667로 확인되었다. 종자에서 확인된

이형 접합도 기대치는 0.704이었으며, 관측치는 0.740으로 추정되었다. 모수와 종자의 고정지수는 각각 0.037과 −0.206으로 도출되었다. MLTR 프로그램을 이용하여 분석한 타가 교배율은 고창의 경우 0.982이었으며, 근친 교배율은 0.028이었다. 부계 상관은 0.172로 추정되었다. 서귀포 채종원에서의 경우 타가 교배율은 0.100으로 매우 높게 추정되었으며, 근친 교배율은 0.059로 산출되었다. 부계 상관은 0.064로 추정되었다. CERVUS 프로그램을 이용하여 분석한 고창 채종원에서의 타가 교배율은 클론 간 평균 94.21%였으며, MLTR 프로그램으로 분석한 결과와 유사하였다. 화분 오염률은 1.1%, 자가 교배율은 4.69%로 추정되었으며 기여 화분친 수는 평균 11.1개이었다. 서귀포 채종원에서의 경우 타가 교배율은 95.14%, 자가 교배율은 4.86%로 확인되었으며 기여 화분친 수는 평균 10.8개로 확인되었다. TwoGener 방법으로 화분원의 분산을 확인한 결과, 고창 채종원에서의 경우 임분 밀도를 ha당 130본으로 하였을 때 화분원의 유전적 분화는 0.134였으며, 평균 유효 화분 이동 거리는 5.990m로 추정되었다. 서귀포 채종원에서의 경우 임분 밀도를 ha당 125본으로 추정하였으며, 화분원의 유전적 분화는 0.330이었고, 평균 화분 이동거리는 3.892m로 추정되었다. 이와 같이 고창과 서귀포 편백 채종원 모두 타가 교배율이 높게 추정되었으므로, 채종원산 종자로 생산된 편백 묘목의 경우 자가 교배로 인한 근교약세가 원인이 되는 불량 형질은 발생할 가능성이 낮을 것으로 기대되었다. 하지만 기여 화분친 수의 비율이 고창 편백 채종원의 경우 자연 집단에서 기여하는 화분친 수와 유사하게 나타나 유전 다양성을 높이기 위한 화분원의 관리가

필요할 것으로 판단되었다.

주요어: 개화량 변이, 교배 양식, 구과 분석, 유전 다양성, 편백, 화분 오염률

학 번: 2017-34070

목 차

초록.....i
LIST OF TABLES.....viii
LIST OF FIGURES.....xiv
제1장 서론..... 1
제1절 연구의 배경 및 필요성..... 1
제2절 연구 목적..... 4
제2장 연구사..... 6
제1절 편백(*C. obtusa*)의 유전 및 생태..... 6
제2절 채종원 내 개화 · 결실량 변이 연구..... 12
제3절 채종원산 종자의 구과 분석..... 20
제4절 DNA 표지를 이용한 교배 양식 연구..... 23
제3장 재료 및 방법..... 30
제1절 연구 대상지 현황..... 30
제2절 개화 및 구과 생산량..... 32
제3절 구과 및 종자 특성 분석..... 33
제4절 통계 분석 및 유전력 추정..... 37
제5절 누적 기여도 곡선..... 37
제6절 유효 집단 크기 및 유전 다양성 추정..... 39
제7절 Microsatellite 표지 분석..... 40
제8절 유전 구조 및 교배 양식 분석..... 44
제4장 결과.....48
제1절 개화 · 결실량.....48
1.1 클론 간 개화량 및 구과 생산량 변이.....48

1.2 누적 기여도 곡선 50
1.3 유효 집단 크기 및 유전 다양성 추정 53
1.4 유전력 추정 55
1.5 개화 및 구과 생산량 간 상관관계 분석 61
제2절 구과 및 종자의 유전 다양성 64
2.1 구과의 형태적 특성 64
2.2 종자 특성 분석 66
2.3 구과 및 종자 특성의 유전력 추정 69
2.4 구과 및 종자 특성 간 상관관계 분석 71
2.5 발아력 검정 75
제3절 교배 양식 분석 75
3.1 유전 다양성 분석 75
3.2 교배 양식 84
3.3 화분원의 유전적 분화 86
3.4 부계 유전자형 및 화분 오염률 추정 86
제5장 고찰 94
제1절 개화량 및 구과 결실량 변이와 유전 다양성 94
제2절 구과 분석 및 종자 특성 분석 99
제3절 교배 양식 분석 105
제6장 결론 114
참고 문헌 117
Appendix 141
Abstract 240

LIST OF TABLES

Table 1. Estimation of heritability (h^2) using variance components..... 38

Table 2. Microsatellite markers for *C. obtusa* used in this study..... 43

Table 3. Clonal average (mean), sibling coefficient (Ψ), effective population size (N_s), relative population size (N_r), and genetic diversity (*GD*) for female and male strobili, and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea 56

Table 4. Clonal average (mean), sibling coefficient (Ψ), effective population size (N_s), relative population size (N_r), and genetic diversity (*GD*) for female and male strobili, and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea 57

Table 5. Analysis of variation and heritability (h^2) estimates for the strobilus and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea 58

Table 6 Analysis of variation and heritability (h^2) estimates for the strobilus and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea..... 60

Table 7. Pearson's (above the diagonal) and Spearman's (below the diagonal) correlation coefficients among female and male strobili, and cone production at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea..... 62

Table 8. Spearman's correlation coefficients among years at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea..... 63

Table 9. Cone characteristics among clones at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea 65

Table 10. Seed characteristics among clones at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea 68

Table 11. F-value, variance components (σ^2), and narrow-sense heritability (h^2) based on the analysis of cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea 70

Table 12. F-value, variance components (σ^2), and narrow-sense heritability (h^2) based on the analysis of cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea 72

Table 13. Pearson's correlation coefficient between cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea from 2020 (below diagonal) to 2021 (above diagonal) 73

Table 14. Pearson's correlation coefficient between cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea from 2020(below diagonal) to 2021 (above diagonal) 74

Table 15. One-way ANOVA of seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 76

Table 16. Pearson's correlation coefficient and Spearman's correlation coefficient of seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 77

Table 17. Polymorphic information of 10 microsatellite markers at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea.....79

Table 18. Genetic diversity of the adult clones and the seeds at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on the analysis using 10 microsatellite markers.....80

Table 19. Genetic diversity of the adult clones and the seeds at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea based on the analysis using 10 microsatellite markers.....82

Table 20. Polymorphic information and exclusion probabilities of 10 microsatellites markers at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea.....83

Table 21. Estimates of inbreeding parameters from progeny arrays at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea in 2021 based on the analysis using 10 microsatellites markers....85

Table 22. Summary of analysis of molecular variance (AMOVA) at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea in 2021.....87

Table 23. Pollen dispersal estimation for 5 density values at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea.....88

Table 24. Paternity analysis of seeds from mother trees at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea.....90

Table 25. Pollen contamination rates trees at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on at least 9 loci.....91

Table 26. Outcrossing and selfing rates at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on at least 6 loci 92

Table 27. Outcrossing and selfing rates at the seed orchards of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea based on at least 6 loci 93

Table A1. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 141

Table A2. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 147

Table A3. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2022 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 153

Table A4. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 159

Table A5. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C), at the seed orchard of *C. obtusa*

in Seogwipo, Korea in 2021 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 162

Table A6. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2022 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 165

Table A7. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 168

Table A8. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 176

Table A9. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 184

Table A10. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 188

Table A11. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard *of C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post−hoc Tukey−HSD test ($p < 0.05$) 192

Table A12. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 212

Table A13. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 224

Table A14. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$) 231

Table A15. Seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 238

Table A16. Seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 239

LIST OF FIGURES

Figure 1. Biogeographic distribution of genus *Chamaecyparis* 7

Figure 2. Location (A) and landscape at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang (B, C) and Seogwipo (D, E), Korea 31

Figure 3. Female (A) and male strobili (B), and mature cones (C) of *C. obtusa*..... 34

Figure 4. Morphological characteristics of mature cone collected from the seed orchard of *C. obtusa* 35

Figure 5. Test for seed germination of *C. obtusa*..... 36

Figure 6. Layout (A) and selected 30 mother trees marked with red for mating system analysis (B) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea 41

Figure 7. Layout (A) and selected 5 mother trees marked with red for mating system analysis (B) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea..... 42

Figure 8. Female and male strobilus, and mature cone production at the seed orchards *C. obtusa* in Gochang (A) and Seogwipo (B), Korea during 2020~2022.....49

Figure 9. Parental balance curves for accumulated contribution of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) to the proportion of clones at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea during 2020~2022.....52

Figure 10. Parental balance curves for accumulated contribution of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) to the proportion of clones at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea during 2020~2022 54

제1장 서론

제1절 연구의 배경 및 필요성

임목은 일반 작물과는 달리 생장 기간이 길고, 부피가 커서 실내 환경에서 다루기가 어렵다. 또한 생육 환경의 국소적인 변화에 민감하다는 특징이 있으며, 유전적으로 잡종성이 매우 높고 근교약세가 일어나기 쉽다. 따라서 임목 육종은 단계적으로 우수한 유전자를 반복 선발해야 하며, 품종 개량을 위해 유전 다양성이 확보된 우량한 종자를 사용하는 등 장기적인 방법으로 접근해야 한다.

임목을 육종학적 방법에 의해 단계적으로 개량시키는 방법 중 하나로 수형목 선발에 의한 채종원 조성 기법이 있다. 채종원은 유전적으로 개량된 우수한 종자의 안정적인 공급을 목적으로 조성된 임분으로 개체목의 식별이 가능하도록 선발 위치, 조성 내역 등의 정보가 구축되어 있고, 종자 생산과 개체의 성장에 유리한 공간을 유지하기 위해 유전 간벌, 수형 조절 등 강도 높은 관리가 이루어지는 집단이다(Feilberg and Soegaard, 1975).

채종원산 종자의 개량 효과를 극대화하고 안정적인 유전 다양성을 유지하기 위해서는 1) 채종원 외부로부터 화분의 유입이 되지 않아야 하고, 2) 채종원을 구성하는 각 채종목에서 균등하게 암·수꽃이 생산되어야 하며, 3) 채종목 간 개화 시기가 일치하여 수분, 수정이 채종목 개체 간에 이루어져야 한다. 그리고 4) 채종목 간 완전 임의 교배가 이루어지고, 5) 근친 교배(inbreeding)가 무시될 정도로 낮게 일어나야 한다는 것이 전제되어 있다(El-Kassaby and Cook, 1994; Funda and El-Kassaby, 2012). 하지만 이와 같은 조건은 현실적으로

존재하기 어렵다. 따라서 실제 채종원산 종자의 개량 효과와 유전 다양성은 이상적인 조건에서보다 감소하지만 숲 조성을 위해 유전적으로 개량된 채종원산 종자를 사용하였을 때 생산성이 매우 높게 향상되었다는 보고가 있다(Edwards and El-Kassaby, 1996; Nikkanen and Ruotsalainen, 2000).

채종원에서 개체목들이 종자의 개량 효과에 미치는 영향의 수준을 알고자 할 때 유효 집단 크기(effective population size)의 개념을 이용한다. 유효 집단 크기는 집단 내 개체들이 동일한 수의 차대를 가질 것으로 기대되는 이상적인 집단에서의 크기이며 장기 임목 육종에서 유용한 지표로 사용된다(Wright, 1931). 유효 집단 크기는 집단 내 분산으로 도출되며 20~30 정도를 유전적으로 안정된 수준으로 판단한다(Lindgren and Mullin, 1998).

채종목의 밀도와 수령 그리고 개화 특성은 균일한 배우자 생산 및 임의 교배의 기회에 영향을 미치며 종자 생산에 기여하는 유효 집단의 차이를 발생시킨다(Burczyk et al., 1996; Mitton, 1992). 대부분 채종원에서는 종자 생산에 클론 간 불균등한 기여로 인한 유전 다양성 감소 등의 문제가 발생하고 있으며, 채종원과 같은 소규모 집단의 경우 유효 집단 크기가 감소하면 근연 간 근친 교배와 자가 교배가 증가하여 종자의 충실률과 발아율이 감소할 것으로 추정되었다(Mimura and Aitken, 2007).

자연적인 임의 교배를 통한 유전 다양성을 유지하는 것은 채종원 내 종자의 품질을 보증하고 나아가 조림 지역에서 적응성을 확보하는 데 중요한 지표가 된다. 하지만 제한된 유전자 교류는 집단 내 공간적 유전 구조를 형성하며 대립 유전자를 감소시켜 근친 교배의 증가와 유전 다양성의 감소를 유발할 수 있다(Carneiro et al., 2011). 즉, 타가

교배는 집단의 유전적 구조를 안정적으로 유지해 주는 반면 자가 교배 및 근연 교배는 집단 내 유전 변이를 감소시킨다.

따라서 채종목 간 개화량과 종자 생산량의 변이에 대한 유효 집단 크기와 채종원 내 유전 변이를 결정하는 화분 이동과 교배 양식을 추정하는 것은 채종원산 종자의 유전 다양성 보존과 임목 육종의 결과를 검증하는데 중요한 자료가 된다.

편백(*Chamaecyparis obtusa*)은 일본 원산의 상록 침엽 교목으로 우리나라에는 1904년에 도입되었으며, 주로 제주도 및 남부지방에 조림한 수종이다. 특히 최근에 산림 갱신지나 솔껍질깍지벌레 피해지와 같은 산림 재해 발생지를 중심으로 대면적에 조림되었으며, 남부지방의 소나무재선충병 피해지에 식생 복원을 위한 후계림으로 가장 선호되고 있어 편백의 생태적 특성과 관련한 다양한 연구가 수행된 바 있으며 (고영석과 박인협, 2005; 김춘식 등, 2020; 박석곤 등, 2015; 박준형 등, 2019; 유찬열 등, 2016; 허만규 등, 2005), 대량 조림을 위한 우수 종자의 요구 또한 높아졌다.

편백은 1960년부터 우리나라 주요 조림 수종으로 채택되었으며, 개량 종자의 대량 생산을 위해 전국에서 선발된 수형목을 대상으로 1969년부터 4ha의 채종원을 조성하기 시작하였다. 2022년 현재 86ha의 편백 채종원이 조성되어 있으며, 채종원 조성 및 관리 추진 계획에 따라 2026년까지 150ha로 확대할 계획이다(NFSV, 2017).

우리나라의 임목 육종 목표는 1990년대까지 황폐화된 산림을 복구하고 목재 수요의 87%를 수입 외재에 의존하던 현실을 반영하여 재적 생장과 이와 관련된 형질의 개량에 초점을 맞추어 왔다. 그러나 최근에는 용재 생산을 위한 경제적인 가치와 더불어 산림 휴양 및 치유와 같은 다양한 생태계 서비스 기능을 발휘하는 산림자원으로서

관심이 증가하고 있다. 특히 편백은 다양한 기능성 숲을 위해 지역을 불문하고 조림 선호 수종으로 선택되고 있지만, 기후에 따라 조림목의 생존율이 매우 감소하는 경향이 있어 조림 지역의 다양한 기후에 적응이 가능한 우수 종자 및 종묘의 보급이 시급하다.

따라서 우량 종자와 종묘의 원활한 공급을 위해 개화 결실에 대한 연구와 채종원산 종자의 개량 효과에 대한 연구가 반드시 필요한 실정이다. 하지만 현재 국내에서는 편백 채종원의 개화량 변이와 종자의 유전 다양성에 대한 선행 연구는 매우 부족하며, 교배 양식에 대한 연구는 이루어진 바 없다.

제2절 연구 목적

본 연구의 목적은 국내 편백 채종원에서 개화량 및 구과 생산량 변이와 교배 양식의 유전 변이 분석을 통해 클론 간 기여도를 추정하여 우수 종자의 유전적 개량 효과 예측에 대한 편차 감소 및 채종원 관리 상황과 채종원산 종자의 유전 다양성을 평가하는 것이며 세부 목적은 다음과 같다.

첫째, 클론 간 개화 및 구과 생산량의 변이를 분석하여 채종원산 종자의 유효 집단 크기와 클론 간 기여도 및 유전력을 추정한다.

둘째, 구과 분석으로 종자 특성을 도출하여 유전력을 추정하고, 구과의 형태적 특성과 종자 특성 간 상관관계를 구명한다.

셋째, 편백 채종원에서 생산된 종자를 대상으로 microsatellite 표지를 이용하여 채종원 내 교배 양식 분석을 통해 종자의 유전 다양성을 평가한다.

이를 통해 채종원산 종자의 유전 모수를 추정하고, 유전적 품질을

파악함으로써 채종원 관리 방법을 도출함과 동시에 임목의 개량 효과를 높여 가기 위한 진전세대 육종 재료를 선발하는 기초 자료로 제공할 수 있을 것이다.

제2장 연구사

제1절 편백(*C. obtusa*)의 유전 및 생태

측백나무과(Cupressaceae)는 지구 전체에 걸쳐 자라는 유일한 침엽수로 노간주나무속(*Juniperus*)은 54종으로 종 수가 가장 많은 것으로 알려져 있으며 그외 대부분의 속은 7종 이하이다(공우석, 2004). 최신 화석 증거와 현대 분자 생물학의 연구 결과에 따르면 나누어진 편백속은 동아시아(일본, 대만)에 4종과 미국의 서부와 동부에 각각 1종으로 총 6종이 분포하며, 그외 *C. eureka*와 *C. linguaefolia*같이 화석 기록으로만 남아 있는 멸종한 종도 있다(Farjon, 2005; Hwang et al., 2001; Kotyk et al., 2003; Wang et al., 2022; Zobel, 1985).

현존하는 6종의 분포를 살펴보면 *C. lawsoniana*(Port Orford cedar 또는 Lawson cypress)는 북미의 서해안을 따라 제한된 범위에서 존재하며, *C. thyoides*(Atlantic white cedar, Atlantic white cypress, southern white cedar, white cedar, false-cypress)는 북미 대서양 연안이 원산지로 동부 해안을 따라 넓은 분포로 존재한다(Farjon, 2005). 일본 고유종인 *C. pisifera*(Sawara cypress)와 대만에 *C. formosensis*(Formosan cypress, Taiwan cypress)가 분포하며, *C. obtusa*(Japanese cypress, hinoki cypress, hinoki)는 일본과 대만(*C. obtusa*의 아종으로 분류되는 *C. taiwanensis*)에 모두 분포한다. *C. hodginsii*는 중국과 베트남에 분포한다(Farjon, 2005; Mao et al., 2010)(Figure 1).

분자 생물학 방법 또는 화석 기록을 사용하여 편백속의 진화와 분포에

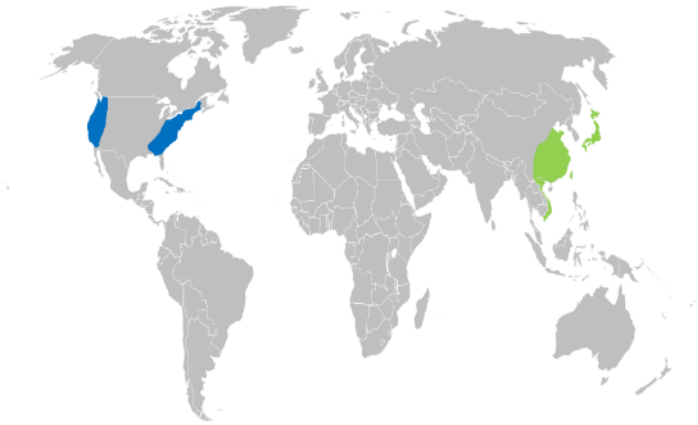


Figure 1. Biogeographic distribution of genus *Chamaecyparis*

대해 몇 가지 연구가 수행되었으나 분류학적 논의는 여전히 진행중이다(Li et al., 2003; Liao et al., 2010; Little, 2006; Wang et al., 2003; Wang et al., 2022).

편백은 일본 원산의 상록 침엽 교목으로 회목(檜木), 노송나무, 히노끼(hinoki, ひのき) 등으로 일컫는다. 자연 집단에서 평균 수고는 30~40m이며, 폭은 1~2m 가량 자란다. 잎의 뒷면에는 Y자형 기공이 있다. 꽃은 4월에 피고 암수 한 그루로 암수가 각각 다른 가지에 달리며 수꽃은 황색이다. 열매는 구형으로 지름 1~2cm 정도이고 갈색이며 8~10개의 인편으로 되어 있다. 구과는 9~10월에 갈색으로 성숙하며, 종자는 길이가 약 3.4mm, 너비가 약 3mm로 2개의 자낭과 좁은 날개가 있으며 적갈색이다(Ishii, 2013).

생리 생태적 특성을 보면 음수이며 내한성이 약해 국내 중부지방에서는 생장이 저조한 대표적인 난대 수종으로 알려져 있는데, 국내에서는 경남과 전남 해안지역, 제주도에 한정되어 분포하고 있다. 가뭄 스트레스에 강하기 때문에 비교적 건조한 장소에 심는 것이 가능한 것으로 알려져 있으나(Nagakura et al., 2004; Tsuji et al., 2022) 토양 습도가 적당하고 비옥한 사질 양토에서 생육이 왕성한 특성을 가지고 있다(Son et al., 2014).

편백 목재는 강도가 높고 보존성이 좋아 건축재, 조각재, 선박재, 무늬 단판 등으로 쓰이며 펄프를 원료로 한 종이는 변질의 우려가 적어 곡물이나 차 등의 포장재로 사용된다(Cheng et al., 2007; Kofujita et al., 2002; Son et al., 2014). 또한 정유의 약용 효능이 확인된 바 있어 최근에는 주로 기능성 물질 분석에 대한 연구가 이루어지고 있다(Raha et al., 2019).

현재 산림 갱신지나 병해충 피해 지역과 같은 산림 재해 발생지의

식생 복원을 위한 대체 수종으로 가장 선호되고 있으며(김춘식 등, 2020), 편백 특유의 향기와 항균 물질 등으로 그 유용성이 알려지면서 휴양림 조성 등 전국적으로 조림 수요가 증가하고 있어, 조림 적지에 대한 연구가 일부 이루어졌다(Son et al., 2014; Yang et al., 2007).

편백은 1904년에 일본에서 도입되어 제주도 및 남부 해안지방에 식재되었다(Choi et al., 2012). 1960년부터 우리나라 주요 용재 수종으로 채택되어 조림하기 시작하였으며, 1970년대 초부터 구체적인 적응성 검정을 시작하였다(Choi et al., 2012). 1960년부터 1980년까지 총 114본의 편백 수형목을 선발하였으며, 1980년 이후에 총 147클론에 대한 클론 보존원이 조성되었다(한상억 등, 2007). 개량 종자 생산을 위해 1969년에 제주 서귀포시에 4ha의 편백 채종원 조성을 시작으로, 2018년까지 총 86ha의 편백 채종원이 조성되어 운영되고 있다.

편백은 전체 채종원 면적의 74%를 차지하고 있는 6개 수종 중 3위에 해당한다. 경제림 조성에 유리하고 신기후 체제 대응 및 목재 수요 증가에 따른 조림 수요에 부응하기 위해 우량 종자의 안정적인 공급을 위한 '채종원 조성 및 관리 추진 계획'에 따라 2026년까지 150ha로 확대할 계획이므로(NFSV, 2017) 현재 조성되어 있는 편백 채종원에서 유전 다양성 평가 연구는 추후 조성될 편백 채종원과 진전세대 채종원에 적용 가능한 기초 자료로 그 가치가 높다.

국내에서 선행된 편백의 생장과 관련된 연구로는 입지 환경에 따른 편백의 초기 생육 특성 분석 및 부위별 양분 비교 연구(양아람 등, 2013; 2014), 편백림에서 입지 환경 요인과 연륜 생장량의 상관성 분석 연구(Park et al., 2015), 편백림에서 솎아 내기 방법에 따른 생장 효과와 적절성 연구(박준형 등, 2019), 그외 바이오매스 변화와 관련된 다양한 연구(김춘식 등, 2020; 이영진 등, 2006) 등이 주로 편백

조림지를 대상으로 수행되었다.

편백의 적응성 및 개량과 관련한 선행 연구로는 일본에서 우수 가계로 선정된 편백 18개 가계에 대한 도입 종자의 초기 생장부터 42년생(2012년)까지 연령별 수고와 흉고 직경 생장을 분석한 연구(Choi et al., 2012)가 있으며 그 결과 선발된 가계의 생장 양상과 우수 산지, 가계 등에 대한 국내 적응성 검정에서 가계 간 수고와 흉고 직경 생장의 유의한 차이가 확인되었다. 흉고 직경의 생장 변화가 수고 생장보다 복잡하게 나타났으며 생장이 우수한 상위 3개 가계의 경우 6~9년 사이에 신속한 생장을 하다가 이후 불규칙한 생장을 하고, 37~45년 사이에 다시 증가하는 양상이 나타났다. 반면 하위 3개 가계의 경우 37~45년 사이에 생장 폭이 대폭 감소하는 특징을 나타내었다. 그리고 편백의 수고와 흉고 직경, 재적에 대한 개체 유전력은 0.3 이상, 가계 유전력은 0.6 이상으로 추정되어 개체 유전력에 비해 가계 유전력이 매우 높게 나타난다는 경향을 보고한 바 있다(Choi et al., 2012).

1982년에 조성된 서귀포 채종원에서 개화량 변이를 활용한 클론 간 배우자 기여도와 종자 생산량 분석 연구(한상억 등, 2014; Kang and Mullin, 2007)에서 2002년부터 2010년까지 자성 배우자(암구화)와 웅성 배우자(수구화), 접합자(구과)의 유효 집단 크기가 모두 20 이상으로 추정되어 유전적으로 안정된 상태를 나타내는 것으로 보고하였다. 동일 집단에서 종자의 생산량 변이에 관한 연구(NiFoS, 2014)는 2002년부터 2008년까지 조사하였으며, 대부분 자성 및 웅성 배우자 수준에서 유효 클론 수가 높게 추정되었으나, 극심한 흉년을 보였던 해의 경우 접합자 수준의 유효 클론 수가 자성 및 웅성 배우자 수준보다 높게 추정되는 예외적인 결과를 나타내었다. 연도별 자화 누적

기여도에서 채종원내 클론 중 20%만이 전체 개화량의 약 50%를 차지하는 것으로 나타나 소수 클론에 편중되어 있었으며, 종자 생산량의 감소를 예측한 바 있다.

유전 간벌에 의한 편백 채종원의 종자 생산력에 미치는 영향에 대한 연구에서 간벌 강도별 구과 결실량이 많아졌으며 종자가 크고 무거워지는 경향이 나타났었고, ha당 종자 생산량에 있어 간벌 강도에 따른 고도의 유의성을 확인하였다(Lee et al., 2006). 국외의 경우 일본 내 편백 집단의 생리학, 형태학, 해부학, 생태학에 대한 다양한 환경 조건과 수령에 따른 360건 이상의 연구를 수행하였으며, 이에 따라 편백에 대한 많은 양의 정보가 구축되어 있다(Goto et al., 2008; Ishii, 1986, 2002; Osone et al., 2020). 또한 채종원과 차대 검정림에서 클론 간 개화량과 구과 및 종자 생산량의 변이 분석을 통해 유전적 다양성을 추정한 연구(Endo and Akasi, 2003; Tang and Ide, 2001)와 동위효소(allozyme), chloroplast DNA(cpDNA), microsatellite 표지 등을 이용하여 채종원에서 유전 모수와 화분 오염률 등 유전 변이를 분석한 연구가 다수 있다(Iwaizumi et al., 2011; Seido et al., 2001; Shiraishi et al., 2001; Tang and Ide, 1998).

이상 국내에서는 20세기 초에 도입된 편백 차대 검정림에서 일부 가계에 대한 생장과 적응성 연구가 이루어졌으며, 주로 편백 조림지에 대한 생장 특성 연구와 바이오매스, 목재 추출물에 대한 연구가 대부분이었다. 채종원의 개화 및 결실 증진과 관련된 연구를 수행한 바 있으나 매우 한정적인 집단을 대상으로 이루어졌으며, 2000년대 이후 신규 조성된 편백 채종원에 대한 연구는 수행한 바 없다. 종자의 유전 다양성과 유전 모수를 추정하는 연구 또한 이루어진 바 없으며 현재까지는 선발된 수형목으로 조성된 채종원에서 종자를 생산하는

단계에 그쳐 있어 편백 종자의 품질을 평가할 명확한 근거가 없는 실정이다. 따라서 채종원산 편백 종자의 생산성과 품질을 향상시키고, 진전세대 채종원 조성을 위한 연구 기반을 마련하기 위해 채종원 내 클론별 개화 결실량과 종자 생산 기여도, 그리고 구과 및 종자 생산량의 변이를 정확하게 파악하고 생산된 종자의 유전 모수에 대한 분석을 체계적으로 수행할 필요가 있다.

제2절 채종원 내 개화·결실량 변이 연구

우리나라의 산림 면적은 약 630만ha로 전체 국토 면적의 62.7%를 차지하고 있다(KFS, 2021). 현재 국내에서는 산불 피해 지역이나 산림 훼손지와 같은 지역에서 우량 임분을 조성하기 위하여 인공 조림을 실시하고 있으며, 이러한 조림을 위하여 사용되는 종자 생산은 채종임분, 채종림, 채종원 등 '종자 공급원'에서 보급된다.

채종원은 유전적으로 개량된 종자를 생산하기 위해 형태학적으로 우수한 나무들을 선발하여 유전 간벌, 수형 조절 등 강도 높은 관리가 이루어지는 곳으로 점진적인 임목 육종 방법 중 가장 많이 사용되는 선발 육종의 기법이다. 자연 임분에서 우수한 개체를 선발하여 일정 장소에 식재한 뒤, 상호 교배가 이루어지게 하여 이로부터 개량된 종자를 생산한다는 개념은 1760년에 Moncean에 의해 주창되었으며, 실제적인 임업에서 적용된 시기는 20세기 초반이다. 1906년 Anderssen은 무성 증식에 의한 육종 방법을 시도하였고, 1909년 Johannsen은 우량 임분에서 우량 개체로부터 차대 검정을 실시하였고 그 결과를 종자 공급원(seed plantation)으로 조성할 것을 제안하였다. 1923년 Oppermann은 실생묘 채종원 조성을 제창하여 '종자

농장(seed farm)'이란 용어를 사용하였으며, 1931년 Scrymgeour-Wedderburn이 잡종강세를 이용하기 위해 구주 낙엽송과 교잡 낙엽송의 실생묘 채종원을 조성한 데서 현재의 채종원이 만들어 진 것으로 파악된다(Fennesy et al., 2012; Jansson et al., 2017; Parthiban et al, 2020; Prescher, 2007).

채종원에 관한 본격적인 연구는 1930년대부터 스웨덴을 중심으로 이루어졌으며, 세계적으로 조림용 종자 생산 보급에 큰 변화를 가져왔다. 스웨덴, 뉴질랜드, 미국 등 임업 선진국에서는 1950년대부터 채종원 조성 사업을 통해 주요 수종의 조림용 종자 대부분을 채종원산으로 공급하고 있으며 진전세대 채종원 조성을 통해 산림 생산성 향상과 산림 종자의 관리를 철저히 하고 있다(Parthiban et al., 2020). 우리나라에서는 1968년에 채종원 조성 5개년 계획을 시작으로 낙엽송 채종원이 가장 먼저 조성되었으며 수종 비율, 채종원 조성 부적합 지역 보완 등 수 차례의 조정을 거쳐 2022년 현재 소나무, 편백 외 62개 수종으로 총 996.4ha의 채종원을 조성하여 운영하고 있다(NFSV, 2022).

임목 육종학에서 집단이란, 개체목들의 유전적 구성과 세대 간 유전 양상 등을 연구하는 유전적 집단을 의미하며, 임목 집단에서 유전자 전이는 꽃가루와 종자의 이동을 모두 포함한다. 그리고 한 집단에서 유전자 빈도의 변화는 집단의 크기, 개체 간 생식력 차이, 유전자 이입(migration), 돌연변이(mutation), 교배 양식(mating system) 등에 의하여 영향을 받는다(Burczyk et al., 2004).

채종원 종자 생산을 연구하기 위해서는 기본적으로 자화(암꽃)와 웅화(수꽃)의 개화 시기와 개화량에 대한 정보가 필요하다. 채종목 간 개화 시기의 불일치는 자연 임의 교배의 기회를 상실하게 하며, 클론 간

개화량 차이는 다음 세대에 대한 배우자(gamete) 기여도를 균일하게 하지 못하게 하여 유전자 빈도의 변화에 영향을 미치기 때문이다.

개화 시기는 종에 따라 분포지에서 벗어나 다른 장소에 식재하였을 경우 변화된 환경의 영향으로 개화 시기에 변동이 일어날 수 있다. 개화 시기의 변동은 채종원의 종자 생산 과정에 편중 교배(negative assortative mating), 유전자 부동(genetic drift) 등으로 인한 자배(selfing)의 증가와 유전적 개량 효과에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 따라서 수형목이 선발된 지역 내에서 개화 시기와 채종원 내에서 개화 시기의 변화 정도를 구명하기 위해 소나무, 잣나무, 리기테다소나무 등의 수종을 대상으로 선발 지역과 조림 지역에서 개화 시기를 비교한 연구를 수행하였다. 그 결과 선발 모집단 간에 개화기는 약 10~18일간의 차이를 나타냈으나, 만개하는 시기가 일치하여 개화기 차로 인한 종자 생산 과정의 불리한 영향은 없을 것으로 판단되었다(한상억 등, 2014).

유효 집단의 크기는 집단 내 개체들이 동일한 수의 차대를 가질 수 있는 이상적인 집단의 크기를 의미한다(Lindgren and Mullin, 1998; Wright, 1931). 일반적으로 채종원 집단을 구성하는 개체목들은 다음 세대의 유전자 풀에 균일하게 기여하지 않기 때문에 그 집단의 세대 간 변화를 알고자 할 때, 집단 내 실제 개체 수(census number)를 이상적 집단에서의 개체 수와 상응하는 숫자로 확인해야 할 필요가 있다. 가장 적절한 수준의 유효 집단의 크기에 대해서는 여러 가지 주장이 있지만 일반적으로 20~30 정도로 알려져 있다. 그러나 세대 간에 유효 집단 크기를 30 이상으로 유지하기 위해서는 초기 선발목의 수가 50~100 이상이 되어야 하며, 200 이상이 되어야 한다는 주장도 있다(Lindgren and Mullin, 1998; Lindgren and Prescher, 2005).

유효 집단 크기는 임목의 경우 암수의 구별이 뚜렷하고, 자웅이주이면서 자배가 일어나지 않는다는 가정 하에 추정되며, 세대마다 독립적으로 추정할 수 있어 유전 다양성에 대한 직관적인 비교가 가능하다.

$$N_e = \frac{4N_f\,N_m}{N_f + N_m}$$

여기서 N_f는 암꽃의 개체 수이며, N_m은 수꽃의 개체 수이다. 따라서 암수의 개체 수가 동일할 경우, 실제 집단의 크기와 유효 집단 크기는 동일하게 되며, 집단 내 세대가 중복되어 있거나 개체 간 번식률에 차이가 있을 경우에 유효 집단 크기는 실제 집단의 크기보다 작아진다.

만약 집단 내 모든 개체들이 유전적으로 근연 관계가 없으며 자가 교배가 되지 않았다면, 유효 집단 크기는 실제 개체 수와 동일하게 추정된다. 하지만 채종원 내에는 반형매(half-sib), 전형매(full-sib) 등 개체 간 동일한 유전적 관계가 있는 라멧(ramet)이 채종원 내에는 다수 존재하며, 개체 간 유전적 근연 관계가 증가할수록 상대 유효 집단 크기(N_r: relative status number)는 감소한다(Kang et al., 2001). *Pinus brutia*, *P. sylvestris*, *P. densiflora, P. thunbergii, P. koraiensis*, *Cryptomeria japonica, Picea abies* 등 다양한 침엽수 채종원(Bilir et al., 2004; Dutkuner et al., 2008; Gömöry et al., 2000; Kang and Lindgren, 1998; Nikkanen and Ruotsalainen, 2000; Park et al., 2017)과 *Quercus accutissima* 등 활엽수 채종원(나성준 등, 2014; Kang et al., 2005)에서 유효 집단 크기와 상대 유효 집단을 추정하였다. 각 침엽수 채종원의 유효 집단 크기는 그 해 클론 간 개화량에 따라 다양하게 나타났으며 평균 30 이상의 유효 집단 크기가 추정되면 안정적인

것으로 판단하였다. 그리고 대부분 자화와 웅화 수준보다 접합자 수준에서 유효 집단 크기가 높게 나타나는 것으로 보고하였다. *Q. accutissima* 채종원에서는 유전 간벌의 방법 및 강도에 따른 유효 집단 크기를 추정하였으며 가계 수, 개량 효과 및 유효 집단 크기 등을 복합적으로 고려하였을 때 간벌 강도 60%에서 개량 효과와 상대 유효 집단 크기가 가장 높을 것으로 보고하였다. 따라서 채종원과 같이 한정된 유전자원으로 조성된 육종 집단에서는 세대가 거듭할수록 개체 간 유전적 근연 관계가 증가할 가능성이 높기 때문에 여러 개의 소규모 집단을 조성하는 운영하는 등 유전 다양성을 유지할 수 있는 육종 전략이 필요하다(Gea, 1997).

채종원의 유전 다양성은 채종목이 차대에 균일하게 기여할 때 가장 높게 유지된다. 하지만 앞서 유효 집단 크기를 추론하는 많은 선행 연구에서 보고한 바와 같이 채종목 간 균일한 기여도는 거의 모든 채종원 집단에서 나타나지 않는다(Funda and El-Kassaby, 2013). 결국 편중된 기여도로 인해 다음 세대에 유전적 근연 관계를 발생시키며, 유전 다양성의 감소를 초래한다. 채종원에서 클론 간 유전적 근연 관계가 없는 경우, 또는 자연 임분과 같이 개체 간 유전적 근연 관계를 알 수 없는 상황에서는 개체 간 기여도(종자 또는 화분 생산량 등) 변이를 이용하여 아래와 같이 유효 집단 크기(N_p: effective number of parents)를 구할 수 있다(Kang and Mullin, 2007; Kang et al., 2003; Lindgren and Mullin, 1998).

$$N_p = \frac{\mathrm{N}}{\Psi}$$

여기서 N은 집단 내 총 개체 수이며, Ψ은 형매 계수(sibling coefficient)를 의미한다.

형매 계수는 모수 간 생식력 변이가 어느 정도인지 표현하는 수리적 계수이며, 개체 간 생식력이 균일할 때와 비교하여 근친 교배가 발생할 확률로 해석된다. 즉, 형매 계수가 1이라면 개체 간에 균일한 생식력이 있는 상태이며, 만약 생식력 변이가 존재하면 그 값은 1보다 커지게 된다. 그리고 형매 계수가 2라면 두 개체가 동일한 모수를 공유할 수 있는 확률이 두 배로 높아진다는 것을 의미한다(Kang and Mullin, 2007; Kang et al., 2003; Lindgren and Mullin, 1998).

집단 내 각 개체는 생식력을 가지고 있으며, 변이 계수(coefficient of variation, CV)는 집단 내 다른 개체와 상대적으로 비교하여 모수 또는 화분수로서 차대에 기여하는 정도를 의미한다.

$$\Psi = \frac{CV^2(N-1)}{N} + 1$$

.

형매 계수는 집단 내 개체 간 생식력 변이 계수로 도출되며, N은 집단에서의 추출된 표본의 크기이다. 표본 크기가 충분히 크다면 형매 계수에 대한 표본 크기의 영향은 상대적으로 매우 작아진다. 채종원과 같은 육종 집단에서는 모든 유전자형에 대한 생식력을 분석하기 때문에 N은 생략될 수 있다. 따라서 형매 계수는 다음과 같이 정리할 수 있다.

$$\Psi = CV^2 + 1$$

형매 계수는 변이 계수로부터 도출되지만 변이 계수는 모수

집단에서 추정되며, 형매 계수는 접합자 또는 차대와 보다 밀접한 연관이 있다. 생식력 변이는 모수와 화분수에서 모두 발생하므로, 자성(암꽃, Ψ_f) 및 웅성(수꽃, Ψ_m) 배우자 수준에서도 각각 구할 수 있다(Kang and Lindgren, 1998; 1999).

$$\Psi_f = CV_f^2 + 1$$
$$\Psi_m = CV_m^2 + 1$$

여기서 CV_f와 CV_m은 자성 및 웅성 배우자의 생식력에 대한 변이 계수이다. 위 공식에 의하여 자성($N_{p(f)}$) 및 웅성($N_{p(m)}$) 배우자 수준에 대한 유효 집단 크기는 다음과 같이 추정한다(Kang and Lindgren, 1998; Kang and Lindgren, 1999; Park et al., 2020).

$$N_{p(f)} = \frac{N}{\Psi_f}, \qquad N_{p(m)} = \frac{N}{\Psi_m}$$

생식력 변이에 의한 유전 다양성의 감소를 줄일 수 있는 방법 중 한 가지는 종자의 모수에 대한 기여도를 제한하여 생식력의 변이를 감소시키는 것이다.

소나무(*P. densiflora*) 채종원에서 종자 생산량과 자성 배우자의 기여도를 조절하여 형매 계수를 추정한 연구 결과에 따르면(Kang and El-Kassaby, 2002), 종자를 채취할 때 개체 간 균일한 양의 종자를 채취하여 이용할 때, 생식력 변이가 감소될 수 있으며(Ψ_f = 1), 자·웅화 간 상관관계가 없을 때(r = 0) 클론 간 배우자 기여도 불균형의 영향이 완화되어 형매 계수는 화분 생산량(웅성 배우자)

변이와 화분 오염률에만 영향을 받게 된다.

따라서 동일한 종자를 채취하여 자성 배우자 수준의 변이를 고정하고, 자·웅화 간 양의 상관관계가 있다고 가정하였을 때, 자·웅화의 기여도에 변이가 있을 때보다 상대적으로 종자 생산량이 약 114% 이상 증가할 것으로 추정되었다. 이와 같은 결과는 Scots pine(Nikkanen and Velling, 1987), Norway spruce(Kjær, 1996), black spruce(Caron and Powell, 1989), white spruce(Schoen et al., 1986)에서도 동일한 결과를 나타내었다.

반면, 자·웅화 간 상관관계가 없는 경우 동일한 종자를 채취하는 것의 효과는 상대적으로 미미하였으며, 고도의 음의 상관관계가 있는 경우 웅성 배우자의 변이가 커질수록 유전 다양성이 상당히 감소하는 것으로 보고하였다. 결국 종자 채취량과 유전 다양성 간의 균형이 무엇보다 중요하며 소수 대립 유전자의 보존을 위하여 기여도가 낮은 대부분의 개체는 모든 종자를 채취하고, 지나치게 기여도가 높은 일부 개체는 균일한 양의 종자를 채취한다면 유전 다양성은 적절하게 유지되면서 충분한 양의 종자를 채취할 수 있다(Kang and El-Kassaby, 2002).

국내에서는 유효 집단 크기의 개념을 도입하여 소나무, 잣나무, 곰솔, 편백, 낙엽송 등의 다양한 침엽수와 상수리나무, 굴참나무, 졸참나무 및 신갈나무 등 활엽수 클론 채종원 및 클론 보존원에서 개화량 변이를 조사한 바 있다. 클론 간 개화량의 기여도 변이는 누적 기여도 곡선(parental balance curve)으로 가시화할 수 있으며, 직선(이상적 모델)에서 멀어질수록 클론 간 기여도의 불균형이 발생하는 것으로 해석한다. 앞서 조사된 대부분의 수종은 상위 약 20%에 해당하는 클론이 전체 개화량의 50%를 차지하여 소수 클론의 영향을

받는 것으로 추정되었다. 또한 연도별, 채종원별 유효 집단 크기가 대부분 30 이상으로 추정되어 연구 대상 집단의 경우 유전적으로 안정적인 상태로 보고하였다(Kang and Lindgren, 1998; Kang et al., 2003; Kim et al., 2008).

유전력은 채종목의 개화량이 유전적인 영향을 얼마나 받는지 상대적으로 비교하기 위해 사용하며, 일반적으로 0.2 이상일 때 유전력을 보통(moderate) 수준으로 판단한다. 국내 소나무 채종원에서 개화량에 대한 유전력을 추정한 연구에서 암구화 개화량의 유전력이 0.15, 수구화 개화량의 유전력이 0.36으로 추정되어 수꽃의 개화량이 암꽃 개화량보다 상대적으로 유전적인 영향을 더 많이 받는 것으로 보고한 바 있다. 곰솔 채종원의 경우 암꽃 개화량의 유전력이 0.06, 수꽃 개화량의 유전력이 0.25로 암꽃 개화량의 경우 유전적인 영향을 거의 받지 않는 것으로 보고하였다(Kang and Lindgren, 1998).

선행 연구를 종합해 볼 때, 대부분의 채종원에서는 수종 및 수령 그리고 클론 간에 개화 능력의 차이가 있었고, 종자 생산 과정에서 채종원을 구성하고 있는 클론 간의 불균등한 교배 기여율로 인한 심각한 유전적 분화의 문제가 발생하고 있다. 따라서 채종원 내 클론 간 개화량 변이를 통해 추정된 유효 집단 크기와 모수와 화분수의 누적 기여도, 유전력 등은 채종원에서 생산되는 종자의 유전 다양성을 평가하고 선택적 종자 채취, 유전 간벌 등 채종원의 효율적 관리에 필요한 정보를 제공하는 데 활용할 수 있기 때문에 필수적으로 파악해야 한다.

제3절 채종원산 종자의 구과 분석

임목은 자가 이동이 불가능하기 때문에 인위적으로 이식되지 않는

한 일생을 고정된 위치에서 한정된 자원을 이용하여 생식 생장을 한다. 따라서 진화적 측면에서 생존을 위해 종자나 열매를 산포하고, 크기와 생산량 간의 균형을 유지하려는 특성이 있다(Sakai and Harada, 2001).

일반적으로 열매나 종자는 영양소를 독점하여 이용하기 때문에 식물이 종자나 열매를 성숙시킬 때 줄기, 뿌리, 형성층의 생장을 억제하려는 경향이 있으며, 자작나무(*Betula papyrifera*)와 미송(*Pseudotsuga menziesii*)의 경우 종자가 많이 생산될 때, 직경 생장이 급격하게 감소하며 그 영향이 2년 후까지 지속된다고 알려져 있다(Lee, 1993).

임목은 구과와 종자 결실이 풍년인 해에 양분을 많이 소모하게 되어 영양 상태의 불균형을 초래하거나 화아 발달이 억제되는 경향이 있으며, 그 결과 개화 및 종자 결실의 주기성이 나타난다(Westwood, 1978). 특히, 주간이나 가지의 탄수화물 함량은 종자 생산과 직접적인 연관이 있다. 또한 열매와 화아 간의 생장을 위한 경쟁으로 저장 탄수화물이 대부분 소모된 이듬 해에는 종자 생산량이 감소되는 경향을 보인다(Sedgley et al., 1989).

임목의 결실 주기성으로 인한 종자 생산의 불규칙성은 채종원의 개량 종자의 안정적이고 즉각적인 공급 체계를 구축하는 데 제한적인 요인이 된다(Kim et al., 2008). 또한 풍년인 해의 과다 착과는 종자 품질 저하, 병충해 발생 증가, 종자 채취 및 관리 비용 증가 등의 문제가 발생할 수 있어 채종원에서 인위적으로 결실량을 조절하는 방안이 필요하다(구영본 등, 1993; 김인식과 허성두, 2013). 따라서 구과량 변이 연구와 체계적인 구과 분석을 통해 산림 종자의 안정적인 생산과 공급을 위한 채종원의 종자 생산성 및 관리 상태를 진단할 필요가 있다.

구과 분석은 (1) 구과의 형태적 특성(크기, 무게, 인편 수) 분석과 (2) 종자의 특성(비립, 충실 종자 및 고사 배주) 분석으로 나누어진다. 세부적인 방법으로는 건조한 구과에서 분리된 인편을 모양에 따라 임성 인편(fertile scales과 불임성 인편(infertile scales)으로 구분하고 종자는 성숙 종자(developed seeds)와 고사 배주(aborted ovules)로 구분한다. 성숙 종자는 충실 종자(filled seeds), 비립 종자(empty seeds), 상해 종자(damaged seeds)로 구분한다. 생식 주기가 3년 이상인 수종의 경우 고사 배주는 첫 해 고사 배주(first-year aborted ovules)와 둘째 해 고사 배주(second-year aborted ovules)로 구분한다(Lee et al., 1984). 분석한 종자 특성으로 수식을 이용하여 종자 생산 능력(seed potential), 성숙 종자율(percent developed seeds), 충실 종자율(percent filled seeds), 첫 해 및 둘째 해 고사 배주율(percent aborted ovules), 종자 효율(seed efficiency)을 구한다(USDA Forest Service, 1977).

미국 남부 소나무류의 채종원에서 적용하고 있는, 고사 배주율에 의한 채종원 관리 기준에 의하면 첫 해 고사 배주율이 10% 미만인 경우 채종원 관리 상태가 양호한 것으로 판단하며, 11~19%인 경우에는 충해나 화분 부족의 가능성을 조사해야 한다. 20% 이상이 되면 충해나 화분 부족의 원인에 대한 고찰이 필요하며, 관리 방안 개선이 필요하다(USDA Forest Service, 1977). 그리고 최종적으로 충실 종자에 대한 발아율을 분석함으로써 채종원산 종자 실생묘의 생존율을 추정할 수 있다.

2013년부터 2014년까지 안면도 채종원의 소나무 구과 분석 연구에서 연도별 1차 및 2차 고사 배주를 조사한 결과 2013년에는 각각 1.03과 4.07로 나타났고, 2014년은 각각 3.08과 0.50으로 나타나 연구 대상지의 경우 수분, 충해 및 영양 결핍 등의 영향이 있을 것으로

보고한 바 있다(송현진 등, 2015).

또한 국내 잣나무 채종원에서 실시한 구과 분석 연구에서 첫 해 고사 배주율은 평균 20.0%(13.8~26.9%)로 나타나 충해나 화분 부족의 가능성을 검토하고 개선 대책을 마련해야 하는 수준에 해당하는 것으로 보고하였다(김인식과 허성두, 2013).

이와 같이 구과 분석과 발아율 검정을 통한 채종원 종자 생산에 대한 평가는 주기적인 종자 예찰 조사와 기상 자료 분석을 병행한다면 종자 생산에 관련된 수분 생리, 병해충 방제, 영양 상태 점검 등을 구체적으로 검토할 수 있을 것이며 종자 생존율 및 저장 관리에 대한 체계적인 방법을 제시하는 데 유용한 자료가 될 수 있다.

제4절 DNA 표지를 이용한 교배 양식 연구

종(species) 내 유전적 변이의 감소는 생물 다양성 감소의 주요 원인으로 알려져 있다(Balvanera and Aguirre, 2006; Wilson and Peter, 1988). 따라서 집단 내 유전 변이에 대한 연구는 생태계 구조와 기능을 유지하는 데 의미가 있다. 차대의 유전자형은 접합자를 형성하는 한 쌍의 배우자 결합에 의해 결정되고, 그 결합은 모수의 교배 양식에 영향을 받는다. 즉, 모수의 대립 유전자가 차대로 전달되는 과정인 교배 양식을 연구하는 것은 차대의 유전 모수를 추정하고, 집단의 유전 변이와 구조를 이해하기 위한 최선의 방법이다(Levin and Kerster, 1974).

거의 모든 동물은 타가 교배로 번식을 하고, 암수가 서로 구별되어 있다. 반면 식물의 교배 양식은 자가 수정 우세 형식(predominantly selfing), 타가 수정 우세 형식(predominantly outcrossing), 자가 및

타가 수정 혼합 형식(mixed selfing and outcrossing), 무수정 생식(apomixis) 그리고 반수성 자가 수정 형식(haploid selfing)으로 크게 5가지로 구분된다(Brown, 1990).

침엽수의 경우 자가 교배와 타가 교배를 혼용하는 방식으로 종자를 생산하며, 근친 교배로 인한 자식 열세(inbreeding depression) 현상이 두드러지게 나타나는 것으로 알려져 있다(Mitton, 1992). 따라서 자가 교배와 타가 교배로 생산된 차대의 적응성 차이는 식물 교배 양식의 진화적인 측면에도 영향을 미친다(Lande and Schemske, 1985; Schemske and Lande, 1985).

타가 교배율은 집단의 밀도와 수령, 화분의 생산성, 교배 환경의 변이 등에 의해 영향을 받는다(Burczyk et al., 1996). 대기중에 방출된 화분의 밀도는 교배 기여율에 영향을 미치며, 교배 환경의 변이는 개화 생리, 화분의 이동 정도, 화분의 활력 등에 영향을 미쳐 교배에 기여하는 화분원의 유전적 구성에 변화를 준다(양경록 등., 2021; Burczyk et al., 2004; Lee et al., 2022). 또한 개체목의 수령이 적거나, 크기가 작은 경우에는 상대적으로 화분의 생산량이 적어져 타가 교배율이 높으며, 성목의 크기가 클수록 개화량이 많아지고 대기중에 방출된 화분이 높은 밀도로 존재하게 되어 화분수로서 기여율이 증가하게 된다(Burczyk et al., 1996). 같은 맥락에서 임분 밀도가 증가하면 대기중에 방출되는 화분의 다양성이 높아져 상대적으로 자가 교배의 기회가 줄어들게 되어 종자 생산에 기여하는 화분수와 타가 교배율이 증가할 수 있다(Mitton, 1992).

임목 집단에서 교배 양식 분석은 차대의 유전자형을 통해 화분수의 다양성을 추정하는 것으로, 분석 표지를 선택함으로써 연구 방법이 결정된다. 현재까지 동·식물의 집단 유전학 연구에는 동위효소(allozyme),

restriction fragment length polymorphism(RFLP), amplified fragment length polymorphism(AFLP), random amplified polymorphic DNA(RAPD), inter simple sequence repeat(ISSR), microsatellite, single nucleotide polymorphism(SNP) 등의 표지가 사용되고 있다.

표지를 이용한 교배 양식에 관한 초기 연구들은 대부분 동위효소를 이용하였다. 전기영동 상에 2배체의 형태로 다형성을 보이는 유전자형을 쉽게 파악할 수 있다는 장점(Buth, 1984)이 있어 현재까지 동식물의 집단 유전 변이 연구에 많이 이용되고 있다. 하지만 교배 양식 분석의 경우 각 개체별로 식별이 가능할 정도로 다형성이 높은 표지를 사용해야 분석의 정확도가 증가하기 때문에 교배 양식 연구에는 적합하지 않다.

RAPD, ISSR, AFLP 표지는 다양한 분류군에서 특정 영역을 증폭할 수 있기 때문에 유전자좌 수의 한계를 극복할 수 있다는 장점이 있어 다양한 연구에서 활용된 바 있다(Goto et al., 2001; 2002). 하지만 정밀한 화분수의 확인이 불가능하기 때문에 이 또한 채종원 교배 양식 연구에는 사용되지 않는 추세이다(Carlson et al., 2020).

Microsatellite는 핵, 엽록체, 미토콘드리아와 같은 세포 소기관의 유전체상에 매우 풍부하게 존재하며, 핵에서 유래된 microsatellite의 경우 높은 다형성을 보이는 공우성(codominant) 표지로 임목 육종 연구, 집단 유전학, 생물 지리학 및 보전 생물학 분야 등 집단 구조와 유전적 다양성을 연구하는 학문에서 다양하게 활용되고 있다(Mansur et al., 1996; Wang et al., 2009a; Wang et al., 2009b).

Microsatellite는 보통 2~6bp의 짧은 반복 염기서열로, 각각의 유전자좌에 특화된 표지를 사용하여 증폭하며(Goldstein and Schlötterer, 1999) 분석 개체 간 반복 수에 차이가 날 경우 표지로 활용할 수 있다. Microsatellite는 PCR 반응으로 쉽게 유전자형을

분석할 수 있다는 장점이 있으나, 종 특이적이기 때문에 계통적으로 매우 가까운 근연종 간에만 적용될 수 있다는 것과 유전체 정보가 부족한 경우 신규 개발 비용이 많이 소요된다는 단점이 있다.

미토콘드리아와 엽록체에서 유래된 microsatellite 표지는 모계 혹은 부계로만 유전되는 비멘델성 표지로 모수와 동일한 가계의 개체를 식별할 수 없는 단점이 있어 정밀한 화분수의 추정이 어렵다. 반면 핵에서 유래한 microsatellite 표지는 양 부모로부터 각각 유전되기 때문에 차대의 유전자형에서 모수로부터 유래된 대립 유전자를 제외하면 화분수의 대립 유전자를 추정할 수 있다. 따라서 높은 다형성을 갖는 표지를 사용한다면 정밀한 화분수의 추정이 가능하다. 하지만 microsatellite 표지는 유전자형의 분석(결정) 오류, 돌연변이, null allele 등의 문제가 발생할 수 있어 유용성을 평가할 필요가 있다. 편백의 경우 고도로 다형성이 확인된 9개의 microsatellite 표지를 이용하여 유전 다양성을 분석한 결과 유전자좌당 평균 10.3개의 대립 유전자와 평균 0.77의 이형 접합도 관측값을 확인한 바 있다(Nakao et al., 2001).

가계 분석(parental analysis)은 '소거(exclusion), 범주 할당(categorical allocation), 부분 할당(fractional allocation), 전체 가계 확률 분석(full probability parentage analysis), 가계 재구성(parental reconstruction), 근연 관계 재구성(sibship reconstruction)' 총 6종류의 방법이 있다(Jones et al., 2010). 이 중 모수를 직접 추정하는 방법은 다형성이 높은 DNA 표지를 이용하여 차대와 모수, 그리고 주변 성목의 유전자형을 모두 분석하여 각각의 종자에 기여한 화분수를 제외한 나머지 화분수를 소거하는 것으로, CERVUS 프로그램을 활용한 부계 유전자형 분석이 가장 많이 이루어지고 있다.

CERVUS는 우도(likelihood score)를 기반으로 부모와 차대 쌍에 대한 logarithm-of-odds(LOD) 값을 계산하여 전체 차대에 대한 후보 모수(candidate parent)를 배정한다. 그리고 시뮬레이션을 통해 첫 번째와 두 번째 후보 모수의 LOD 값의 차이인 델타(Δ)의 임계값을 산출하여 배정 결과의 신뢰 수준을 결정한다(Kalinowski et al., 2007).

모수의 간접 추정 방법은 유전적 부동, 이주, 선택, 돌연변이가 평형 상태에 있음을 가정하고, 교배 모델을 기반으로 일부 모수의 유전 구조에서 화분원을 추정하는 것으로 TwoGener 방법을 가장 많이 사용한다(Austerlitz and Smouse, 2001; Burczyk et al., 1996; Peakall and Smouse, 2006; Peakall and Smouse, 2012; Robledo-Arnuncio et al., 2006).

TwoGener 방법은 모수와 종자의 유전자형과 모수의 위치 정보를 근거로 평균 유효 화분 이동 거리와 유전 구조의 분화를 추정하며 (Robledo-Arnuncio and Gil, 2005; Smouse and Sork, 2004; Sork and Smouse, 2006), 후보 화분수에 대한 유전자형과 위치 정보가 필요하지 않기 때문에 비용과 시간을 절약할 수 있다는 장점이 있다. 이 방법은 집단의 크기에는 제한이 없지만 모수와 차대가 최소 20반복 이상이어야 정확한 결과를 도출할 수 있으며 총 400개(16×25~25×16 또는 10×40~40×10)의 분석 개체가 있다면 그 결과를 신뢰할 수 있다. 그리고 성목은 일정한 밀도로 무작위로 분포하고 있으며, 대립 유전자의 빈도는 집단 전반에 동일하고, 모든 개체는 자웅동주이며 자가 교배의 가능성은 있지만 근친 교배는 되지 않고, 개체의 유전자형은 공간적으로 연관성이 없으며, 화분 생산량이 동일하고, 화분의 산포는 환경에 영향을 받지 않는다는 몇 가지 가정을 만족해야 한다. 만약 이와 같은 조건이 만족되지 않는다면 추정에 오차가 발생하게 되며 교배 환경에

대한 정보가 수집되지 않을 경우 편의 추정이 될 수 있으며 결과의 원인을 판단할 수 없다는 단점이 있다(Austerlitz and Smouse, 2001; Smouse et al., 2001).

종자의 유전적 품질은 모수의 개화 생리와 무작위적 임의 교배, 클론 간 동등한 화분 기여, 자배 및 근친 교배, 화분 오염 등 많은 요소에 의해 영향을 받는다(Eriksson et al., 1973; Woessner and Franklin, 1973). 즉, 특정 클론에 의해 편중된 화분의 기여는 종자의 유전 다양성을 감소시키며, 자배와 근친 교배 그리고 화분 오염은 종자의 유전적 개량 효과를 방해하는 요인이기 때문에 유전적으로 우수한 종자를 생산해야 하는 채종원에서 중요하게 파악해야 하는 요소 중 하나이다.

채종원에서는 클론 간 유전적 변이를 통해 근친 교배를 확인함으로써 교배 양식을 결정할 수 있으며(Wright, 1940), 채종원 내 식재된 모수의 비율과 공간 배열이 교배 양식에 큰 영향을 미친다(El-Kassaby, 1995; Funda and El-Kassaby, 2013). 따라서 자가 교배에 의한 자식 열세를 최소화하고 타가 교배를 극대화하기 위해서는 채종목을 무작위로 배열해야 한다. 하지만 완전 무작위적 배열은 클론으로 이루어진 채종목의 국소적인 응집을 초래하는 결과를 가져올 수 있다.

침엽수의 경우 타가 교배를 선호하는 경향이 강하기 때문에, 일반적으로 근친 교배가 이루어질 경우 자기 방어의 기작으로 심각한 자식 열세 현상 일어나거나, 교배 후 발생 단계에서 퇴화되어 종자로 성숙되지 않는다(El-Kassaby, 1995; Mitton, 1992; O'Connell, 2003). 그러나 채종원에서 DNA 표지를 활용한 연구에 따르면 종자에서 1~15%의 다양한 자가 교배 현상이 관찰되었다(Doerksen et al., 2011; Sk Lai et al., 2010; Slavov et al., 2005).

채종원은 유전적으로 우량한 종자 생산을 위해 개화 및 수분, 구과(종자) 수확, 해충 방제와 같은 채종목 단위의 관리와 채종원 내 유전 다양성 등 복합적인 요소를 반영하여 수 년, 때로는 수십 년에 걸쳐 조성하고 관리된다. 따라서 채종원 조성과 관리의 장기성을 고려하였을 때, 유전적 다양성을 극대화하고 채종원 관리를 쉽게 하기 위해서는 식재된 채종목과 생산된 종자의 유전적 가치를 조사하고 검증하며, 단계적인 유전 간벌을 해야 할 필요가 있다.

제3장 재료 및 방법

제1절 연구 대상지 현황

본 연구의 조사지는 (1) 전라북도 고창군 대산면 갈마리 산 18-4(35° 19′ 15″ N, 126° 33′ 25″ E)에 위치한 편백 채종원과 (2) 서귀포 서귀포시 상효동 산1-5(33° 18′ 39″ N, 126° 33′ 37″ E), 1-1-2 구역(69 단지)에 위치한 편백 채종원이다.

1.1 고창 편백 채종원

고창 편백 채종원의 해발고는 35° 19’, 방위는 남서향, 경사도는 5~10°, 토성은 사양토인 완만한 지대이다. 연 평균 기온은 13.3°C, 최저 기온은 -12.4°C, 연 강우량은 1,396mm의 기상 특성을 보이며 (KoFPI, 2022), 2015년에 조성 당시 1,095본 총 51클론을 7ha의 면적에 7×7m 간격으로 개량 효과와 유전 다양성을 높이기 위해 동일 클론이 인접하지 않도록 임의 배열로 식재되어 있다(Figure 2).

‘국립산림품종관리센터’에서 고창 채종원 내 전수에 대한 유전자형을 분석하였으며, 클론 보존원의 수형목과 일치하는 경남 16 등 37개 클론과 클론 보존원에서 확인이 된 유전자형 중 이력이 확인되지 않은 미확인 클론(unknown, Uk) 3개, 클론 보존원에서는 확인되지 않았지만 채종목 간 일치하는 유전자형군(genotype group, G) 21개, 그외 클론 보존원에서 확인이 되지 않고, 채종목 간에도 속하지 않는 단일 개체(single, S) 6개를 식별한 자료를 참고하였다(NFSV, 2020). 조사 당시 클론(미확인 클론, 유전자형군을 포함)당 최소 1본에서 최대 68본의 개체가 있었으며, 클론당 평균 15.5본, 총 945본이 있었다.

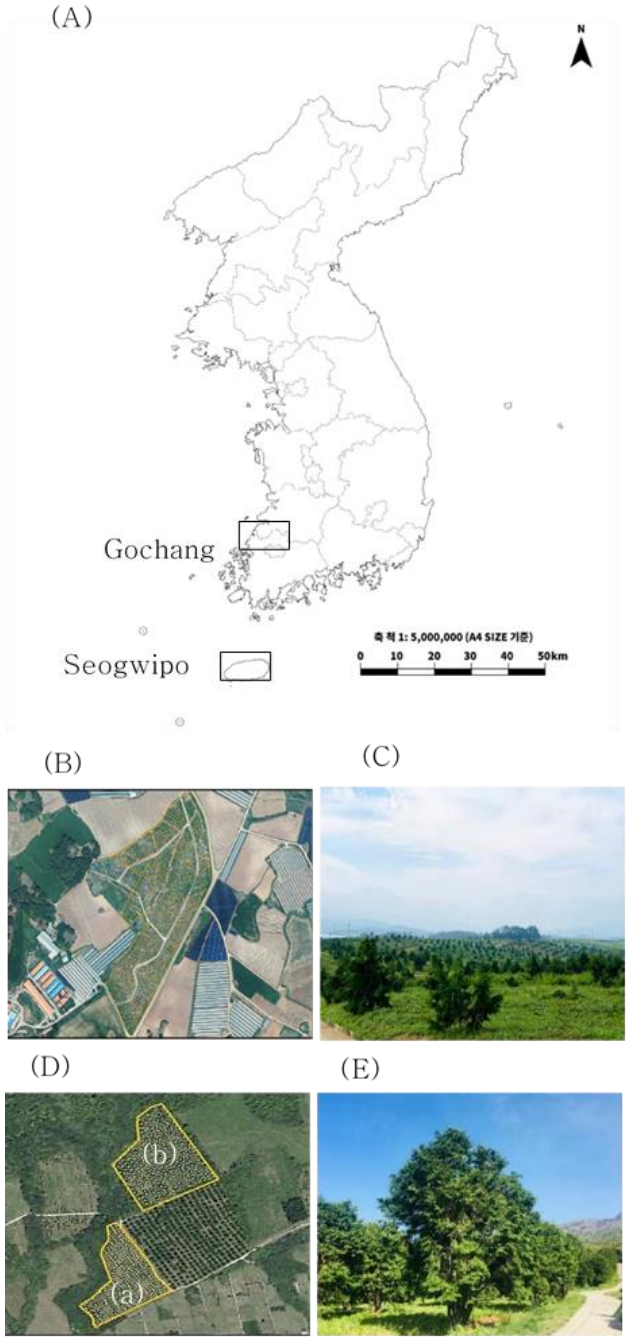


Figure 2. Location (A) and landscape of the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang (B, C) and Seogwipo (D, E), Korea

1.2 서귀포 편백 채종원

서귀포 편백 채종원의 해발고는 33° 18', 표고는 500~600m, 방위는 남향, 경사도는 5~10°, 토성은 미사질양토의 지형적 특성을 가지며, 연 평균 기온은 16~16.6°C, 연 강우량은 1,800~1,900mm의 기상 특성을 보이는 지역이다. 1969년 당시 총 480본을 (a)구역과 (b)구역 각 2ha씩, 총 4ha의 면적에 5×5m 간격으로 임의 배열 방법으로 식재되어 있다(Figure 2).

'국립산림품종관리센터'에서 서귀포 채종원 내 전수에 대한 유전자형을 분석하여 클론 보존원의 수형목과 일치하는 전남 01 등 11개 클론을 확인하였으며, 클론 보존원에서 확인이 된 유전자형 중 이력이 확인되지 않은 미확인 클론(Uk) 1개, 클론 보존원에서는 확인되지 않았지만 채종목 간 일치하는 유전자형군(G) 10개, 그외 클론 보존원에서 확인이 되지 않고, 채종목 간에도 속하지 않는 단일 개체(S) 252개를 식별하였다(NiFoS, 2020). 본 연구의 경우 대부분 단일 개체로 이루어진 Figure 2-(D)-(b)구역은 포함하지 않았으며, Figure 2-(D)-(a)구역의 경우 단일 개체가 28본이었고, 클론(미확인 클론, 유전자형군을 포함)당 최소 1본에서 최대 71본의 개체, 총 245본이 있었다.

제2절 개화 및 구과 생산량

고창 편백 채종원의 경우 전수(61개 클론, 945본), 서귀포 편백 채종원의 경우 Figure 2-(D)-(a)구역에서 24개 클론, 총 245본을 대상으로 개화량(암·수구화) 및 구과 결실량을 2020년부터 2022년까지 3년간 조사하였다. 암구화(암꽃, female strobilus),

수구화(수꽃, male strobilus)의 경우 수구화의 개화율이 80% 이상이며, 화분이 비산하기 시작하는 시기인 5월 초순에 육안으로 개체목당 한 가지에 달린 꽃 개수를 기준으로, 꽃이 핀 가지 수를 곱하여 개화량을 구하였다(Wakushima, 2004). 당년(성숙) 구과의 경우 9월 초, 중순에 한 가지에 달린 구과 개수를 기준으로, 개체목당 구과가 달린 가지 수를 곱하여 구과 결실량을 구하였다(Bramlett and Bridgwater, 1989; Bramlett and O'Gwynn, 1980)(Figure 3).

제3절 구과 및 종자 특성 분석

채종원 내 전수를 대상으로 2020년부터 2021년까지 2년간 매 9월에 개체목당 상해가 없는 성숙 구과를 10개씩 채취하였으며, 3~5개 구과를 임의로 선택하여 클론당 최소 6개 이상의 구과를 분석하였다. 건조 전 생구과의 길이(mm), 폭(mm) 및 무게(g)를 측정하였다(권용락 등, 2011)(Figure 4).

형태적 특성 조사를 완료한 구과는 약 4주간 실내에서 음건한 뒤, 완전히 건조된 구과에서 종자를 모두 털어 분리하였다. 건조 후 갈라진 인편 수를 세었으며, 종자는 성숙 종자와 고사 배주로 구분하였다. 성숙 종자는 충실 종자와 비립 종자로 구분하였다(이경준 등, 1984b; Owens and Fernando, 2007). 조사한 종자의 특성 자료를 이용하여 종자 생산 능력, 성숙 종자율, 충실 종자율, 고사 배주율 및 종자 효율을 산출하였다(김인식과 허성두, 2013; Bramlett et al., 1977).

구과 분석을 완료한 충실 종자를 사용하여, 개체당 50립씩 5~6반복으로 25°C, 습도 80%의 생장상에서 4주간 발아력을 분석하였다(Figure 5).

(A)

(B)

(C)

Figure 3. Female (A) and male strobili (B), and mature cones (C) of *C. obtusa*

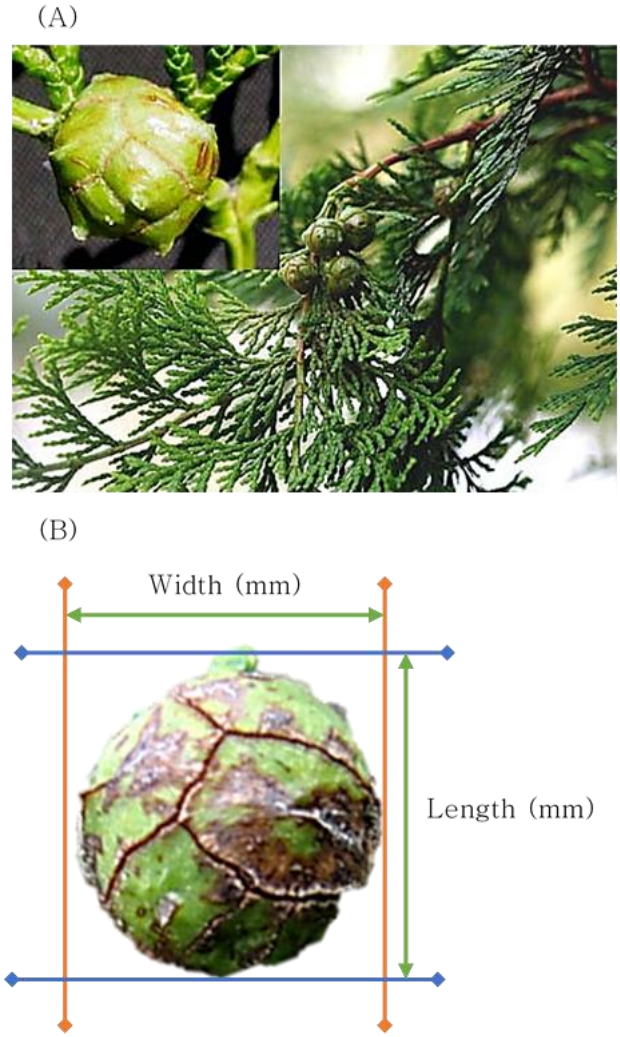
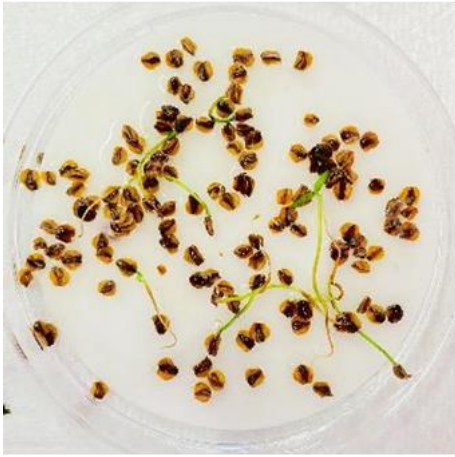


Figure 4. Morphological characteristics of mature cone collected from the seed orchard of *C. obtusa*

(A)



(B)

Figure 5. Test for seed germination of *C. obtusa*

제4절 통계 분석 및 유전력 추정

암·수구화 개화량, 구과 생산량, 구과 및 종자 특성 등은 로그(=LN(x+1)) 변환하여 Shapiro-Wilk 정규성 검정과 O'Brien, Brown-Forsythe, Levene, Bartlett 등분산성을 확인하였다. 개화량 및 당년 구과의 생산량에 클론 간 유의한 차이를 검증하기 위해 SAS JMP Pro Software, Ver. 16.2를 사용하여 유의 수준(p) 0.05로 일원 배치 분산 분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 분산 성분(variance components)을 산출하여 유전력(h^2, heritability)을 추정하였다(Table 1). 개화량 및 구과 생산량 간, 구과 및 종자 특성 간 상호관계를 구명하기 위해 단순 상관(Pearson's correlation) 분석 및 순위 상관(Spearman's correlation)을 분석하였으며 Tukey-Honestly Significant Difference 사후 검정(Tukey-HSD post-hoc)을 실시하였다.

제5절 누적 기여도 곡선

누적 기여도 곡선(parental balance curve)은 암·수구화의 개화량과 성숙 구과 생산량(y축)에 대한 채종원 내 클론별 비율(x축)을 바탕으로 도식하였다. 암꽃과 수꽃 및 구과 생산량에 클론이 모두 균일하게 기여하였을 때는 직선으로 나타나며, 이 직선에서 멀어질수록 소수 클론에 의한 기여율이 높아져 개화 및 구과 생산에 클론 간 불균형을 이룬다는 것을 의미한다(Kang, 2000). 따라서 누적 기여도 곡선은 채종원 내 클론이 어느 정도 비율로 얼마만큼의 개화량 또는 구과 생산량을 점유하는지 파악하는 데 매우 유용하며, 유전 간벌, 선택적 구과

Table 1. Estimation of heritability (h^2) using variance components

Source	df	EMS	$h^2_{(clone)}$	$h^2_{(individual)}$
Among clones	c−1	$\sigma_e^2 + k\sigma_c^2$	$\sigma_e^2/(\sigma_e^2/k + \sigma_c^2)$	$\sigma_e^2/(\sigma_e^2 + \sigma_c^2)$
Within clones	c(m−1)	σ_e^2		

c, number of clones; m, harmonic mean of number of ramets within clones; *k*, coefficient of variance component $(1/c-1)(N-\Sigma N_i^2/N)$

채취 등 채종원 관리 방안을 결정하는 데 중요한 기준이 된다.

제6절 유효 집단 크기 및 유전 다양성 추정

유효 집단 크기(N_s) 및 유전 다양성(genetic diversity, *GD*) 추정은 평균 개화 및 구과 생산량의 변이 계수를 산출하여 채종원 내 개화량 및 구과 생산량의 안정성을 비교 분석하였다.

변이 계수(*CV*)는 클론의 개화량 표준편차를 평균으로 나누어 산출하였다. 유효 집단 크기는 형매 계수(Ψ)와 변이 계수를 이용하는 Kang and Lindgren (1998)의 방법에 따라 아래와 같이 추정하였다.

$$N_S = \frac{N}{\Psi} = \frac{N}{CV^2 + 1}$$

위 공식에서 *N*은 채종원 집단 내 총 클론 숫자이며, Ψ는 형매 계수이다. 상대 유효 집단 크기(N_r)는 유효 집단 크기를 전체 클론 수(*N*)로 나눈 상대적 비율(%)이며, 아래와 같이 계산하였다.

$$N_r(\%) = \frac{N_s}{N} \times 100$$

유전 다양성은 아래 공식과 같이 추정하였다(Lindgren and Mullin, 1998; Kang, 2000).

$$GD = 1 - \frac{1}{2N_s}$$

제7절 Microsatellite 표지 분석

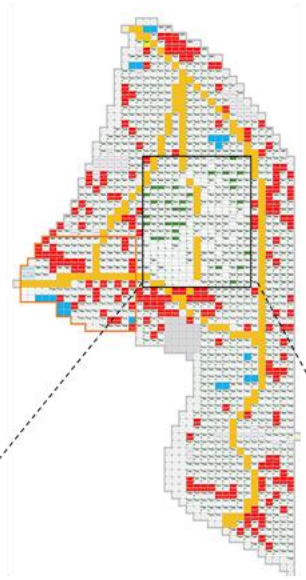
고창 채종원을 구성하고 있는 61클론(945본)과 서귀포 채종원을 구성하고 있는 24클론(245본)의 침엽 시료를 채취하였다. 2021년도에 각 개체목에서 채취한 구과에서 충실 종자를 분류하여 발아력 검정 후, 최소 10개 이상의 종자가 발아된 모수를 선발하였다(Figures 6, 7). 선발한 모수(고창 30개체, 서귀포 5개체)를 포함하여 채종원을 구성하고 있는 모든 클론(고창, 61클론; 서귀포, 24클론) 및 단일 개체목(고창, 6개; 서귀포, 28개)을 대상으로 클론(개체)당 1~5개체의 침엽을 microsatellite 표지 분석에 사용하였다. 최소 10개에서 최대 40개의 발아묘와 침엽을 DNeasy Plant Mini Kit(QIAGEN, Hilden, German)을 이용하여 DNA를 추출하였다.

국내 편백을 대상으로 개발된 microsatellite 표지 중 다형성을 나타내는 'Co2018, Co2023, Co2043, Co2047, Co2050, Co3026, Co3033, Co4012, Co4014, Co4049 (Kim et al., 2016)' 총 10개의 표지를 이용하였으며, M13 forward sequence의 5′ 말단에 FAM이나 HEX로 형광 염색한 후 표지와 함께 증폭하였다(Table 2).

PCR 증폭은 반응 용액 11μL당 template DNA 20ng, forward/reverse primer 각 0.2μM, 0.2mM의 dNTP, 0.8unit의 Taq polymerase(BioFACT A-Star Taq DNA Polymerase, Daejeon, Korea)를 포함하여 조성하였다. PCR 반응은 94°C에서 5분간 열변성(denaturation) 후, 94°C 30초간 열변성, 55~62°C 1분간 annealing, 10분간 증폭의 과정을 35회 반복하고, 마지막으로 72°C에서 10분간 과정을 추가하였다.

PCR 증폭 산물은 Prism xl 3730 Genetic Analyzer(Life Technologies

(A)



(B)

		8596	8597	8598		8599	8600	8701		8702	8703	8704	8705	8706
8602		8603	8604	8605		8606	8607	8608		8609	8610	8611	8612	8613
	8727	8726	8725	8724	8723		8722	8721	8720	8719	8718	8717	8716	8715
	8629	8628	8627	8626					8625		8624	8623	8622	8621
8739	8740	8741	8742	8743	8744	8745		8746		8747	8748	8749	8750	8751
8641	8642	8643	8644	8645	8646	8647			8648	8649	8650	8651	8652	8653
8769	8768	8767	8766	8765	8764	8763		8762	8761	8760		8759	8758	8757
8670	8669	8668	8667	8666	8665	8664							8661	
8785	8786	8787	8788	8789	8790	8791	8792	8793	8794	8795	8796			8798
8683	8684	8685	8686	8687	8688		8690	8691	8692	8693	8694		8695	8696
8917	8916	8915	8914	8913			8912			8911	8910	8909	8908	8907
	8814	8813	8812	8811				8810	8809		8808		8807	8806
8937				8938						8939	8940	8941	8942	8943
						8837		8838	8839		8840	8841	8842	8843
	8962					8960		8959	8958	8957	8956	8955	8954	8953
8859		8858							8857	8856		8855	8854	8853
	8974							8975	8976	8977		8978	8979	8980
8876								8878	8879	8880	8881	8882	8883	8884

Figure 6. Layout (A) and selected 30 mother trees marked with red for mating system analysis (B) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea

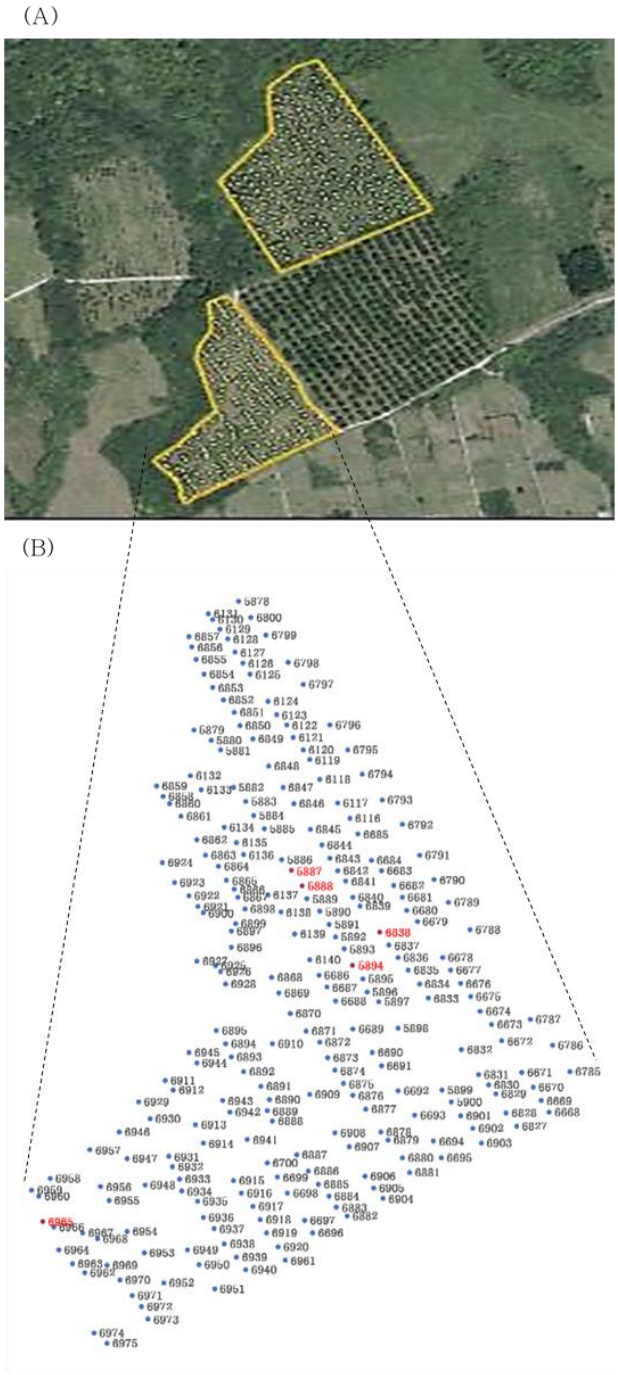


Figure 7. Layout (A) and selected 5 mother trees marked with red for mating system analysis (B) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea

Table 2. Microsatellite markers for *C. obtusa* used in this study

Locus	Primer sequence (5'-3')	Repeat motif	Size (bp)
Co2018	F:GCCCTAGAAACTCGGGGTAA	(CA) 16 (CA) 11	240-270
	R:GTTTGGGGCAATACACAGCGTAATA		
Co2023	F:CACTATCGGGATGCTTGTGA	(CT) 28	210-310
	R:GTTTAGAGAATGGACTCGATGCAAA		
Co2043	F:GGAATTAATTACCACGCTGAAA	(CT)15TTCTC(CA)6	160-210
	R:CCCCAAAAGCCTATGAGACA		
Co2047	F:ATGCCCAAAACACACAAACA	(CT) 21	200-280
	R:GTTTCTTCCCTTTGTCTCTTTGTCA		
Co2050	F:GCCCTCAACCTCAAACCATA	(GA) 31	110-180
	R:GTTTCACACTCCCTTATCTCCCTCA		
Co3026	F:CGAAACGAAACCAATTCCTC	(CTAT) 19	210-290
	R:GTTTACCTCCTCCCACAATTCG		
Co3033	F:TGTCTCACCAATGCCAAAAG	(ATAG) 8	220-250
	R:CCACTCCCCCTTTTCAAATC		
Co4012	F:CTTGCATCCCTACCTTGCAT	(CATC) 8 (CTAC) 7	140-190
	R:TTCCACTTCCATGTCAACCA		
Co4014	F:TTCCACTTCCATGTCAACCA	(TAGG) 7	150-200
	R:GTTTCTTGCATCCCTACCTTGCAT		
Co4049	F:TTTGTCTGTTTATCTGCCTTTCTC	(TCTA) 7	340-390
	R:GTTTGCTCCTATTGTGATTTTGAGTG		

Corp., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 분획하였으며, Geneious Prime Ver. 2022.2.2(Biomatters Ltd., Auckland, New Zealand)을 이용하여 유전자형을 결정하였다.

제8절 유전 구조 및 교배 양식 분석

8.1 유전 구조 및 유전 다양성

GenAlEx Ver. 6.51b2(Peakall and Smouse, 2006; 2012)을 이용하여 유효 대립 유전자 수(N_e), 이형 접합도 관측치(H_o) 및 기대치(H_e), Shannon의 유전 다양성 지수(I), 고정 지수(fixation index, *F*)를 계산하고, CERVUS Ver. 3.0.7(Kalinowski et al., 2007)을 이용하여 대립 유전자 빈도를 근거로 하는 유전자 좌위 다형성 정보량(polymorphic information content, PIC)과 표지의 소거 확률(exclusion probability, EP), 개체를 구분하지 못할 확률(average non-exclusion probability for identity of two unrelated individual, NE-I), 하나의 모수로부터 생산된 차대(종자)에서 개체를 구분하지 못할 확률(average non-exclusion probability for identity of two sibling, NE-SI)을 추정하였다.

8.2 화분원의 유전적 분화 및 유효 화분 이동 거리 추정

GenAlEx Ver. 6.51b2(Peakall and Smouse, 2006; 2012)를 이용하여 TowGener 방법(Smouse et al., 2001)에 따라 모수와 종자의 유전 변이 분포에 대한 AMOVA(analysis of molecular variance) 분석을 통해 아래의 식과 같이 화분원의 유전적 분화(differentiation among pollen clouds, Φ_{ft})를 추정하였다.

$$\Phi\,\mathrm{ft}(\mathrm{d},\mathrm{z}) = \frac{Qo - \overline{Q}}{2 - \overline{Q}}$$

Φ_{ft}(d,z)는 주어진 임분(화분수) 밀도(d)와 모수 간 거리(z)에 따른 유전 분화도이며, Q_o는 한 모수의 종자에서 확인된 웅성 배우체가 동일한 화분수에서 기인할 확률을 의미하고, $\overline{Q}$는 일정 거리(z)만큼 떨어진 두 모수의 종자에서 확인된 웅성 배우체가 동일한 화분수에서 기인할 확률로 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\mathrm{Qo} = \frac{1}{d}\int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} p^2\,(x,y)dxdy$$

$$\mathrm{Qo} = \frac{1}{d}\int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} p^2\,(x,y)p(x-z,y)dxdy$$

이때 p(x,y)는 모수의 위치가 (0,0)일 때 화분수가 좌표(x,y)에 위치할 확률을 의미하며, p(x − z,y)는 모수의 위치가 (0,0)이고 모수 간 거리가 z만큼 떨어져 있을 때 화분수가 좌표(x,y)에 위치할 확률을 의미한다. 본 연구에서는 종자 발아 후 선발된 모수 및 주변 성목의 위치 정보를 통해 유전 분화도를 추정하였으며, 아래의 식과 같이 정규 확산 모델(normal dispersal model)의 기대값에 유전 분화도를 대입하여 평균 유효 화분 이동 거리(mean effective pollen dispersal distance, δ)를 산출하였다(Austerlitz and Smouse, 2001a).

$$\Phi\,\mathrm{ft}(\mathrm{d},\mathrm{z}) = \frac{1}{16\delta^2 d}$$

모수 간 간격이 충분이 멀리 떨어져 있고, 집단 내 성목의 개화량과 개화 생리가 동일하다고 가정하면 $\Phi_{ft} \approx (2N_{ep})^{-1}$ 이며(Smouse et al., 2001), 화분 이동 거리에 따른 유효 화분친 수(effective number of pollen donors, N_{ep})와 이를 이용하여 기여 화분수의 분포 범위(effective pollination neighborhood area, $A_{ep} = N_{ep}/d$)를 산출하였다.

8.3 교배 양식 분석

교배 양식 분석은 MLTR Ver. 3.2(Ritland, 2019)을 이용하여 집단 내 개체 간 근친이 있음을 가정하는 통계 추정을 기본값으로 설정하고 각 모수의 단일 유전자좌 타가 교배율(t_s), 다수 유전자좌 타가 교배율(t_m), 근친 교배율(biparental inbreeding, $t_m - t_s$)을 추정하였다. 부계 상관(paternity correlation, r_p)은 다수 유전자좌 타가 교배율을 이용하였다. 유전 모수 추정에는 Expectation Maximization(EM) 알고리즘을 이용하였다. 표준편차는 1,000 boot straps로 얻었으며, 99% 신뢰 구간을 산출하였다.

8.4 부계 유전자 및 화분 오염률 추정

CERVUS Ver. 3.0.7을 이용하여 우도(likelihood)를 기반으로 부계 유전자 분석(paternity analysis)을 실시하였으며, 그 결과를 근거로 각 모수의 타가 교배율(outcrossing rate)과 화분 오염률(pollen contamination rate)을 산출하였다(Kalinowski et al., 2007; Marshall et al., 1998)

부계 유전자 분석은 종자의 유전자형에서 모수에서 기인한 대립 유전자를 제외한 나머지 반수성 대립 유전자형을 분석하는 방법으로,

채종원 내 클론의 유전자형을 화분수로 설정하고 후보 화분수를 제외한 나머지 화분수를 모두 소거하는 직접 추론 방법 중 소거 방법(exclusion method)을 이용하였다. 추정된 화분수가 실제 화분수인 경우의 우도를 그렇지 않은 우도로 나눈 값을 이용하여, 첫 번째와 두 번째 후보 화분수의 우도 차이를 나타내는 델타(Δ)값을 신뢰 수준의 지표로 설정하였다. 본 연구에서는 10,000회 시뮬레이션으로 99%(restricted)와 95%(relaxed)의 신뢰 수준에 따라 화분수를 산출하였으며, 유전형 파악의 오류 발생률은 0.01로 설정하였다.

제4장 결과

제1절 개화 · 결실량

1.1 클론 간 개화량 및 구과 생산량 변이

본 연구 대상지 중 고창 채종원에서 61개 클론 간 암구화 평균 생산량(LN)은 2020년부터 2022년까지 각각 3.14, 5.37, 5.31이었으며, 수구화 평균 생산량은 2020년부터 2022년까지 3.87, 5.88, 6.87로 나타났다. 성숙 구과의 클론 간 평균 결실량은 2020년에 2.47, 2021년에 4.55, 2022년에 5.28로 조사되어 2020년부터 2022년까지 개화 및 구과 결실량이 지속적으로 증가하는 추세를 보였다(Figure 8A).

2020년의 암 · 수구화 개화량과 성숙 구과의 변이 계수는 각각 0.483, 0.563, 0.533이었으며, 2021년의 경우 각각 0.277, 0.503, 0.344이었다. 2022년의 경우 암 · 수구화 개화량과 성숙 구과의 변이 계수는 각각 0.252, 0.428, 0.212이었으며, 클론 간 생산량 변이는 연도별로 줄어드는 경향을 나타내었다(Figure 8A).

개화량과 구과 생산량에 대한 일원 배치 분산 분석 결과, 2022년 구과 생산량을 제외한 모든 조사 항목에서 클론 간 유의한 차이가 있었다. 클론 간 차이를 확인하기 위해 Tukey-HSD 다중 범위 검정을 분석한 결과, 2020년의 경우 암 · 수구화와 성숙 구과에서 각각 11, 15, 10개 그룹으로 나누어졌다. 2021년의 경우 암 · 수구화와 성숙 구과에서 각각 24, 21, 13개 그룹으로, 2022년의 경우 암 · 수구화에서 각각 9, 15개 그룹으로 나누어졌다(Tables A1-A3).

서귀포 채종원에서 2020년부터 2022년까지 23개 클론 간 개화 및 구과 결실량(LN)을 조사한 결과, 암구화 평균 생산량은 2020년부터

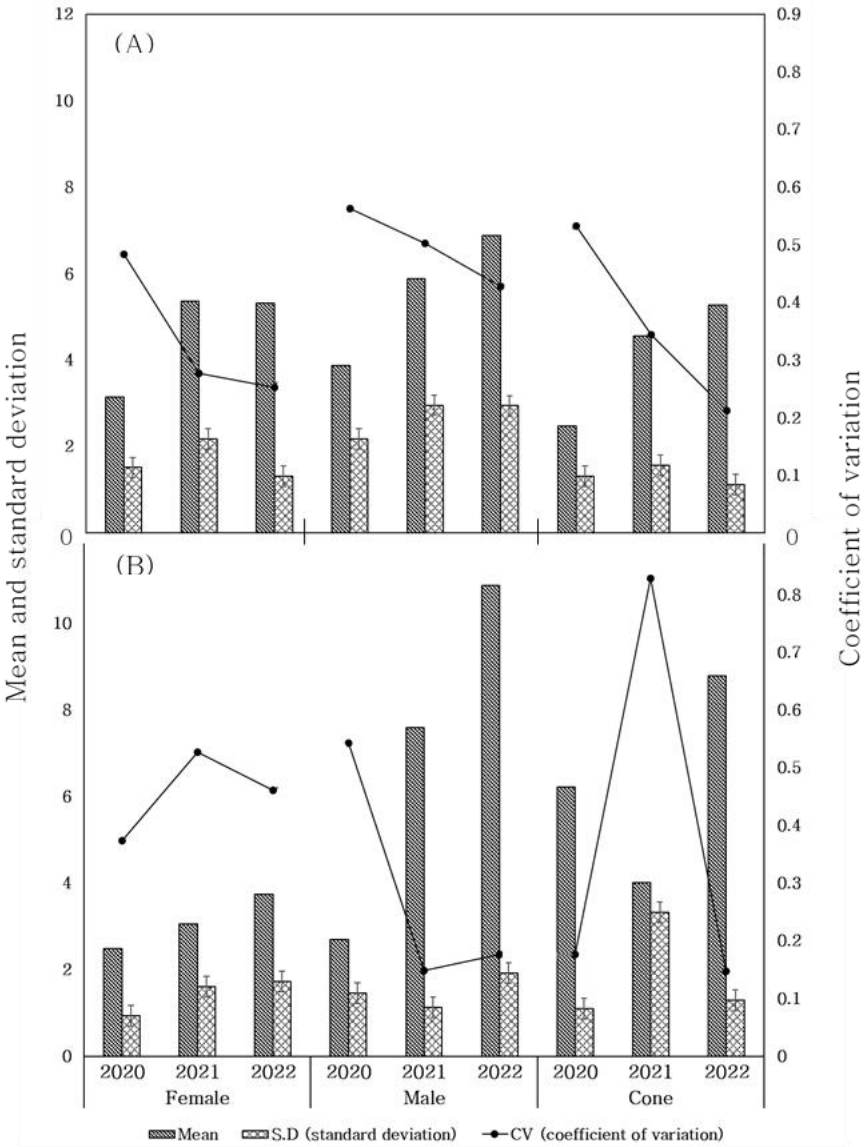


Figure 8. Female and male strobilus, and mature cone production at the seed orchards *C. obtusa* in Gochang (A) and Seogwipo (B), Korea during 2020~2022

2022년까지 각각 2.49, 3.05, 3.74이었으며, 수구화 평균 생산량은 각각 2.69, 7.59, 10.88이었다. 성숙 구과의 평균 결실량은 6.22, 4.00, 8.79이었으며, 암·수구화는 3년간 지속적으로 증가한 반면 2021년도 구과 생산량은 일시적으로 감소하였다(Figure 8B).

변이 계수를 도출한 결과, 2020년의 경우 수구화 생산량이 적었으나 클론 간 변이가 0.542로 암구화(0.374)와 구과 생산량(0.176)에 비해 높은 편이었다. 암구화의 클론 간 평균 생산량은 3년간 유사하였지만, 2021년의 경우 상대적으로 클론 간 암구화의 변이(0.527)가 높고, 수구화의 변이(0.146)가 낮았으며, 그 해 성숙 구과의 변이(0.828)가 매우 높으면서 생산량이 저조한 것을 확인하였다(Figure 8). 2022년의 경우 암·수구화 개화량이 증가하면서 클론 간 변이(암, 0.461; 수, 0.176)가 낮았으며, 구과 생산량은 증가하였고 클론 간 변이(구과, 0.147)가 낮았다.

일원 배치 분산 분석 결과, 모든 조사 항목에서 클론 간 유의한 차이가 있었으며($p < 0.05$) Tukey-HSD 다중 범위 검정을 분석한 결과, 2020년의 경우 암·수구화와 성숙 구과에서 각각 3, 7, 3개 그룹으로 나누어졌다. 2021년의 경우 암구화와 성숙 구과에서 각각 5, 7개 그룹으로 나뉘었으며, 수구화의 경우 일원 배치 분산 분석에서 클론 간 유의한 차이가 있었으나, Tukey-HSD 사후 분석에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 2022년의 경우 수구화와 성숙 구과에서 각각 3, 5개 그룹으로 나누어졌으며, 암구화의 경우 Tukey-HSD 사후 분석에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다(Tables A4-A6)

1.2 누적 기여도 곡선

고창 채종원의 경우 전체 61개 클론 중 2020년의 경우 12클론(19%), 2021년의 경우 13클론(21%)이 전체 암구화 개화량의 50%를 차지하였으며, 32개 클론(52%)이 전체 개화량의 90%를 차지하는 것으로 추정되었다. 2022년의 경우 15.3개 클론(24%)이 전체 개화량의 50%를 차지하였으며, 43개 클론(70%)이 전체 개화량의 90%를 차지하는 것으로 나타나 암구화의 기여도가 비교적 제한적인 것으로 추정되었다(Figure 9A).

수구화 개화량의 경우 2020년부터 2021년까지 전체 개화량 중 50% 이상을 차지하는 클론이 6개(10%)로 추정되었고, 2022년의 경우 9개(15%) 클론이 전체 개화량 중 50% 이상을 차지하는 것으로 추정되었다. 2020년부터 2022년까지 각각 21개(35%), 24개(40%), 32개(52%) 클론이 전체 개화량의 90%를 차지하고 있어 수구화 생산량에 클론 간 불균형이 높은 것으로 나타났다(Figure 9B).

구과 생산량의 경우 2020년은 11개(18%), 2021년은 13개(22%), 2022년은 6개(11%)의 클론이 전체 구과 생산량의 50%를 차지하는 것으로 추정되었다. 2020년과 2022년에는 30개(49%) 클론, 2021년에는 37개(60%) 클론이 전체 구과 생산량의 90%를 차지하고 있는 것으로 추정되었으며, 고창 채종원의 경우 소수의 클론이 개화량과 구과 생산량에 기여하고 있는 것으로 판단되었다(Figure 9C).

서귀포 채종원 내 암구화 개화량의 경우 2020년부터 2022년까지 각각 4.1개(18%), 1.8개(8%), 5개(22%) 클론이 전체 개화량의 50%를 차지하였으며, 연도별로 각각 14.3개(62%), 11개(48%), 16.1개(70%) 클론이 전체 개화량의 90%를 차지하는 것으로 추정되었다(Figure 10A).

수구화 개화량의 경우 2020년도에 2.3개(10%), 2021년에 1.2개(5%),

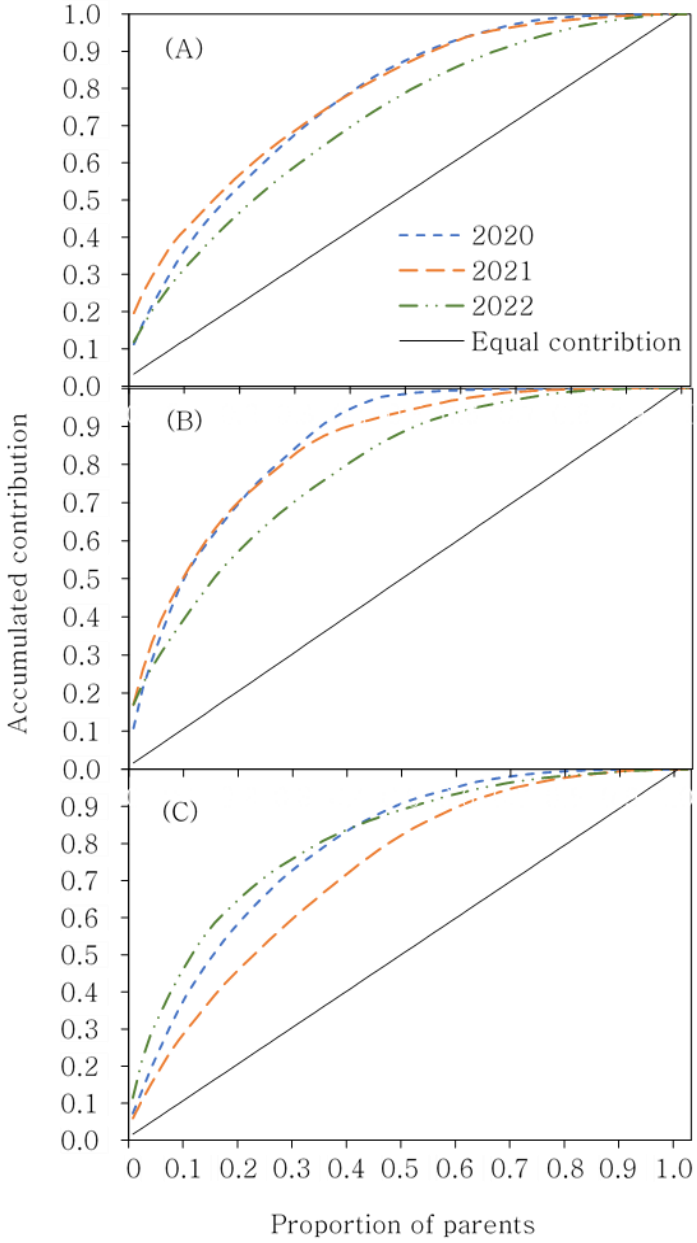


Figure 9. Parental balance curves for accumulated contribution of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) to the proportion of clones at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea during 2020~2022. Straight line represents equal contribution among the clones

2022년에 3.5개(15%) 클론이 전체 개화량의 50%를 차지하였으며, 2020년부터 2022년까지 각각 8.1개(35%), 5.1개(22%), 10.4개(45%) 클론이 전체 수구화 개화량의 90%를 차지하는 것으로 추정되었다(Figure 10B).

구과 생산량의 경우 2020년에는 2.3개(10%), 2021년과 2022년에는 4.1개(18%) 클론이 전체 구과 생산량의 50%를 차지하는 것으로 추정되었으며. 2020년과 2021년에는 11개(48%), 2022년에는 15개(65%) 클론이 전체 구과 생산량의 90%를 차지하는 것으로 추정되었다(Figure 10C).

서귀포 채종원의 경우 전체 23개 클론 중 약 13.4%가 전체 개화 및 구과 결실량의 50%를 차지하며, 암구화의 경우 3년간 평균 약 14개(60%) 클론이 채종원 내 개화와 구과 결실량의 90%를 차지하는 것으로 나타났다. 수구화의 경우 개화량의 90%를 차지하는 클론의 비율이 34%로 나타났으며, 구과 생산량의 경우 50%를 차지하는 클론은 평균 13%, 90%를 차지하는 클론은 평균 53.7%로 클론 간 불균형이 매우 크게 나타났다(Figure 10).

이와 같은 결과를 종합하였을 때, 고창과 서귀포 편백 채종원의 경우 3년간 개화·결실량에 클론 간 불균형이 다소 높았으며 이에 따라 소수 클론에 의해 종자 생산이 이루어졌을 것으로 판단되었다.

1.3 유효 집단 크기 및 유전 다양성 추정

고창 채종원의 유효 집단 크기는 2020년에는 암구화 31.52, 수구화 17.95, 성숙 구과 26.54로 추정되었으며, 2021의 경우 암구화 23.64, 수구화 15.52, 성숙 구과 35.94로 추정되었다. 2022년에는 암구화 37.38,

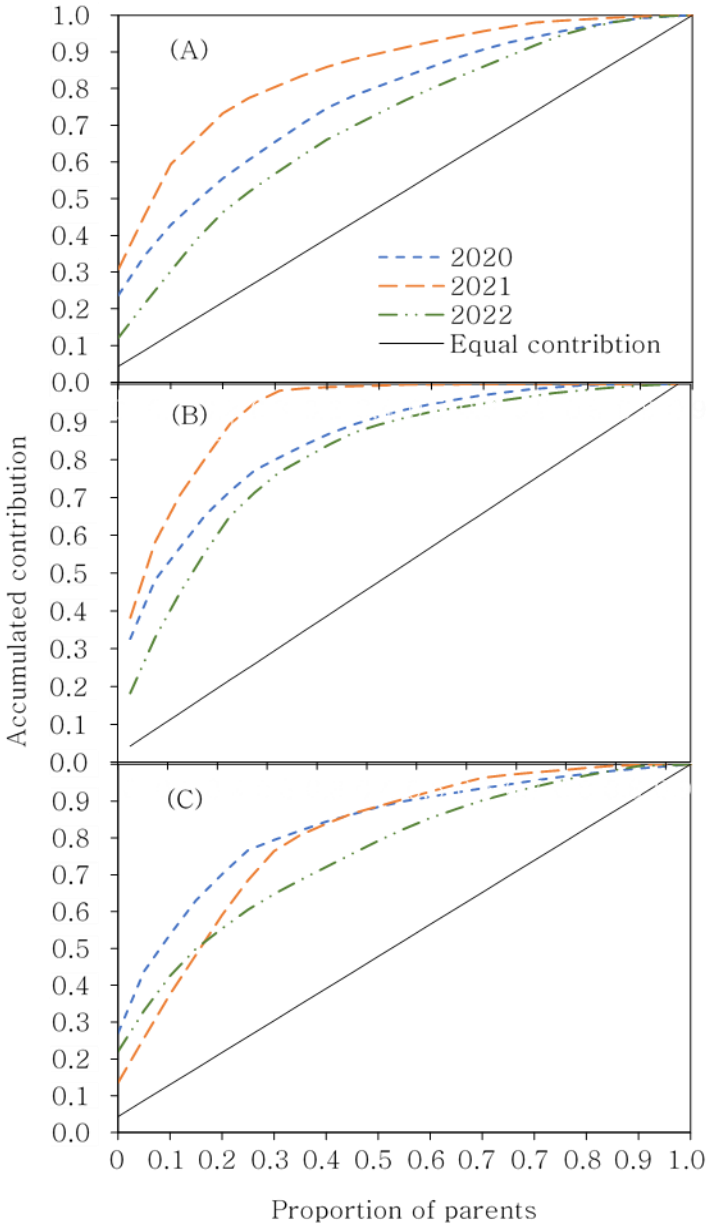


Figure 10. Parental balance curves for accumulated contribution of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) to the proportion of clones at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea during 2020~2022. Straight line represents equal contribution among the clones

수구화 19.84, 성숙 구과 20.15로 추정되었다. 암구화의 3년간 형매 계수는 평균 1.935, 수구화는 3.398, 성숙 구과는 2.299로 추정되었다. 유전 다양성은 3년간 모두 0.97 이상으로 나타나 유전 다양성 감소는 약 3%로 추정되었다(Table 3).

서귀포 채종원의 유효 집단 크기는 2020년의 경우 암구화 9.99, 수구화 6.14, 성숙 구과 7.30이었으며, 2021년의 경우 암구화 6.40, 수구화 4.32, 성숙 구과 10.71로 추정되었다. 2022년의 경우 암구화 15.45, 수구화 9.58, 성숙 구과 10.57로 추정되었으며 2021년의 구과 생산량에 대한 유효 집단 크기가 비교적 낮게 추정되었다. 수구화 개화량에 대한 상대 유효 집단 크기가 같은 해 암구화 개화량과 구과 생산량의 상대 유효 집단 크기에 비해 낮게 나타났다. 유전 다양성은 2021년 수구화를 제외한 모든 조사 항목에서 0.90 이상이었으며, 2021년의 경우 모집단과 비교하였을 때 웅성 배우자 수준에서 약 11.6%의 유전 다양성 감소가 이루어진 것으로 추정되었다(Table 4).

3년간의 결과를 종합하면, 두 채종원 모두 2022년의 개화 및 결실이 가장 우수하였으며 유효 클론 수 또한 높게 추정되었다. 그리고 3년간 상대 유효 클론 수가 대부분 25% 이상으로 나타나 유효 집단 크기는 안정적인 수준으로 판단되었다.

1.4 유전력 추정

고창 채종원 내 61개 클론에 대하여 일원 배치 분산 분석 결과를 바탕으로 분산 성분을 이용하여 2020년부터 2022년까지 3년간 개체와 클론의 협의의 유전력(h^2)을 추정하였다(Table 5).

Table 3. Clonal average (mean), sibling coefficient (Ψ), effective population size (N_s), relative population size (N_r), and genetic diversity (*GD*) for female and male strobili, and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea

Parameter	2020 (N = 61)			2021 (N = 61)			2022 (N = 61)		
	female	male	cone	female	male	cone	female	male	cone
Mean	232.1	15648.9	159.2	904.4	16747.3	472.3	815.2	26722.5	2218.0
SD	224.5	24234.8	181.5	1136.8	28669.4	394.3	647.9	38493.5	3157.8
CV	0.967	1.549	1.140	1.257	1.712	0.835	0.795	1.440	1.424
Ψ	1.935	3.398	2.299	2.580	3.931	1.697	1.632	3.075	3.027
N_s	31.52	17.95	26.54	23.64	15.52	35.94	37.38	19.84	20.15
N_r (%)	51.68	29.43	43.50	38.76	25.44	58.92	61.28	32.52	33.04
GD	0.984	0.972	0.981	0.979	0.968	0.986	0.987	0.975	0.975

SD, standard deviation; CV, coefficient of variation

Table 4. Clonal average (mean), sibling coefficient (Ψ), effective population size (N_s), relative population size (N_r), and genetic diversity (*GD*) for female and male strobili, and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea

Parameter	2020 (N = 23)			2021 (N = 23)			2022 (N =23)		
	female	male	cone	female	male	cone	female	male	cone
Mean	22.93	53.21	518.6	103.3	22780.9	153.9	4348.8	216769.6	16573.2
SD	26.17	88.22	760.8	166.2	47375.6	164.9	3040.8	256538.3	17979.4
CV	1.141	1.658	1.467	1.610	2.080	1.072	0.699	1.183	1.085
Ψ	2.303	3.748	3.152	3.591	5.325	2.148	1.489	2.401	2.177
N_s	9.989	6.136	7.297	6.404	4.319	10.71	15.45	9.581	10.57
N_r (%)	43.43	26.68	31.72	27.85	18.78	46.54	67.16	41.66	45.94
GD	0.950	0.919	0.931	0.922	0.884	0.953	0.968	0.948	0.953

SD, standard deviation; CV, coefficient of variation

Table 5. Analysis of variation and heritability (h^2) estimates for the strobilus and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea

Source	df	Female strobili			Male strobili			Cone production		
		2020	2021	2022	2020	2021	2022	2020	2021	2022
Among clones	60	22.64	20.89	17.22	55.85	77.92	77.89	19.76	21.00	9.321
Within clones	884	5.823	2.767	4.646	14.18	9.613	13.43	5.909	4.054	7.904
F−value		3.888^{***}	7.549^{***}	3.707^{***}	3.940^{***}	8.105^{***}	5.814^{***}	3.343^{***}	5.179^{***}	1.178^{ns}
$h^2_{individual}$		0.159	0.309	0.150	0.161	0.326	0.239	0.133	0.221	0.013
h^2_{clone}		0.743	0.868	0.730	0.746	0.877	0.828	0.701	0.807	0.152

ns, not significant; ***, $p < 0.001$

암구화 개체 유전력($h^2_{individual}$)은 2020년부터 2022년까지 각각 0.159, 0.309, 0.150으로 추정되었으며, 클론 유전력(h^2_{clone})은 0.743, 0.868, 0.730으로 추정되었다. 개체 유전력은 3년간 평균 0.206으로 적정한 수준이었으며, 개체 유전력에 비해 클론 유전력이 평균 0.780으로 매우 높게 나타났다(Table 5).

수구화 개화량의 개체 유전력은 연도별로 각각 0.161, 0.326, 0.239로 나타났으며 3년간 평균 0.242로 추정되었다. 수구화 개화량의 클론 유전력은 연도별 0.746, 0.877, 0.828이었으며 3년간 평균 0.817로 추정되었다(Table 5).

구과 생산량의 개체 유전력은 연도별 0.133, 0.221, 0.013으로 추정되었고, 클론 유전력은 0.701, 0.807, 0.152로 추정되었다. 고창 채종원 내 구과 생산량에 대한 클론 간 유전력은 암·수구화 개화량의 유전력에 비해 낮은 수준이었으며, 특히 2022년도 성숙 구과의 유전력이 매우 낮게 나타났다(Table 5).

서귀포 채종원 내 23개 클론에 대하여 2020년부터 2022년까지 개체와 클론의 협의의 유전력을 추정한 결과 암구화의 개체 유전력은 각각 0.149, 0.297, 0.086으로 추정되어 3년간 평균 0.177이었으며, 클론의 유전력은 각각 0.571, 0.763, 0.414로 추정되었다. 2020년부터 2022년까지 수구화의 개체 유전력은 각각 0.489, 0.077, 0.245로 추정되어 3년간 평균 0.270이었으며, 클론 유전력은 각각 0.879, 0.388, 0.712로 평균 0.659로 추정되었다(Table 6).

2020년에 추정된 유전력이 높은 수준이었으나 2021년에 급격히 감소하였으며, 2022년에 다시 적정한 수준으로 회복하는 추세를 보였다. 2020년부터 2022년까지 구과의 개체 유전력을 추정한 결과 각각 0.206, 0.408, 0.156으로 평균 0.257로 나타났으며, 클론 유전력은 0.664, 0.840,

Table 6 Analysis of variation and heritability (h^2) estimates for the strobilus and cone production at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea

Source	df	Female			Male			Cone		
		2020	2021	2022	2020	2021	2022	2020	2021	2022
Among clones	22	2.518	10.20	6.700	9.684	19.79	23.47	11.85	13.03	5.935
Within clones	186	1.080	2.414	3.922	1.169	12.123	6.763	3.987	2.084	2.454
F−value		2.332^{**}	4.225^{***}	1.708^{*}	8.287^{***}	1.633^{**}	3.470^{***}	2.972^{***}	6.252^{***}	2.419^{***}
$h^2_{\text{individual}}$		0.149	0.297	0.086	0.489	0.077	0.245	0.206	0.408	0.156
h^2_{clone}		0.571	0.763	0.414	0.879	0.388	0.712	0.664	0.840	0.587

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

0.587로 추정되었다(Table 6).

2021년도에 암구화 개체 유전력이 증가하고, 수구화의 개체 유전력이 감소하였을 때, 구과의 개체 유전력 또한 증가하는 경향을 보였으며 2022년도에 암구화의 유전력이 감소하고 수구화의 유전력이 증가하더라도 구과의 유전력은 암구화와 같이 감소하는 경향을 나타내었다(Table 6).

이와 같은 결과를 종합하였을 때, 고창과 제주 채종원에서의 경우 2021년도의 암구화와 구과 생산량의 유전력이 가장 높았으며, 3년간 개화량과 구과 생산량의 유전력 변이의 양상이 유사하였다. 그리고 암구화보다 수구화의 유전력이 대부분 높게 나타났다.

1.5 개화 및 구과 생산량 간 상관관계 분석

고창 채종원 내 암·수구화 개화량과 구과 생산량 간 단순 상관분석 및 순위 상관분석 결과, 2020년부터 2022년까지 모두 유의한 정의 상관을 보였다($p < 0.05$)(Table 7).

서귀포 채종원 내 암·수구화 개화량과 구과 생산량 간 단순 상관분석 결과, 2020년부터 2022년까지 모두 유의한 정의 상관을 보였다. 순위 상관분석 결과에서도 2020년도 수구화와 구과 생산량을 제외한 나머지는 유의한 정의 상관을 보였다($p < 0.05$)(Table 7).

고창 채종원에서 조사 연도 간 암·수구화 개화량과 구과 생산량의 순위 상관을 분석한 결과 2020년과 2022년의 암구화 개화량과 2021년과 2022년의 수구화 개화량은 유의하지 않았다($p < 0.05$) (Table 8).

서귀포 채종원에서 조사 연도 간 암·수구화 개화량과 구과 생산량의 순위 상관을 분석한 결과 2020년과 2022년의 암구화 개화량과 2020년과 2022년의 구과 생산량은 유의하지 않았다($p < 0.05$) (Table 8).

Table 7. Pearson's (above the diagonal) and Spearman's (below the diagonal) correlation coefficients among female and male strobili, and cone production at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Year	Variable	Female	Male	Cone
Gochang	2020	Female	–	0.406***	0.763***
		Male	0.412***	–	0.383***
		Cone	0.789***	0.389***	–
	2021	Female	–	0.484***	0.732***
		Male	0.484***	–	0.360***
		Cone	0.709***	0.337***	–
	2022	Female	–	0.704***	0.103**
		Male	0.638***	–	0.111**
		Cone	0.132***	0.124***	–
Seogwipo	2020	Female	–	0.273***	0.353***
		Male	0.249***	–	0.158***
		Cone	0.365***	0.090ns	–
	2021	Female	–	0.384***	0.632***
		Male	0.336***	–	0.199***
		Cone	0.634***	0.225***	–
	2022	Female	–	0.309***	0.451***
		Male	0.253***	–	0.330***
		Cone	0.549***	0.370***	–

ns, not significant; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Table 8. Spearman's correlation coefficients among years at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Variable	Year	2020	2021
Gochang	Female	2020	–	
		2021	0.295^{***}	–
		2022	0.029^{ns}	0.085^{*}
	Male	2020	–	
		2021	0.239^{***}	–
		2022	0.103^{***}	0.326^{***}
	Cone	2020	–	
		2021	0.171^{***}	–
		2022	0.158^{***}	-0.045^{ns}
Seogwipo	Female	2020	–	
		2021	0.400^{**}	–
		2022	0.074^{ns}	0.207^{***}
	Male	2020	–	
		2021	0.306^{***}	–
		2022	0.556^{***}	0.354^{***}
	Cone	2020	–	
		2021	0.283^{***}	–
		2022	0.113^{ns}	0.452^{***}

ns, not significant; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

따라서 고창과 서귀포 채종원의 경우 암구화가 많이 개화하는 개체가 수구화도 많이 개화하였으며, 구과 생산량 또한 많은 경향을 나타내었다. 하지만 연도 간 순위 상관을 확인하였을 때, 암구화와 구과의 다결실 개체는 매년 변동이 있을 것으로 판단되었다.

제2절 구과 및 종자의 유전 다양성

2.1 구과의 형태적 특성

2020년부터 2021년까지 2년간 고창과 서귀포 채종원 내 채종목에서 개체당 10개 구과를 채취한 뒤, 형태적 특성을 분석하였다.

고창 채종원에서는 2020년에 총 54개 클론의 건전 구과를 채취하였으며 클론당 평균 19개 구과를 분석하였다. 구과의 무게 평균은 0.84g, 건조구과 무게 평균은 0.25g, 폭 평균은 10.06mm, 길이 평균은 8.91mm이었다(Table 9). 조사 항목은 자연로그 변환 후 일원배치 분산 분석과 Tukey-HSD 사후 분석을 실시하였다. 구과의 형태적 특성은 클론 간 모두 유의하였으며($p < 0.05$) Tukey-HSD 사후 분석 결과, 구과의 무게와 길이는 각각 3개 그룹, 구과의 폭은 11개 그룹, 건조구과 무게는 5개 그룹으로 나누어졌다(Table A8).

2021년의 경우 총 61개 클론의 건전 구과를 채취하였으며 클론당 평균 25개 구과를 분석하였다. 클론당 무게 평균은 0.64g, 건조 구과 무게 평균은 0.26g, 폭 평균은 10.79mm, 길이 평균은 9.51mm이었다(Table 9). 구과의 형태적 특성은 클론 간 모두 유의하였으며($p < 0.05$), Tukey-HSD 사후 분석 결과, 구과의 무게는 38개 그룹으로 나누어졌다. 구과의 길이는 41개 그룹으로 나누어졌으며, 구과의 폭은 25개 그룹으로, 건조 구과의 무게는 34개 그룹으로 나누어져 2021년에

Table 9. Cone characteristics among clones at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Year	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Width (mm)	Length (mm)
Gochang	2020	0.84	0.25	10.06	8.91
	2021	0.64	0.26	10.79	9.50
Seogwipo	2020	0.55	0.23	10.30	9.37
	2021	0.56	0.25	11.26	11.40

채취한 구과의 형태적 특성이 클론 간 차이가 큰 것으로 나타났다(Table A9).

서귀포 채종원에서는 2020년에 총 23개 클론의 건전 구과를 채취하였으며, 클론당 평균 26개 구과를 분석하였다. 클론당 무게 평균은 0.55g, 건조구과 무게 평균은 0.23g, 폭 평균은 10.30mm, 길이 평균은 9.37mm이었다. 2020년에 채취한 구과의 형태적 특성에 대한 일원 배치 분산 분석 결과 모든 조사 항목에서 클론 간 유의한 차이를 보였으며($p < 0.05$), Tukey-HSD 사후 분석 결과 구과의 무게와 폭은 각각 11개 그룹, 구과의 길이는 16개 그룹, 건조 구과 무게는 13개 그룹으로 나누어졌다(Table A9).

2021년의 경우 총 21개 클론으로부터 건전 구과를 채취하였으며, 클론당 평균 21개 구과를 분석하였다. 그 결과 클론당 무게 평균은 0.56g, 건조 구과 무게 평균은 0.25g, 폭 평균은 11.26mm, 길이 평균은 11.40mm이었다(Table 9). 2021년에 채취한 구과의 형태적 특성은 일원 배치 분산 분석 결과, 구과의 길이와, 건조 구과 무게는 클론 간 유의한 차이를 보였으며($p < 0.05$), 구과의 폭과 무게는 클론 간 유의한 차이를 나타내지 않았다. Tukey-HSD 사후 분석 결과 구과의 무게와 길이는 5개 그룹, 건조 구과의 무게는 9개 그룹으로 나누어졌으며, 구과의 폭은 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table A10).

2년간 고창과 서귀포 채종원에서 생산된 구과의 경우, 형태적인 특성에는 큰 차이가 나타나지 않았으며 지역 간에도 차이가 없었다.

2.2 종자 특성 분석

2020년부터 2021년까지 고창 채종원에서 채취한 구과를 대상으로 종자 생산 능력, 성숙 종자율, 충실 종자율, 고사 배주율 및 종자 효율을

분석한 결과 종자 생산 능력은 2020년과 2021년에 각각 33.81, 37.57이었다. 2020년의 충실 종자율은 72.69%, 비립 종자율은 27.31%, 고사 배주율은 11.57%이었으며 종자 효율은 57.96%이었다. 2021년에 생산된 충실 종자율은 56.43%이었다. 비립 종자율은 43.57%로 나타나 충실 종자율과 비립 종자율의 비율이 유사하였으며, 종자 효율이 46.98%로 추정되어 2020년에 비해 낮게 나타났다(Table 10).

일원 배치 분산 분석 결과, 2년간 도출한 모든 종자 특성에서 클론 간 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). Tukey-HSD 사후 분석 결과 2020년도 종자 생산 능력은 15개 그룹, 성숙 종자율은 9개 그룹, 충실 종자율은 13개 그룹, 고사 배주율은 10개 그룹, 종자 효율은 15개 그룹으로 나누어졌다. 2021년도의 종자 생산 능력은 16개 그룹, 성숙 종자율은 30개 그룹, 충실 종자율은 28개 그룹, 고사 배주율은 12개 그룹, 그리고 종자 효율은 32개 그룹으로 나누어졌다(Tables A11, A12).

서귀포 채종원에서 2020년에 채취한 구과를 대상으로 종자 특성을 분석한 결과 종자 생산 능력은 2020년과 2021년 각각 34.94, 36.46으로 추정되었다. 2020년의 경우 충실 종자율이 9.46%, 비립 종자율이 90.54%, 고사 배주율이 33.06%로 추정되어 충실 종자 결실이 매우 저조하였으며, 종자 효율이 7.51%로 낮게 추정되었다. 2021년의 경우 충실 종자율이 25.77%, 비립 종자율이 74.23%, 고사 배주율이 3.33%로 추정되어 종자 효율이 24.36%으로 2020년에 비해 종자 효율은 증가하였지만 충실 종자 결실이 저조하였다(Table 10).

일원 배치 분산 분석 결과 2021년 비립 종자를 제외한 모든 종자

Table 10. Seed characteristics among clones at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Year	Developed seeds			Filled seed weight per cone (g)	Seed potential	Filled seeds (%)	Empty seeds (%)	Aborted ovules (%)	Seed efficiency (%)
		Total	Empty seed	Filled seed						
Gochang	2020	26.77	7.33	19.45	0.038	33.81	72.69	27.31	11.57	57.96
	2021	31.47	13.69	17.78	0.042	37.57	56.43	43.57	1.47	46.98
Seogwipo	2020	26.54	23.85	2.69	0.018	34.94	9.46	90.54	33.06	7.51
	2021	34.40	25.50	8.94	0.019	36.46	25.77	74.23	3.33	24.36

특성에서 클론 간 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). Tukey-HSD 사후 분석 결과, 2020년에 채취한 구과당 충실 종자 무게는 7개 그룹으로 나누어졌고, 종자 생산 능력은 3개 그룹으로 나누어졌으며, 성숙 종자율은 10개 그룹, 충실 종자율과 고사 배주율은 5개 그룹, 종자 효율은 7개 그룹으로 나누어졌다(Table A13). 2021년의 종자 생산 능력은 3개 그룹, 성숙 종자율과 충실 종자율 그리고 종자 효율은 5개 그룹으로 나누어졌다(Table A14). 고사 배주율은 일원 배치 분산 분석에서는 클론 간 유의한 차이가 있었지만, Tukey-HSD 사후 분석에서는 구별되지 않았다.

2020년부터 2021년까지 고창 채종원의 경우 종자 효율이 평균 53%로 종자의 효율이 다소 낮은 수준이었으며, 서귀포 채종원의 경우 종자 효율이 2년간 평균 16% 미만으로 매우 낮은 수준이었다. 그리고 고창에 비해 서귀포 채종원의 편백 종자가 2년간 평균 비립률이 82% 이상으로 매우 높고, 충실률은 평균 18% 미만으로 낮게 나타난 반면 고사 배주율은 2020년 서귀포 채종원에서의 경우를 제외하고 비교적 낮은 수준이었다.

2.3 구과 및 종자 특성의 유전력 추정

2020년부터 2021년까지 고창 채종원에서 조사한 구과 및 종자 특성의 분산 성분을 산출하여 협의의 유전력(h^2)을 추정한 결과(Table 11), 2020년의 구과의 길이, 폭, 무게에 대한 개체 유전력($h^2_{individual}$)의 경우 각각 0.115, 0.031, 0.044로 낮게 나타났으며, 2021년의 경우 0.270, 0191, 0.239로 추정되었다. 종자 생산 능력의 개체 유전력은 2020년과 2021년에 각각 0.195, 0.159이었으며, 종자 효율은 0.131,

Table 11. F-value, variance components (σ^2), and narrow-sense heritability (h^2) based on the analysis of cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea

Year	Characteristics	F	σ_c^2	σ_e^2	$h^2_{individual}$	h^2_{clone}
2020	L	3.392***	0.016	0.002	0.115	0.705
	Wd	1.599***	0.023	0.001	0.031	0.374
	Wt	1.813***	0.039	0.002	0.044	0.448
	DWt (g)	2.125***	0.008	0.000	0.057	0.529
	FSWt (g)	2.059***	0.001	0.000	0.053	0.514
	SP	5.560***	0.011	0003	0.195	0.820
	DS (%)	3.631***	0.115	0.016	0.123	0.725
	FS (%)	4.330***	0.072	0.013	0.151	0.769
	ES (%)	3.552***	1.007	0.137	0.120	0.718
	AO (%)	3.026***	1.645	0.177	0.097	0.670
	SE (%)	3.839***	0.188	0.028	0.131	0.740
2021	L	10.209***	0.007	0.003	0.270	0.902
	Wd	6.885***	0.007	0.002	0.191	0.855
	Wt	8.825***	0.008	0.003	0.239	0.887
	DWt (g)	9.068***	0.002	0.001	0.245	0.890
	FSWt (g)	6.838***	0.000	0.000	0.190	0.854
	SP	5.700***	0.005	0.001	0.159	0.825
	DS (%)	12.048***	0.042	0.018	0.308	0.917
	FS (%)	6.637***	0.145	0.033	0.185	0.849
	ES (%)	6.997***	0.328	0.079	0.194	0.857
	AO (%)	3.760***	0.577	0.064	0.100	0.734
	SE (%)	6.657***	0.194	0.044	0.185	0.850

***, $p < 0.001$

n, number of individuals (976, 2020; 1476, 2021); N, number of clones (54, 2020; 61, 2021)

L, length; Wd, width; Wt, fresh weight; DWt, dry weight of mature cone; FSWt, filled seed weight; SP, seed potential; DS, developed seed; FS, filled seed rate; ES, empty seed rate; AO, aborted ovlues rate; SE, seed efficiency

0.185로 추정되었다. 2년간 고사 배주의 유전력은 0.097과 0.100으로 낮게 추정되었다.

2020년부터 2021년까지 서귀포 채종원에서 구과 및 종자 특성의 분산 성분을 산출하여 협의의 유전력을 추정한 결과(Table 12), 2020년에 채취한 구과의 길이, 폭, 무게에 대한 개체 유전력은 각각 0.456, 0.354, 0.290이었으며 클론 유전력은 모두 0.89 이상으로 매우 높게 추정되었다. 2021년에 채취한 구과의 길이, 폭, 무게에 대한 개체 유전력은 0.104, 0.022, 0.485로 추정되어 폭의 유전력은 낮았으며, 비립 종자와 고사 배주 또한 개체 유전력이 각각 0.009, 0.076으로 매우 낮은 수준이었다.

이와 같은 결과를 종합하였을 때, 고창과 서귀포 채종원에서 채취한 종자의 경우 두 지역 모두 성숙 종자율과 충실 종자의 유전력이 다른 종자 특성에 비해 높게 나타났으며, 개체 유전력에 비해 클론 유전력이 높게 나타났다.

2.4 구과 및 종자 특성 간 상관관계 분석

구과의 형태적 특성(길이, 폭, 무게)과 구과 분석을 통해 추정한 종자 특성(종자 생산 능력, 성숙 종자율, 충실 종자율, 고사 배주율, 및 종자 효율) 간의 상호 관계를 설명하기 위해 단순 상관을 분석하였다.

고창과 서귀포 채종원에서 2020년과 2021년에 채취한 구과의 경우 형태적 특성 간에는 모두 유의한 정의 상관을 나타내었다. 그리고 구과의 형태적인 특성과 종자 생산 능력, 충실 종자율, 성숙 종자율, 종자 효율 간에는 모두 유의한 정의 상관을 보였다. 반면, 구과의 형태적인 특성과 비립 종자율, 고사 배주율 간에는 부의 상관을 나타내었다(Tables 13, 14).

Table 12. F-value, variance components (σ^2), and narrow-sense heritability (h^2) based on the analysis of cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea

Year	Characteristics	F	σ_c^2	σ_e^2	$h^2_{individual}$	h^2_{clone}
2020	L	18.289***	0.008	0.009	0.456	0.945
	Wd	12.289***	0.003	0.006	0.354	0.919
	Wt	9.389***	0.006	0.015	0.290	0.893
	DWt (g)	16.646***	0.002	0.003	0.432	0.940
	FSWt (g)	4.267***	0.005	0.019	0.219	0.766
	SP	7.227***	0.056	0.185	0.232	0.862
	DS (%)	6.176***	0.180	0.716	0.201	0.838
	FS (%)	4.676***	0.041	0.231	0.152	0.786
	ES (%)	3.419***	0.068	0.576	0.105	0.707
	AO (%)	3.318***	0.004	0.031	0.101	0.699
	SE (%)	6.393**	0.366	1.397	0.208	0.844
2021	L	3.051***	0.006	0.047	0.104	0.672
	Wd	1.400ns	0.001	0.054	0.022	0.286
	Wt	17.583ns	0.006	0.007	0.485	0.943
	DWt (g)	19.221***	0.003	0.003	0.508	0.948
	FSWt (g)	7.429***	0.00011	0.00030	0.268	0.866
	SP	7.486***	0.017	0.041	0.298	0.882
	DS (%)	8.173***	0.195	0.479	0.289	0.878
	FS (%)	1.162ns	0.004	0.384	0.009	0.139
	ES (%)	2.459***	0.036	0.441	0.076	0.593
	AO (%)	4.410***	0.001	0.008	0.162	0.773
	SE (%)	7.198***	0.248	0.706	0.260	0.861

ns, not significant; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

n, number of individuals (580, 2020; 435, 2021); N, number of clones (23, 2020; 21, 2021)

L, length; Wd, width; Wt, fresh weight; DWt, dry weight of mature cone; FSWt, filled seed weight; SP, seed potential; DS, developed seed; FS, filled seed rate; ES, empty seed rate; AO, aborted ovlues rate; SE, seed efficiency

Table 13. Pearson's correlation coefficient between cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea from 2020 (below diagonal) to 2021 (above diagonal)

Variable	Wt (g)	Wd (mm)	L (mm)	DWt (g)	FSWt (g)	SP	DS (%)	FS (%)	ES (%)	AO (%)	SE (%)
Wt (g)	–	0.925***	0.893***	0.965***	0.773***	0.409***	0.457***	0.360***	−0.298***	−0.339***	0.531***
Wd (mm)	0.235***	–	0.825***	0.897***	0.719***	0.349***	0.465***	0.348***	−0.287***	−0.352***	0.525***
L (mm)	0.270***	0.584***	–	0.865***	0.697***	0.407***	0.456***	0.312***	−0.253***	−0.335***	0.490***
DWt (g)	0.219***	0.168***	0.301***	–	0.788***	0.393***	0.470***	0.369***	−0.305***	−0.346***	0.545***
FSWt (g)	0.199***	0.266***	0.316***	0.415***	–	0.334***	0.430***	0.695***	−0.629***	−0.373***	0.807***
SP	0.144***	0.147***	0.254***	0.138***	0.135***	–	−0.094***	0.130***	−0.128***	−0.162***	0.064*
DS (%)	0.215***	0.284***	0.326***	0.291***	0.305***	−0.134***	–	0.05*	0.016^{ns}	−0.347***	0.534***
FS (%)	0.099**	0.189***	0.204***	0.132***	0.345***	0.034^{ns}	0.017^{ns}	–	−0.766***	−0.296***	0.870***
ES (%)	−0.079*	−0.123***	−0.129***	−0.085**	−0.269***	−0.045^{ns}	0.110***	−0.768***	–	0.226***	−0.647***
AO (%)	−0.099**	−0.166***	−0.173***	−0.215***	−0.163***	0.038^{ns}	−0.404***	−0.043^{ns}	0.029^{ns}	–	−0.420***
SE (%)	0.227***	0.336***	0.377***	0.307***	0.451***	−0.084**	0.783***	0.635***	−0.393***	−0.338***	–

ns, not significant; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

L, length; Wd, width; Wt, fresh weight; DWt, dry weight of mature cone; FSWt, filled seed weight; SP, seed potential; DS, developed seed; FS, filled seed rate; ES, empty seed rate; AO, aborted ovlues rate; SE, seed efficiency

Table 14. Pearson's correlation coefficient between cone and seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea from 2020(below diagonal) to 2021 (above diagonal)

Variable	Wt (g)	Wd (mm)	L (mm)	DWt (g)	FSWt (g)	SP	DS (%)	FS (%)	ES (%)	AO (%)	SE (%)
Wt (g)	–	0.340***	0.356***	0.957***	0.672***	0.369***	0.518***	0.447***	−0.301***	−0.277***	0.550***
Wd (mm)	0.771***	–	0.118**	0.324***	0.212***	0.142***	0.141***	0.153***	−0.106**	−0.157***	0.178***
L (mm)	0.750***	0.856***	–	0.367***	0.281***	0.012^{ns}	0.136***	0.178***	−0.125***	−0.068^{ns}	0.204***
DWt (g)	0.808***	0.891***	0.851***	–	0.708***	0.373***	0.492***	0.473***	−0.376***	−0.268***	0.569***
FSWt	0.011^{ns}	0.017^{ns}	0.043^{ns}	0.042^{ns}	–	0.246***	0.241***	0.719***	−0.730***	−0.270***	0.750***
SP	0.175***	0.176***	0.24***	0.218***	0.069^{ns}	–	−0.070^{ns}	0.203***	−0.059^{ns}	−0.129***	0.175***
DS (%)	0.454***	0.520***	0.501***	0.561***	−0.054^{ns}	0.282***	–	0.096**	0.148***	−0.186***	0.321***
FS (%)	0.335***	0.367***	0.293***	0.369***	−0.028^{ns}	0.0890*	0.204***	–	−0.581***	−0.317***	0.973***
ES (%)	−0.151***	−0.168***	−0.066^{ns}	−0.167***	−0.069^{ns}	−0.050^{ns}	−0.100*	−0.578***	–	0.151***	−0.525***
AO (%)	−0.233***	−0.337***	−0.283***	−0.351***	0.065^{ns}	0.062^{ns}	−0.372***	−0.189***	0.1590***	–	−0.342***
SE (%)	0.421***	0.454***	0.384***	0.474***	−0.035^{ns}	0.135^{ns}	0.374***	0.972***	−0.587***	−0.256***	–

ns, not significant; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

L, length; Wd, width; Wt, fresh weight; DWt, dry weight of mature cone; FSWt, filled seed weight; SP, seed potential; DS, developed seed; FS, filled seed rate; ES, empty seed rate; AO, aborted ovlues rate; SE, seed efficiency

2.5 발아력 검정

2021년에 고창 채종원 61클론 전수로부터 채취한 충실 종자에 대해 발아력을 검증하였다. 경남 16 등 총 33개 클론(총 148라멧)이 발아하였으며, 경남 19의 라멧이 가장 많았다. 최소 2.25개부터 최대 32개로 클론당 평균 17.3개 종자가 발아하였으며, 발아율은 최소 0.75%(경남 28)부터 최대 10.67%이었고, 클론당 평균 발아율은 5.09%로 나타났다(Table A15). 발아율의 개체 유전력은 0.132, 클론 유전력은 0.389로 추정되었다(Table 15).

발아율과 충실 종자 수, 충실 종자 무게, 종자 효율 간에는 유의한 정의 상관을 보였으며, 발아율과 충실 종자율 간에는 정의 상관을 보였지만 유의하지 않았다(Table 16).

2021년에 서귀포 채종원 23개 클론 전수로부터 생산된 충실 종자에 대한 발아력 검증 결과, 총 5개 클론(총 13개체)과 단일 유전자 2개체가 발아하였으며, 클론당 평균 2개체가 발아하였다. 발아율은 최소 0.33%부터 최대 10.67%로 나타났으며 클론당 평균 발아율은 3.13%이었다(Table A16). 따라서 두 채종원 모두 종묘사업실시요령(2017)에 따른 편백 종자의 표준 발아율(12%)에 비해 매우 낮은 수준으로 나타났다.

제3절 교배 양식 분석

3.1 유전 다양성 분석

10개의 microsatellite 표지로 편백 채종원 내 모수와 종자 표본의 대립 유전자 수(N_a), 유효 대립 유전자 수(N_e), 고유 대립 유전자 수(종자, N_{os}; 모수(클론), N_c), 이형 접합도 관측값(H_o) 및 기댓값(H_e), Shannon의 정보량 지수(I), 고정지수(F) 등을 분석하였다.

Table 15. One-way ANOVA of seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021

Variable	DF	SS	MS	F	p
Between	33	797.14	24.16	1.636	0.030*
Within	113	1668.93	14.77		
Total	146	2466.07			
$h^2_{(individual)}$			0.132		
$h^2_{(clone)}$			0.389		

*, $p < 0.05$

Table 16. Pearson's correlation coefficient and Spearman's correlation coefficient of seed germination rate at the seed orchard of C. obtusa in Gochang, Korea in 2021

Variable	GR (%)	
	Pearson's correlation	Spearman's correlation
FS	0.254^{***}	0.268^{***}
FSWt	0.223^{***}	0.244^{***}
FS (%)	0.147^{ns}	0.116^{ns}
SE (%)	0.230^{***}	0.252^{***}

ns, not significant; ***, $p < 0.001$

GR, germination rate of seeds; FS, number of filled seeds; FSWt, filled seeds weight per cone; SE, seed efficiency

고창 채종원 내 구과에서 채취한 성숙 종자 671개와 분석 종자의 모수를 포함한 성목 194개체에서 최대 34개(Co2047), 최소 4개(Co3033)로 총 164개의 대립 유전자를 확인하였다(Table 17). 유전 다양성 지수를 확인할 수 있는 이형 접합도 관측값과 기댓값은 각각 0.635~0.934(평균, 0.772)와 0.511~0.939 (평균, 0.719)로 추정되었으며 Co2023, Co2047, Co3026 표지는 이형 접합도 관측치가 기대치보다 낮았다(Table 17). 각 표지에서 모수와 종자의 유전적 차이는 평균 1.6%로 추정되었다(Table 17). 유효 대립 유전자 수는 최대 16.5개(Co2047)과 최소 1.5개(Co3026) 였으며 성목과 종자에서만 확인된 대립 유전자 수는 각각 13개(S.E, 0.473)와 27개(S.E, 0.597)이었다(Table 17).

고창 채종원의 모수와 차대(종자) 간 유전 다양성을 비교하였을 때, 대립 유전자 수는 각각 13.8개(표준 오차, 3.021)와 15.2(표준 오차, 3.144)개로 확인되었으며, 유효 대립 유전자 수는 각각 6.486(표준 오차, 1.578), 5.797(표준 오차, 1.508)로 확인되었다 (Table 18). Shannon의 정보량 지수는 각각 1.844(표준 오차, 0.249), 1.713(표준 오차, 0.250)이었으며, 고정지수의 경우 모수는 −0.062, 종자는 −0.087로 확인되었다(Table 18). 따라서 Hardy−Weinberg 평형 상태일 때보다 이형 접합체 빈도가 동형 접합체 빈도보다 높은 것으로 추정되었다.

서귀포 채종원의 구과에서 채취한 성숙 종자 97개와 종자의 모수를 포함한 성목 86개체에서 총 100개의 대립 유전자를 확인하였으며, 최대 24개(Co2023), 최소 3개(Co3033)의 대립 유전자를 확인하였다(Table 17). 성목에서만 확인된 대립 유전자 수는 총 14개(표준 오차, 0.499)이었으며, 종자에서만 확인된 대립 유전자 수는 총 20개(표준 오차,

Table 17. Polymorphic information of 10 microsatellite markers at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Locus	N_a	N_e	N_{os}	N_c	I	H_o	H_e	*F*
Gochang	Co2018	12	4	5	2	1.538	0.884	0.75	0.003
	Co2023	31	10.8	3	5	2.688	0.849	0.908	0.005
	Co2043	22	4	4	2	1.887	0.787	0.748	0.003
	Co2047	34	16.5	4	0	3.009	0.913	0.939	0.004
	Co2050	23	11.2	3	1	2.612	0.934	0.911	0.004
	Co3026	5	1.5	0	0	0.772	0.158	0.353	0.005
	Co3033	4	2.1	0	1	0.792	0.771	0.521	0.001
	Co4012	10	3.7	2	1	1.576	0.892	0.731	0.105
	Co4014	13	2	5	0	1.115	0.635	0.511	0.027
	Co4049	11	5.5	1	1	1.84	0.898	0.817	0.001
Total (mean)		165	(6.1)	27	13	(1.783)	(0.772)	(0.719)	(0.016)
Seogwipo	Co2018	6	3.4	1	1	1.322	0.769	0.706	0.012
	Co2023	24	10.9	7	1	2.597	0.847	0.909	0.010
	Co2043	16	7.9	2	2	2.251	0.891	0.873	0.040
	Co2047	22	12.5	3	4	2.686	0.842	0.92	0.013
	Co2050	20	7.1	4	2	2.306	0.775	0.859	0.010
	Co3026	8	1.7	0	4	0.896	0.191	0.400	0.027
	Co3033	3	2	1	0	0.706	0.847	0.499	0.009
	Co4012	6	2.6	1	0	1.263	0.852	0.622	0.002
	Co4014	4	2.1	0	0	0.929	0.694	0.516	0.102
	Co4049	8	4.6	1	0	1.737	0.809	0.784	0.005
Total (mean)		100	(5.5)	20	14	(1.669)	(0.752)	(0.709)	(0.023)

Na, number of different alleles; Ne, number of effective alleles; Nos, number of only presented in off-springs (seeds); Nc, number of only presented in seed orchard clones (adult trees); I, Shannon's information index; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; *F*, (He − He) / He

Table 18. Genetic diversity of the adult clones and the seeds at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on the analysis using 10 microsatellite markers (the standard deviation is in parentheses)

Variable	Locus	N	N_a	N_e	I	H_o	H_e	*F*
Clone	Co2018		7.0	4.2	1.532	0.948	0.761	−0.247
	Co2023		28.0	11.9	2.764	0.758	0.916	0.173
	Co2043		18.0	4.6	2.022	0.803	0.781	−0.028
	Co2047		30.0	15.9	3.005	0.938	0.937	−0.001
	Co2050		20.0	12.1	2.667	0.923	0.918	−0.006
	Co3026		5.0	1.6	0.807	0.052	0.373	0.862
	Co3033		4.0	2.0	0.741	0.851	0.503	−0.692
	Co4012		8.0	4.3	1.680	0.943	0.766	−0.231
	Co4014		8.0	2.6	1.337	0.825	0.622	−0.326
	Co4049		10.0	5.6	1.885	0.923	0.822	−0.123
	Total	194	13.8	6.5	1.844	0.796	0.740	−0.062
			(3.0)	(1.6)	(0.249)	(0.085)	(0.059)	(0.127)
Seed	Co2018		10.0	3.9	1.518	0.866	0.744	−0.163
	Co2023		26.0	10.1	2.610	0.875	0.901	0.029
	Co2043		20.0	3.8	1.824	0.782	0.737	−0.062
	Co2047		34.0	15.7	2.956	0.906	0.936	0.032
	Co2050		22.0	10.6	2.562	0.937	0.906	−0.035
	Co3026		5.0	1.5	0.743	0.189	0.345	0.452
	Co3033		3.0	2.1	0.802	0.748	0.525	−0.424
	Co4012		9.0	2.8	1.336	0.878	0.647	−0.357
	Co4014		13.0	1.9	0.962	0.58	0.466	−0.245
	Co4049		10.0	5.4	1.818	0.891	0.816	−0.093
	Total	671	15.2	5.8	1.713	0.765	0.702	−0.087
			(3.1)	(1.5)	(0.250)	(0.072)	(0.064)	(0.077)
Overall	Total	865	14.5	6.1	1.779	0.781	0.721	−0.074
			(2.1)	(1.1)	(0.172)	(0.054)	(0.043)	(0.072)

N, number of samples; Na, number of different alleles; Ne, number of effective alleles; I, Shannon's information index; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; *F*, fixation index, (He − Ho) / He = 1 − (Ho / He)

0.683)이었다(Table 17). 이형 접합도 관측값은 0.191~0.891(평균, 0.752)로 확인되었다. Co2023, Co2047, Co2050, Co3026 표지의 이형 접합도 관측치가 기대치보다 낮았으며 특히 Co3026 표지의 이형 접합도 관측치가 매우 낮게 나타났다. 각 표지에서 모수와 종자의 유전적 차이는 평균 2.3%로 크지 않았다(Table 17).

서귀포 편백 채종원의 모수와 차대(종자) 간 유전 다양성을 비교하였을 때, 대립 유전자 수는 각각 10.3개(표준 오차, 2.300)와 9.7개(표준 오차, 2.000)로 확인되었으며, 유효 대립 유전자 수는 각각 5.5(표준 오차, 1.300), 4.7(표준 오차, 0.900)로 확인되었다(Table 19). Shannon의 정보량 지수는 각각 1.619(표준 오차, 0.257), 1.564(표준 오차, 0.202)으로 나타났다. 고정지수는 모수는 0.037, 종자는 −0.206으로 확인되었다(Table 19). 따라서 서귀포의 경우 모수는 동형 접합체의 빈도가 이형 접합체 빈도보다 높은 것으로 나타났으며, 종자의 경우 이형 접합체 빈도가 동형 접합체 빈도보다 높은 것으로 나타났다.

이와 같은 결과를 종합하였을 때, 고창과 서귀포 채종원 모두 표지의 이형 접합도 관측값이 평균 0.75 이상으로 나타났다.

고창 채종원에서 종자의 유전자형만 아는 경우 모수 또는 화분수를 제외한 관련 없는 개체를 소거할 확률(EP1)은 10개 유전자좌 평균 0.402이었으며, 종자와 모수의 유전자형을 아는 경우 후보 화분수를 제외한 나머지 관련 없는 개체를 소거할 확률(EP2)은 평균 0.544이었다. 유전자좌 정보 다형성(PIC)은 평균 0.683이었으며, 개체를 구별하지 못할 확률(NE−I)은 평균 0.153, 같은 모수에서 생산된 종자를 구별하지 못할 확률(NE−SI)은 평균 0.432로 추정되었다(Table 20).

서귀포 채종원에서 종자의 유전자형만 아는 경우, 모수와 화분수를

Table 19. Genetic diversity of the adult clones and the seeds at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea based on the analysis using 10 microsatellite markers (the standard deviation is in parentheses)

Variable	Locus	N	Na	Ne	I	Ho	He	*F*
Clone	Co2018		5.0	3.7	1.395	0.779	0.727	−0.071
	Co2023		23.0	11.3	2.612	0.744	0.911	0.183
	Co2043		14.0	6.3	2.100	0.895	0.842	−0.063
	Co2047		18.0	12.2	2.622	0.709	0.918	0.227
	Co2050		18.0	8.8	2.456	0.756	0.886	0.147
	Co3026		4.0	1.5	0.641	0.000	0.322	1.000
	Co3033		3.0	2.0	0.706	0.674	0.487	−0.384
	Co4012		6.0	2.7	1.272	0.860	0.626	−0.375
	Co4014		4.0	1.5	0.606	0.372	0.316	−0.179
	Co4049		8.0	4.9	1.782	0.884	0.795	−0.112
	Total	86	10.3	5.5	1.619	0.667	0.683	0.037
			(2.3)	(1.3)	(0.257)	(0.088)	(0.074)	(0.126)
Seed	Co2018		5.0	3.1	1.189	0.763	0.674	−0.132
	Co2023		17.0	9.0	2.408	0.938	0.888	−0.056
	Co2043		14.0	6.0	1.988	0.887	0.834	−0.063
	Co2047		19.0	10.0	2.505	0.959	0.900	−0.065
	Co2050		16.0	5.5	2.014	0.784	0.817	0.041
	Co3026		8.0	1.8	0.96	0.361	0.450	0.198
	Co3033		2.0	2.0	0.693	1.000	0.500	−1.000
	Co4012		5.0	2.6	1.241	0.845	0.617	−0.371
	Co4014		4.0	2.5	1.002	0.979	0.596	−0.642
	Co4049		7.0	4.3	1.637	0.742	0.768	0.033
	Total	97	9.7	4.7	1.564	0.826	0.704	−0.206
			(2.0)	(0.9)	(0.202)	(0.059)	(0.051)	(0.115)
Overall	Total	183	10.0	5.1	1.591	0.747	0.694	−0.084
			(1.5)	(0.8)	(0.159)	(0.055)	(0.044)	(0.088)

N, number of samples; Na, number of different alleles; Ne, number of effective alleles; I, Shannon's information index; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; *F*, fixation index, (He − Ho) / He = 1 − (Ho / He)

Table 20. Polymorphic information and exclusion probabilities of 10 microsatellites markers at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Locus	PIC	EP1	EP2	NE−I	NE−SI	*F*(null)
Gochang	Co2018	0.707	0.344	0.519	0.105	0.402	−0.086***
	Co2023	0.901	0.690	0.816	0.015	0.300	0.034***
	Co2043	0.726	0.384	0.568	0.086	0.397	−0.033ns
	Co2047	0.936	0.782	0.877	0.007	0.282	0.014ns
	Co2050	0.904	0.695	0.820	0.015	0.298	−0.012*
	Co3026	0.270	0.042	0.154	0.527	0.741	0.245***
	Co3033	0.409	0.136	0.217	0.342	0.575	−0.198***
	Co4012	0.699	0.340	0.523	0.105	0.410	−0.116***
	Co4014	0.480	0.146	0.309	0.269	0.562	−0.147***
	Co4049	0.793	0.464	0.640	0.058	0.356	−0.048***
	Mean	0.683	0.402	0.544	0.153	0.432	−0.035
Seogwipo	Co2018	0.651	0.280	0.448	0.142	0.432	−0.053***
	Co2023	0.902	0.689	0.816	0.015	0.300	0.034 ns
	Co2043	0.860	0.592	0.745	0.029	0.321	−0.010 ns
	Co2047	0.915	0.722	0.838	0.012	0.293	0.043 ns
	Co2050	0.846	0.570	0.727	0.033	0.329	0.054 ns
	Co3026	0.383	0.088	0.237	0.376	0.644	0.348***
	Co3033	0.377	0.124	0.190	0.373	0.594	−0.260***
	Co4012	0.587	0.225	0.404	0.178	0.483	−0.212***
	Co4014	0.465	0.136	0.281	0.285	0.563	−0.184***
	Co4049	0.756	0.413	0.592	0.075	0.377	−0.016 ns
	Mean	0.674	0.384	0.528	0.152	0.434	−0.026

ns, not significant; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

N, number of alleles per locus; PIC, polymorphic information content; EP1, exclusion probability of first parent; EP2, exclusion probability of second parent; NE−I, combined non−exclusion probability of identity; NE−SI, non−exclusion probability of sib identity; *F*, null allele frequency

제외한 관련 없는 개체를 소거할 확률은 유전자좌 평균 0.384이었으며, 종자와 모수의 유전자형을 아는 경우 후보 화분수를 제외한 나머지 관련 없는 개체를 소거할 확률은 평균 0.528로 확인되었다. 유전자좌 정보 다형성은 평균 0.674이었으며, 개체를 구별하지 못할 확률은 0.152, 같은 모수의 종자를 구별하지 못할 확률은 0.434로 추정되었다(Table 20).

두 지역의 채종원에서 확인한 결과, 유전자좌 정보 다형성은 평균 0.679로 추정되었다. 분석에 사용한 표지 중 Co3026과 Co3033은 종자의 유전자형으로부터 모수와 화분수를 찾아낼 확률이 낮았고, 유전좌위 다형성 정보량 또한 가장 낮았으며, 개체를 구별하지 못할 확률과 같은 모수의 종자를 구별하지 못할 확률이 높은 값을 나타내었다. 따라서 Co3026과 Co3033 표지는 분석 효율이 낮아 추후 편백을 대상으로 한 연구에서는 제외하는 것이 타당할 것으로 판단되었다.

3.2 교배 양식

고창 채종원 내 교배 양식 유전 모수를 MLTR Ver. 3.2로 분석한 결과, 다수 유전자좌 타가 교배율(t_m)은 0.982, 양친 근친 교배율(t_m-t_s)은 0.028로 추정되었다. 부계 상관(r_p, 0.172)과 자가 교배율(r_s, 0.152)은 낮은 수준으로 나타났다(Table 21).

서귀포 채종원 내 교배 양식 유전 모수 분석 결과, 다수 유전자좌 타가 교배율이 1.000, 양친 근친 교배율은 0.059로 추정되었으며, 부계 상관은 0.064과 자가 교배율은 0.110으로 낮은 수준이었다(Table 21).

따라서 고창과 서귀포 채종원의 경우 대부분 타가 교배로 종자가 생산되며, 다수의 화분수가 교배에 기여하는 것으로 판단되었다.

Table 21. Estimates of inbreeding parameters from progeny arrays at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea in 2021 based on the analysis using 10 microsatellites markers (The standard deviation is in the parenthesis, 1,000 BT)

Location	t_m	t_m-t_s	r_p	r_s
Gochang	0.982	0.028	0.172	0.152
	(0.011)	(0.010)	(0.024)	(0.071)
Seogwipo	1.000	0.059	0.064	0.110
	(0.000)	(0.038)	(0.017)	(0.010)

t_m, multi-locus out-crossing rate; t_s, single locus out-crossing rate; t_m-t_s, bi-parental inbreeding; r_p, multi-locus correlation of out-crossed paternity within progeny; r_s, correlation of selfing among loci

3.3 화분원의 유전적 분화

Analysis of molecular variation(AMOVA) 결과, 고창 채종원의 경우 전체 유전 변이 중 클론 간 변이는 13%, 개체 변이는 87%로 나타났다. 모수의 위치에 따라 화분원의 유전적 구성이 달라짐을 가정하고, TwoGener 방법으로 추정한 화분원의 유전적 분화(Φ_{ft})는 0.134로 확인되었다(Table 22). 고창 채종원의 평균 유효 화분 이동 거리(δ)의 추정에 이용된 임분 밀도(d)는 ha당 130본이며, 분석에 사용된 30개 모수의 평균 거리는 55.6m로 계산하였다. 정규 확산 모델을 가정한 평균 화분 이동 거리는 5.58m로 확인되었으며, 유효 밀도와 화분원의 유전적 분화에서 추정된 기여 화분수의 분포 범위(A_{ep})는 250m^2 로 추정되었다(Table 23).

서귀포 채종원 내 유전 변이 중 모수 간 변이는 33%, 개체 변이는 67%로 나타났다. TwoGener 방법으로 추정한 화분원의 유전적 분화(Φ_{ft})는 0.33으로 확인되었다(Table 22). 평균 유효 화분 이동 거리(δ)의 추정에 이용된 임분 밀도(d)는 ha당 125본이며, 분석에 사용된 5개 모수의 평균 거리는 11.5m로 계산하였다. 정규 확산 모델을 가정한 평균 화분 이동 거리는 3.892m로 확인되었으며, 유효 밀도와 화분원의 유전적 분화에서 추정된 기여 화분수의 분포 범위(A_{ep})는 120m^2로 추정되었다(Table 23).

따라서 두 채종원에서 교배에 기여하는 화분원은 유전적으로 다양할 가능성이 있으며, 모수와 가까운 거리에 위치한 개체가 교배에 기여할 확률이 높고 모수 간 거리가 증가하더라도 모수가 갖는 화분원의 유전적 구성은 달라지지 않는 것으로 추정되었다.

3.4 부계 유전자형 및 화분 오염률 추정

Table 22. Summary of analysis of molecular variance (AMOVA) at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea in 2021

Location	Source	df	SS	EMS	Est. Var.	%	Φ_{ft}
Gochang	Among mothers	29	352.5	12.156	0.423	13	
	Within mothers	641	1744.2	2.721	2.721	87	0.134***
	Total	670	2096.8		3.144	100	
Seogwipo	Among mothers	4	176.6	44.144	2.047	33	
	Within mothers	97	403.9	4.164	4.164	67	0.330***
	Total	101	580.4		6.210	100	

***, $p < 0.001$

Table 23. Pollen dispersal estimation for 5 density values at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	d (trees/ha)	de/d	N_{ep}	A_{ep}	d (m)
Gochang	130.0	1.000	3.731	0.029	5.990
	65.0	0.500	3.731	0.057	8.471
	43.3	0.333	3.731	0.086	10.375
	32.5	0.250	3.731	0.115	11.980
	26.0	0.200	3.731	0.144	13.394
Seogwipo	125.0	1.000	1.515	0.012	3.892
	62.5	0.500	1.515	0.024	5.505
	41.7	0.333	1.515	0.036	6.742
	31.3	0.250	1.515	0.048	7.785
	25.0	0.200	1.515	0.061	8.704

2021년에 고창 채종원 30개 모수에서 채취한 총 671개 종자를 대상으로 화분 오염률을 추정하였다. 최소 9개 유전자좌를 기준으로 6개 종자를 제외한 665개 종자로부터 화분수를 추정한 결과(Table 24), 2021년에 고창 편백 채종원 내 30개 모수에서 생산된 종자의 화분 오염률은 모수별 최소 0%에서 최대 20%이었으며, 타가 교배율은 각 모수별 평균 94.21%로 높은 수준이었다. 화분수가 모수와 동일한 종자는 총 665개 종자 중 28개(4.69%)로 확인되었으며, 모수 '8766'의 자배 비율이 60%로 가장 높게 나타났다(Table 25). 최소 6개 유전자좌를 기준으로 671개 종자로부터 화분수를 추정한 결과, 화분 오염률은 0%이었으며, 타가 교배율은 각 모수별로 최대 100% 부터 최소 53.3%로 높은 수준이었다. 화분수가 모수와 동일한 종자는 총 671개 종자 중 33개(5.39%)로 확인되었다(Table 26). 본 연구의 결과 최소 분석 표지의 수에 따라 결과가 다르게 나타났다.

2021년에 서귀포 편백 채종원 5개 모수로부터 채취한 총 97개 종자에서 최소 6개 유전자좌를 기준으로 화분 오염률을 추정한 결과(Table 24), 화분 오염률은 0%이었으며, 타가 교배율은 각 모수별로 최대 100%부터 최소 88.24%로 매우 높은 수준이었다. 모수와 화분수가 동일한 종자는 총 6개(4.86%)로 확인되었다(Table 27).

따라서 MLTR 프로그램으로 분석한 결과와 마찬가지로 두 지역 채종원 모두에서 타가 교배율은 높고, 화분 오염률과 자가 교배율은 낮게 나타났다.

Table 24. Paternity analysis of seeds from mother trees at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Location	Confidence level (%)	Critical delta	Assignment rate (%)	
			Observed	Expected
Gochang	99	8.18	7 (1%)	6 (1%)
(n = 30)	95	7.41	18 (3%)	7 (1%)
	< 95		647 (97%)	658 (99%)
	Total		665 (100%)	665 (100%)
Seogwipo	99	9.56	4 (4%)	15 (16%)
(n = 5)	95	7.80	9 (9%)	29 (30%)
	< 95		88 (91%)	68 (70%)
	Total		97 (100%)	97 (100%)

n, number of mother trees

Table 25. Pollen contamination rates trees at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on at least 9 loci

Mother tree	N	M	S	S (%)	PC (%)	OC (%)
8913	19	6	1	5.26	0.00	94.74
8882	17	13	0	0.00	0.00	100.00
8856	24	17	0	0.00	0.00	100.00
8854	24	14	1	4.17	0.00	95.83
8843	24	11	0	0.00	0.00	100.00
8814	31	13	2	6.45	0.00	93.55
8813	21	12	0	0.00	0.00	100.00
8811	19	9	0	0.00	0.00	100.00
8785	21	9	0	0.00	0.00	100.00
8768	14	8	0	0.00	7.69	92.31
8766	15	5	9	60.00	0.00	40.00
8764	21	12	1	4.76	0.00	95.24
8758	24	14	0	0.00	0.00	100.00
8749	23	10	0	0.00	0.00	100.00
8743	30	12	1	3.33	0.00	96.67
8741	27	12	0	0.00	0.00	100.00
8740	17	12	0	0.00	0.00	100.00
8720	24	11	2	8.33	0.00	91.67
8718	20	11	0	0.00	5.26	94.74
8716	24	12	4	20.00	20.00	60.00
8704	20	7	0	0.00	0.00	100.00
8688	24	9	0	0.00	0.00	100.00
8687	21	10	4	19.05	0.00	80.95
8686	32	15	3	9.38	0.00	90.63
8683	30	13	0	0.00	0.00	100.00
8666	30	14	0	0.00	0.00	100.00
8665	19	10	0	0.00	0.00	100.00
8647	11	8	0	0.00	0.00	100.00
8641	24	16	0	0.00	0.00	100.00
8623	21	8	0	0.00	0.00	100.00
Mean (sum)	22.17(665)	11.1	(28)	4.69	1.10	94.21

N, number of seeds for each mother tree; M, number of clones as pollen; S, number of selfing seeds for each mother tree; PC, pollen contamination; OC, outcrossing

Table 26. Outcrossing and selfing rates at the seed orchards of *C. obtusa* in Gochang, Korea based on at least 6 loci

Mother tree	N	M	S	S (%)	OC (%)
8913	19	6	2	10.53	89.47
8882	17	13	1	5.88	94.12
8856	24	17	0	0.00	100.00
8854	24	14	3	12.50	87.50
8843	24	11	0	0.00	100.00
8814	31	13	2	6.45	93.55
8813	21	12	1	4.76	95.24
8811	19	9	2	10.53	89.47
8785	21	9	0	0.00	100.00
8768	14	8	0	0.00	100.00
8766	15	5	7	46.67	53.33
8764	21	12	1	4.76	95.24
8758	24	14	3	12.50	87.50
8749	23	10	1	4.35	95.65
8743	30	12	0	0.00	100.00
8741	27	12	0	0.00	100.00
8740	17	12	0	0.00	100.00
8720	24	11	1	4.17	95.83
8718	20	12	0	0.00	100.00
8716	24	15	3	12.50	87.50
8704	20	7	0	0.00	100.00
8688	24	9	0	0.00	100.00
8687	21	10	2	9.52	90.48
8686	32	15	1	3.13	96.88
8683	30	13	1	3.33	96.67
8666	30	14	0	0.00	100.00
8665	19	10	1	5.26	94.74
8647	11	8	0	0.00	100.00
8641	24	16	0	0.00	100.00
8623	21	8	1	4.76	95.24
Mean (sum)	22.37 (671)	11.2	(33)	5.39	94.61

N, number of seeds for each mother tree; M, number of clones as pollen; S, number of selfing seeds for each mother tree; OC, outcrossing

Table 27. Outcrossing and selfing rates at the seed orchards of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea based on at least 6 loci

Mother tree	N	M	S	S (%)	OC (%)
5887	34	17	4	11.76	88.24
5888	12	7		0.00	100.00
5894	26	9	2	7.69	92.31
6838	13	7		0.00	100.00
6965	17	14		0.00	100.00
Mean (sum)	20.4 (97)	10.8	(6)	4.86	95.14

N, number of seeds for each mother tree; M, number of clones as pollen; S, number of selfing seeds for each mother tree; OC, outcrossing

제5장 고찰

제1절 개화량 및 구과 결실량 변이와 유전 다양성

암구화와 수구화에서 생산된 배우체는 멘델의 분리 법칙에 따라 종자에 동일한 확률로 전달된다. 그러나 실제 채종원 집단 내 개체는 결실량에 차이가 있으며, 결실량에 대한 클론의 기여도 차이는 종자에 전달되는 대립 유전자의 빈도를 변화시켜 결과적으로 채종원 집단 내 유전 다양성에 변화를 가져 온다. 모수와 화분수의 생식력은 형매 계수로 수치화할 수 있다. 형매 계수는 유전자 풀에서 무작위로 선택된 두 대립 유전자가 동일한 부모에서 유래할 확률로 암·수구화의 변이 계수를 통해 도출된다. 채종원과 같은 육종 집단에서 모든 유전자형에 대하여 개체 간에 균일한 생식력을 가질 때 형매 계수는 1이며, 생식력 변이가 존재한다면 그 값은 1보다 커지게 된다. 즉, 형매 계수는 채종원 집단 내에서 임의 교배를 가정하였을 때, 반형매(half-sib) 또는 전형매(full-sib) 등 근친 교배로 인한 종자가 발생할 확률을 의미하며 이로 인한 채종원 내 유전 다양성의 감소와 유효 집단 크기를 설명할 수 있다.

고창 채종원에서 개화 및 구과 생산량은 연도별로 증가하고 변이 계수는 조사 연도 간 낮아지는 경향을 보였으며, 암구화와 구과 생산량 변이에 비해 수구화의 변이가 크게 나타났다(Figure 8). 암·수구화 개화량 간에는 유의한 정의 상관이 존재하여 암꽃을 많이 피는 개체가 수꽃도 많이 피는 경향을 보였고, 구과 생산량 또한 많은 것으로 나타났다(Table 7). 서귀포 채종원의 경우, 개화 및 구과 생산량의 변이 계수 증감은 암구화량, 구과 생산량과 수구화량은 반대되는 경향을

나타냈으나(Figure 8), 상관분석 결과 2020년의 수구화와 구과의 순위 상관을 제외하고 암구화와 수구화량 그리고 구과 생산량 간에는 모두 유의한 정의 상관을 보였다(Table 7). 반면 연도별 순위 상관 결과 고창과 서귀포 채종원 모두 수구화에서만 유의한 정의 상관을 보여 매년 다개화하는 개체의 선발은 어려울 것으로 생각된다(Table 8).

임목에서 개화량의 연간 변이는 주로 기후 인자의 영향으로 설명되는데, 화아 분화 시기에 고온이 유지될 경우 개화량이 많아지는 것으로 보고된 바 있으며, 화분 이동의 필요성으로 인해 암꽃보다 수꽃이 기후 인자의 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있다(Ayari and Khouja, 2014; Nikkanen and Ruotsalainen, 2000; Taira et al., 1997; Takahashi and Kawashima, 1999; Yamazaki, 1985). 임목의 화아원기(horal primordium) 시기는 수종이나 생장 조건(온도, 영양, 채광, 수세 등)에 따라 차이가 있지만 일반적으로 봄에 왕성하게 영양생장이 이루어진 후, 6~7월에 잠깐 생장이 정지되는 시기를 거친 이후에 분화하여 그 다음해에 개화, 결실한다. 편백의 경우 수구화의 분화가 6월 중순부터 7월 초순까지 이루어지며, 암구화의 분화는 6월 말부터 7월 중순까지 이루어져 수구화의 화아가 암구화의 화아보다 먼저 형성된다(이경준, 1993). 따라서 본 연구보다 1년 앞선 2019년부터 2021년까지 고창과 서귀포의 6월부터 7월까지 평균 기온을 확인한 결과, 고창의 경우 2019년의 6~7월 평균 기온이 각각 20.8~21.1℃, 2020년의 경우 20.2~22.5℃, 2021년의 경우 22.4~22.5℃로 연도별로 다소 상승하는 것을 확인하였다(기상청, 2022). 서귀포의 경우 2020년 7월의 평균 기온(23.4℃)이 2019년 7월의 평균 기온(24.2℃)보다 약 1℃ 가량 하강하였으며, 2021년 7월의 평균 기온(26.6℃)이 3℃ 이상 상승하는 것을 확인하였다(기상청,

2022). 채종원의 경우 가지치기, 풀 베기, 시비 등의 관리가 이루어지는 곳이므로 두 지역 채종원에서 화아 분화 시기의 기온 차이는 개화량의 변이에 영향을 미쳤을 가능성이 있다고 판단되었다.

개화량 연간 변이의 또 다른 원인으로 채종원과 같이 여러 지역에서 선발된 개체를 같은 장소에 인공적으로 식재한 경우, 클론 간 개화량에 많은 차이가 존재할 수 있다는 연구 보고가 있다(Bilir et al., 2002; Kjær, 1996). 따라서 3년간 클론의 개화 및 구과 결실에 대한 기여도를 확인한 결과, 고창과 서귀포 채종원 모두 소수 클론으로 편중되어 나타났다(Figures 9, 10).

고창 채종원의 경우 단일 유전자군을 제외하고 클론당 라멧 수가 최소 1개부터 최대 68개까지 편차가 크게 나타났으며, 11개 클론이 전체 라멧 수의 41.27%를 차지하였다. 서귀포 채종원의 경우에도 클론당 최소 1개부터 최대 71개의 라멧이 있었으며, 2개 클론이 전체 라멧 수의 59.05%를 차지하였다. 따라서 두 지역의 채종원 내 클론의 라멧 수에 편차가 심한 원인 또한 개화 및 구과 생산의 기여도에 영향을 미친 것으로 판단되었다.

고창과 서귀포 채종원에서 변이 계수로부터 계산된 암·수구화의 형매 계수는 3년간 모두 1 이상으로 도출되어 채종원 내 근친 교배가 발생하였을 가능성이 있을 것으로 판단되며, 특히 2021년 고창과 서귀포 채종원 내 수구화의 형매 계수가 각각 3.931과 5.325로 매우 높은 수준으로 나타났다. 또한 형매 계수로부터 도출된 유효 집단 크기가 각각 15.52, 4.32로 낮은 수준으로 추정되었다(Tables 3, 4). 하지만 고창과 서귀포 채종원 모두 같은 해 구과에 대한 유효 집단 크기가 가장 높게 나타난 것을 확인하였으며, 이는 2021년의 경우 각 채종원 내 상위 10%를 구성하는 클론의 개화량이 감소하였고, 이에

따라 채종원 내 구성 비율이 낮은 클론의 암·수구화로 수분과 수정이 이루어져 구과 수준에서 유전적 다양성은 오히려 증가한 것으로 생각된다.

3년간 두 채종원의 암구화와 구과의 유효 집단 크기는 수구화보다 높게 나타났으며, 개화량 변이가 낮았던 해의 유효 집단 크기가 더 높게 추정되었다. 또한 상대 유효 집단의 크기는 고창과 서귀포 채종원 모두 평균 30% 이상을 나타내어 비교적 안정된 수준으로 생각된다. 그리고 개체 간 유전적 유연 관계가 존재하지 않고, 자식 계수(inbreeding coefficient)가 0일 때의 유전 다양성 값을 1로 간주하였을 때, 구과 수준을 기준으로 고창 채종원의 경우 2020년에 6.9%, 2021년에 4.7%, 2022년에 4.7%의 유전 다양성 감소가 발생한 것으로 추정되었으며, 서귀포 채종원의 경우 2020년에 8.1%, 2021년에 11.6%, 2022년에 5.2%의 유전 다양성 감소가 발생한 것으로 추정되었다(Tables 3, 4).

고창과 서귀포 채종원의 경우 소수 클론이 개화에 영향을 미치며 연관되어 있지 않은 클론으로 개량을 계속하기 위해서는 수형목 선발을 통해 더 많은 클론 또는 개체를 선발할 필요가 있다. 유효 집단 크기를 활용한 육종은 단기 육종보다는 장기 육종을 할 때 더욱 유용하며, 같은 강도로 선발을 한다고 가정할 때 빈도수가 낮은 유전 인자의 육종을 가속화할 수 있다.

현재 우리나라의 경우 생장 형질을 위주로 수형목을 선발하고 있다. 그러나 내병충성 육종 등과 같이 새로운 방향의 육종을 하기 위해서는 유효 집단의 크기가 커야만 선발 기준의 변화에 신속하게 대처할 수 있으며, 유전자 재결합에 의해 특이 유전자를 보유한 종자의 생산이 가능하다. 따라서 국내 수요가 높고, 다양한 목적에 사용이 가능한 편백 종자를 생산하기 위해서는 서로 연관되지 않은 대량의 클론 또는 개체를

확보하여 채종원 내 유효 집단 크기를 크게 유지하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

고창 및 서귀포 채종원에서 개화량과 구과 생산량은 2020년부터 2022년까지 클론 간 고도로 유의하였으며, 유전력을 추정한 결과 고창 편백 채종원의 경우 암구화의 개체 유전력은 평균 0.206이었고, 수구화의 개체 유전력은 평균 0.242로 추정되었다. 구과량의 개체 유전력은 평균 0.128로 낮게 나타났으며, 특히 2022년의 분산 분석 결과, 클론 간 차이가 유의하지 않았고 개체 유전력이 매우 낮은 수준으로 추정되었다(Table 5). 서귀포 채종원의 경우 암구화의 개체 유전력은 평균 0.177로 추정되었으며, 수구화의 개체 유전력은 0.270으로 추정되었고, 구과의 개체 유전력은 0.257로 추정되었다(Table 6). 따라서 적절한 수준의 유전적 조절을 받고 있는 형질인 것으로 판단되어 편백 채종원의 경우 개화량에 따른 선발 육종을 통해 개량의 가능성이 있을 것으로 생각된다.

유전력은 표현 형질이 환경으로부터 받는 영향과 비교하여 유전적으로 받는 영향력의 관계가 얼마인가를 나타내는 척도이다. 유전력은 하나 이상의 유전 형질을 선발할 때 매우 유용한 지표로 사용할 수 있다. 채종원에서 선발의 목적은 진전 세대를 만들기 위해 목적 형질에 가장 좋은 육종가(breeding value)를 갖는 개체를 고르는 것이다. 하지만 일반적으로 이용 가능한 정보는 개화, 결실량과 같은 표현형에 대한 정보만 있기 때문에 표현형과 육종가 사이의 관계가 얼마나 긴밀한가를 나타내는 값인 유전력을 추정하는 것은 매우 큰 의미가 있다. 따라서 유전력이 높은 형질을 선발하는 것은 환경의 영향을 덜 받으면서, 선발의 정확도나 빠른 유전적 변화를 기대할 수 있다. 하지만 유효 집단 크기나 유전력은 각 개체와 관련된 값이 아닌

클론(집단)에 대한 측정치이며, 고정된 값이 아니라 연도별 결실의 풍흉과 클론별 개화량 변이, 기후 영향 등에 따라 추정치가 달라진다(Nikkanen and Ruotsalainen, 2000). 매년 지속적으로 개화가 풍년인 클론이 있다면 구과와 종자 생산 측면에서는 가장 이상적이지만, 임목의 경우 기온과 결실 풍흉 주기 등에 따라 개화량은 크게 달라진다. 고창과 서귀포 채종원의 경우에도 연도 간 순위 상관을 확인하였을 때, 매년 같은 개체가 다량의 개화와 결실을 이룬 것은 아니었다. 따라서 다년간 개화량 변이에 대한 조사 및 분석을 통해 풍년인 해에 다량 개화하는 클론 내 개체를 선발하는 것이 종자 생산 및 유전 다양성 측면에서 필요할 것으로 생각되며, 형질 선발을 통한 개량 가능성에 대해 지속적으로 검증할 필요가 있다.

제2절 구과 분석 및 종자 특성 분석

편백의 경우 자웅동주이지만 암구화와 수구화가 구별되며, 각각 다른 가지에 달리기 때문에 유전 다양성 측면에서 개량을 위한 선발을 할 경우 화분 생산량과 배우자 기여도 등을 기본적으로 고려해야 한다. 또한 수분 후 구과 자체가 퇴화하는 문제나 종자 선별 후 발아가 되지 않는 문제 등이 발생할 수 있으므로 구과 분석을 통한 종자 생산 효율 및 발아율 검정이 필요하다(Sweet, 1973). 특히 유전적 품질이 개량된 채종원산 종자는 대량 조림 및 양묘 사업의 목적에 부합하는 형질을 획득하고 벌기령까지 안정적으로 그 형질을 유지해야 한다. 따라서 구과 및 종자 특성 분석을 통해 종자의 품질을 다각도로 검증해야 하며, 종자 생산량에 대한 장기 모니터링이 필요하다.

채종원산 종자의 품질은 모수로부터 차대로 이어지는 유전적 품질,

종자의 생리적 품질 그리고 종자의 물리적 품질로 나눌 수 있으며(Kim et al., 2006), 채종원산 종자의 개량 효과와 생산량에 관여하는 주요 인자는 채종목의 수고와 흉고 직경과 같은 생장 형질, 수분 그리고 수정에 관여하는 모수의 유전적 특성과 기후 인자, 그외 구과 및 종자 가해 병해충 피해 여부 등이 있다(Ayari and Khouja, 2014). 그리고 수분 시기에 암구화에 도달하는 화분의 양과 질은 충실 종자 수와 품질에 유의한 정의 상관이 있다고 보고한 바 있다(Brown and Kephart, 1999; Richardson and Stephenson, 1992; Snow, 1982; Winsor et al., 1987). 미국 농무성 산림청에서는 다양한 침엽수종에 대한 구과 분석 지침서를 작성하고, 채종원산 종자의 생산성과 품질에 대한 주기적인 조사와 분석을 실시하여 종합적인 관리를 수행하고 있다(Bramlett et al., 1977).

본 연구에서는 2020년부터 2021년까지 2년간 고창과 서귀포 채종원의 충실 종자율과 고사 배주율 그리고 종자 생산 효율을 추정하였다. 고창 채종원의 경우 클론 간 평균 57.96%(2020년)와 46.98%(2021년)로 산출되었으며, 서귀포 채종원의 경우 7.51%(2020년)와 24.38%(2021년)로 산출되어(Table 10) 관리가 잘 된 채종원의 기준(55%)에 미치지 못하는 수치였다(Bramlett et al., 1977). 충실 종자율 또한 85% 이상이어야 하지만 고창과 서귀포 채종원에서 모두 그 이하였으며, 고창 채종원의 경우 2년간 충실 종자율이 약 73과 56%로 나타나 종자 가해 충해의 피해나 근친 교배의 가능성이 있는 수준이었다(Table 10).

서귀포 채종원의 충실 종자율은 2년간 약 25% 이하로 나타나 충해의 피해나 근친 교배의 가능성이 매우 높은 수준에 해당되었다(Bramlett et al., 1977). 특히 서귀포 채종원의 경우 비립 종자율이

2년간 75% 이상으로 매우 높은 수준으로 나타났다(Table 10). 비립 종자는 수정 후 정상적으로 나타나는 종자로 충실 종자의 형태를 나타내지만 종자의 껍질만 존재한다(Dogra, 1967). 고창과 서귀포 채종원은 클론당 라멧 수의 편차가 심하고 소수 클론이 점유하는 비율이 매우 높아 특정 클론이 화분친으로 작용하였을 가능성이 높다. 또한 편중된 화분의 유전적 구성과 화분량으로 인해 수정 단계에서 자배나 근친 교배로 인한 비립 종자의 발생률이 높아진 것으로 생각된다.

2020년의 경우 고창 채종원 내 고사 배주율이 약 12%로 나타나 충해나 화분 부족으로 인해 고사 배주율이 발생하였을 가능성이 있으며, 서귀포 채종원의 경우 약 33%로 나타나 충해 피해나 화분 부족의 원인이 클 것으로 확인하였다. 그리고 2021년의 경우 두 지역 채종원 모두 고사 배주율이 5% 미만으로 나타나 관리가 양호한 것으로 판단되었다.

대부분의 침엽수는 일반적으로 수분 직후에 영하의 온도에 노출되거나, 화분 부족, 충해 등에 의해 구과 탈락과 고사 배주가 발생한다(Owens and Fernando, 2007). 이를 방지하기 위한 화분량은 수종과 구과의 형태에 따라 다르지만, 유시의 침엽수 채종원에서 인공적으로 화분의 대량 보충을 통해 유구과 및 구과의 탈락이 감소하여 대조군보다 충실 종자의 생산이 200% 이상 증가할 것이라고 예측한 바 있으며(Bridgwater and Bramlett, 1982), western white pine(*Pinus monticola* Dougl. ex D. Don) 채종원에서 화분의 추가 주입을 통해 암구화의 탈락이 방지되었고, 자연 풍매 구과에 비해 성숙 구과당 충실 종자 수가 증가하여 종자 효율이 약 30% 가량 증가하였다는 연구 결과가 보고된 바 있다(Owens and Fernando, 2007). 또한 지베렐린 처리에 의해 편백 암·수구화의 개화량이 증가한 연구 결과(김원우와

김진수, 1998)가 있다. 고창과 서귀포 채종원의 경우, 종자 효율이 낮은 수준에 속하므로 추가적인 인공 화분 주입이나 호르몬 처리에 의한 충실 종자 생산량 증가를 확인할 필요가 있다고 판단되었다.

충실 종자 생산이 낮은 또 다른 원인으로 기후의 영향이 있다. 소나무(*P. densiflora*)의 경우 여러 기상 인자와 종자 생산 간 회귀 분석을 실시한 연구에서 3년의 생식 주기를 고려하였을 때 종자 생산 2년 전 2월의 총 강수량과 7월의 총 강수량, 종자 생산 1년 전 5월의 총 강수량과 6월의 일조 시간 그리고 10월의 총 강수량, 종자 생산 당년 10월의 총 강수량을 종자 생산에 영향을 미치는 주요 기후 변수로 도출한 바 있다. 이 기후 인자들은 화아 발달과 암구화 및 종자 성숙 시기와 맞물려 있는 요인으로 특히 종자 생산 2년 전 강수량을 화아 분화 시 종자 수확량을 제한하는 주요 기후 변수로 제시하였다(Kim et al., 2020). 편백의 경우 소나무와는 달리 당년 구과를 생산하는 2년 생식 주기를 가지고 있기 때문에, 종자 생산 1년 전 화아 분화에 영향을 미치는 인자로 2019년 7월과 2020년 7월의 강수량을 확인한 결과 고창 채종원의 경우 2019년 7월은 173.6mm, 2020년의 7월은 455.5mm로 2배 이상 증가한 것을 확인하였고(기상청, 2022) 2020년보다 2021년에 충실 종자량이 감소한 것으로 나타났다. 서귀포 채종원에서도 2019년 7월에 452.1mm, 2020년의 7월에 322mm로 전년도에 비해 총 강수량이 감소하였으며 2020년에 비해 2021년의 충실 종자 수가 증가한 것으로 보아 충실 종자 생산량과 화아 분화 시기의 강수량은 부의 상관이 있을 것으로 생각된다.

구과 분석 후 도출한 종자 특성에 대해 유전력을 추정한 결과 고창 채종원에서는 구과의 형태적 특성 그리고 종자 특성에 대하여 클론 간 유의차가 존재하였으며 협의의 유전력을 추정한 결과 2020년의 경우

종자 생산 능력(개체, 0.195; 클론, 0.820)을 제외한 모든 특성의 개체 유전력이 0.15 이하로 낮게 추정되었다(Table 11). 특히 2020년에 구과 폭의 개체 유전력이 0.044로 가장 낮게 추정되었으며 이는 클론 간 차이는 있었지만 개체목 간 변이가 크지 않았기 때문으로 판단되었다. 반면 2021년의 경우 종자 생산 능력과 고사 배주율의 개체 유전력이 각각 0.159와 0.100으로 추정되어 낮은 수준이었으나 클론 유전력은 모두 0.7 이상으로 높게 나타났다(Table 11). 2021년의 종자 생산 능력의 경우 구과 인편 수에 대한 변이가 크지 않았을 것으로 생각된다.

서귀포 채종원에서는 2021년에 구과의 길이와 폭, 비립 종자율을 제외한 나머지 분석 항목은 클론 간 유의하였다. 종자 특성의 개체 유전력은 2020년의 경우 종자 생산 능력과 고사 배주율에서 가장 낮게 추정되었으며, 2021년의 경우 비립 종자율과 종자 생산 능력에서 가장 낮게 추정되었다(Table 12).

고창과 서귀포 채종원에서 2년간 종자 특성에 대한 유전력을 확인한 결과 공통적으로 비립 종자율, 고사 배주율 그리고 종자 생산 능력에 대한 유전력이 낮은 수준으로 나타났다. 이는 편백 구과의 경우 평균 지름이 1~2cm 정도이며, 평균 8~10개의 인편을 가지기 때문에 소나무류의 구과 분석 방법에서 제시한 인편 수를 세어 종자 생산 능력을 추정하는 방식으로는 변이가 작을 것으로 생각된다. 또한 편백은 소립 종자로 육안으로 충실과 비립의 구별이 쉽지 않고, 고사 배주의 크기는 1mm 이하로 매우 작아 건조 과정에서 소실되거나 분석 시 오류가 많을 수 있다. 따라서 편백의 경우 종자 특성을 이용하여 유전적 차이를 검증하고 선발을 하기 위해서는 공통적으로 유전력이 높았던 충실 종자율을 활용하는 것이 적합할 것으로 판단되었다.

발아율 검증은 2020년과 2021년에 모두 수행하였으나, 2020년의

경우 발아한 개체가 클론당 평균 5개 이하로 매우 적어 비교가 불가능하였다. 고창 채종원에서 2021년에 채취한 종자에 대해 발아력을 분석한 결과 전체 클론 중 약 54.1%가 발아되었으며 발아율은 클론당 평균 5.09%로 낮은 수준이었다. 일원 배치 분산 분석 결과 클론 간 유의차를 보였으나 Tukey-HSD 사후 검정에서는 구분되지 않았다(Table 15). 개체 유전력은 0.132, 클론 유전력은 0.389로 추정되어(Table 15) 적정한 수준으로 유전적인 영향을 받는 것으로 나타나 클론 선발 시 선발 형질로 활용이 가능할 것으로 판단되었다. 서귀포 채종원에서 2021년에 채취한 종자의 발아력을 확인한 결과 전체 클론 중 21.7%만 발아되었으며, 클론 간 평균 발아율이 3.13%로 편백의 기준 발아율인 11%보다 매우 낮은 수준이었다(NiFoS, 2022). 측백나무과에 속하는 편백, 측백 등의 수종은 대체로 발아율이 30% 미만으로 알려져 있다(Baskin, 2009).

편백의 발아는 몇 가지 요인에 의해 영향을 받을 수 있는데 모수로부터 전달되는 유전적인 요인과 구과를 채취하는 시기나 기후 등의 물리적 요인이 있다. 본 연구에서 발아율이 저조한 유전적 원인으로 암·수구화의 클론 간 불균형으로 인해 발생된 자배나 근친 교배로 비립 종자량의 증가가 첫 번째 원인일 수 있다. 본 연구 대상지인 고창과 서귀포 채종원은 클론당 라멧 수가 불균형하였으며, 개화량에 소수 클론의 기여로 이로 인해 충실 종자율이 낮고 비립 종자율이 증가한 것으로 언급한 바 있다. 따라서 충실 종자와 구별되지 않은 비립 종자로 인해 발아율이 감소하였을 가능성이 있다. 두 번째 물리적 요인에는 구과 채취 시기나 월별 온도 그리고 총 강수량이 편백 종자의 성숙에 영향을 미쳤을 가능성이 있으며, 동일 수종에서 월별 온도와 강수량이 편백 종자의 성숙에 중요한 영향을 미친다는 연구

결과가 있다(Son et al., 2008).

편백 종자의 경우 비립이나 미성숙 종자 등 해부학적으로 건전하지 않은 종자가 많이 발생하며, 소립으로 대부분 육안으로 충실 종자와 구별에 어려움이 있다(Matsuda et al., 2015). 그리고 충실 종자와 구별되지 못한 비립 종자에는 배아와 배우체가 전혀 없으므로 발아가 이루어지지 않는다. 편백의 조림에 공급하기 위하여 대량 양묘에 성공하기 위해서는 직파할 수 있는 양질의 종자를 대량으로 생산해야 한다. 따라서 개화부터 종자 생산 단계까지 생길 수 있는 문제점을 파악하고 채종원산 종자의 유전적 개선과 검증을 지속해야 한다. 최근에는 종자의 품질을 확인하기 위해 색, 크기, 생존력(viability), 모양, 활력(vigor), 유전적 순도, 비중, 종자 표면의 질감과 같은 일부 속성을 기준으로 편백 종자를 선별하는 기계적 장치를 개발하는 연구가 진행되고 있다. 특히 종자의 충실도를 판단하기 위한 효율적이고 비파괴적인 분류 방법에 관한 관심이 증가하고 있어 최근에는 FT-NIR(Fourier transform infrared, 적외선 분광법)에 대한 연구가 진행된 바 있으며 편백 종자의 생존력(발아율) 판별 가능성을 확인하였다(Mukasa et al., 2019). 하지만 이 방법은 단일 종자를 대상으로 적용되고 있어 대량으로 분류할 수 있는 방법을 연구할 필요가 있다.

제3절 교배 양식 분석

채종원 내 종자 생산 과정에서 클론 간 균등한 기여는 종자의 유전 다양성을 증가시키며 이는 채종원산 종자의 개량 효과와 직결된다. 따라서 클론 간 개화량과 구과 생산량을 통해 채종원 내 유전 다양성을 간접적으로 추정하였다면, 실제 임의 교배를 통해 생산된 채종원산

종자로부터 유전 변이를 확인하고, 채종원 외부 개체로 생산된 종자 등 잠재적 화분 오염 수준을 추론하는 등 종자의 모수와 화분수에 대한 유전적 검증이 필요하다(Di-Giovanni and Kevan, 1991). 채종원은 여러 지역에서 수형목을 선발하여 인공적으로 식재한 임목 육종 재료로 선발 위치, 조성 내역 등의 정보가 있고, 강도 높은 관리가 이루어지는 집단이다. 하지만 개체목의 유전 분석을 수행하기 위해서는 기본 정보 외에 클론 간 구별되는 유전 정보가 구축되어 있어야만 동일한 클론의 라멧을 구분하고, 수형목이 아닌 외부로부터 유입된 개체를 구별할 수 있다. 국내의 경우 2006년에 편백을 대상으로 다형성이 확인된 microsatellite 표지가 개발되었으며(Kim et al., 2016), 편백 채종원 내 클론의 유전 정보가 모두 구축되었다(NiFoS, 2020). 본 연구에서는 국립산림품종관리센터(NFSV)에서 분석한 편백 채종원의 클론 정보를 활용하였으며, 편백을 대상으로 개발된 10개 microsatellite 표지를 활용한 분석을 통해 고창과 서귀포 채종원에서의 채종목과 종자로부터 대립 유전자 수, 이형 접합도 관측값 및 기댓값, 유전자좌 다형성 정보량 등 다양한 유전 다양성 지표를 확인하였다. 그리고 2021년에 채취한 구과에서 분리한 성숙 종자의 발아묘를 이용하여 부계 유전자형과 화분 오염률, 화분원의 유전적 분화, 타가 교배율 등 채종원 내 교배 양식을 분석하였다.

고창 채종원 내 유전 변이 분석 결과, 대립 유전자 수는 평균 16.5개(4~34개), 유효 대립 유전자 수는 평균 6.1개(1.5~16.5개)였으며, 서귀포 채종원의 경우 대립 유전자 수는 평균 10개(3~24개), 유효 대립 유전자 수는 평균 5.5개(1.7~12.5개)로 확인되어 고창 채종원의 유효 대립 유전자 수가 조금 더 많이 관찰되었다(Table 17). 이형 접합도 관측값은 고창 채종원의 경우 0.158~0.934로 평균

0.772이었으며, 서귀포 채종원의 경우 0.191~0.891로 평균 0.752로 확인되었다(Table 17). 표지별로 분석한 결과를 살펴보면 모든 표지에서 고창 채종원의 유전 변이가 높게 나타났으나 Co2043, Co3026, Co4014 표지의 유효 대립 유전자 수는 서귀포에서 높게 나타났다. 유전자좌 다형성 정보량은 고창 채종원의 경우 0.270~0.936이었고, 서귀포 채종원의 경우 0.088~0.722이었다. 두 지역을 종합한 결과 Co2047 표지가 가장 다형성이 높고, 이형 접합도가 높았다(Table 17).

본 연구에서 사용한 표지의 경우 편백 성목 90본에서 확인된 표지로 4~24개의 대립 유전자와 0.2~14.2개의 유효 대립 유전자를 확인하였다. 유전자좌 다형성 정보량은 0.160부터 0.927까지였으며, Co2047 표지가 다형성이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 편백속 수종인 실화백(*C. pisifera*)에서도 33% 이상 증폭된 것을 확인하였다(Kim et al., 2016). 각 표지에 대한 대립 유전자 빈도나 다형성의 차이가 본 연구의 결과와 선행 연구 결과가 유사하였으며, 식별에 가장 유용한 표지는 다형성이 가장 높은 Co2047 표지인 것으로 생각되었다.

본 연구에서 CERVUS 프로그램을 활용한 부계 유전자형 분석은 후보 부모의 유전자형을 종자의 유전자형과 비교하여 1개 이상의 유전자좌에서 불일치가 발생하는 경우 부모로부터 제외되는 소거 확률과 우도를 기반으로 해석한다(Kalinowski et al., 2007; Marshall et al., 1998). 만약 후보 부모가 적고 다형성이 높은 유전자좌를 사용한다면 후보 유전자 중 단 하나의 유전자만을 남기게 된다. 하지만 일반적으로 여러 후보 유전자를 사용하여 분석을 하게 되며, 이런 경우 다수의 후보 유전자가 소거되지 않을 확률로 계산된다.

본 연구에서 10개 microsatellite 표지를 활용한 분석에 의해 종자와 모수의 유전자형을 아는 경우 실제 화분수를 제외한 나머지 개체를 소거할 확률은 고창의 경우 평균 0.544, 서귀포의 경우 평균 0.528로 나타났으며 두 지역 모두 Co3026과, Co3033 표지가 낮은 수준으로 확인되었다. 개체에 대한 비소거 확률은 두 지역 모두 0.15로 낮았으며, 같은 모수의 종자에 대한 비소거 확률은 0.43으로 확인되었다. 따라서 비소거 확률이 높고, 다형성이 낮은 두 개의 표지는 후보 화분수를 식별하는 데 적절하지 않을 것으로 생각된다(Table 20).

부계 유전자형 분석을 통해 도출한 화분수를 이용하여 직접 소거 방법으로 화분 오염률을 추정하였다. 최소 9개 유전자좌를 이용하여 분석한 결과 고창 채종원의 경우 화분 오염률은 3개 모수에서 최소 5.26%부터 최대 20%로 확인되었고, 자가 교배율은 총 665개 종자 중 28개(4.69%)로 확인되었다(Table 25). 그리고 최소 6개 유전자좌를 기준으로 분석한 결과 화분 오염이 발생한 종자는 고창과 서귀포 채종원 모두 없는 것으로 확인되었으며 자가 교배율의 경우 고창 채종원에서는 5.39%, 서귀포 채종원에서는 평균 약 3.76%로 나타났다(Tables 26, 27).

만약 모수와 종자의 유전자형이 100% 정확하다면, 모수와 종자의 유전자형 불일치는 친자 관계가 아니라고 설명할 수 있다. 하지만 분석 시 사용한 microsatellite 표지의 경우 stutter peak, null allele 등으로 불안정한 결과와 판별의 오류가 발생할 수 있으며, 표지가 결합하는 부위의 인접 서열(flanking region) 변이 등으로 인해 PCR 증폭이 되지 않는 경우도 빈번하다.

그리고 다중 유전자좌를 사용할 때 하나 이상의 입력 오류 또한 발생할 수 있기 때문에 CERVUS 프로그램에서는 오류를 고려한 우도를

사용하여 Hardy-Weinberg 평형의 가정 하에 무작위로 선택된 유전자형을 오류가 대체하여 화분친의 결과를 도출한다(Kalinowski et al., 2007; Marshall et al., 1998). 이 방법은 잘못 입력된 유전자형이 실제 모수의 유전자형으로 수정될 때도 있으며, 실제 모수라도 두 개 이상의 유전자좌에서 일치하지 않는 경우 가장 가능성이 높은 후보 부모로 식별될 수 있다는 장점이 있다. 반면 실제 모수가 아닌 개체가 하나 또는 두 개의 유전자좌에서 일치하지 않을 가능성도 있어, 실제 모수가 아님에도 불구하고 후보 부모로 식별될 가능성이 있다는 단점이 있다.

본 연구의 결과는 유전자형에 오류가 있는 경우 99%의 엄격한 신뢰도와 95%의 완화된 신뢰도로 친자 관계를 확인하였기 때문에, 화분수가 확인되지 않은 종자는 채종원 외부의 화분수로부터 생산된 것으로 추정하는 것이 타당할 것이다. 또한 고창 편백 채종원의 경우 분석 유전자좌의 기준에 따라 그 결과가 달라졌음을 확인하였다. 유전 분석의 경우 다형성이 높은 분석 표지의 수가 증가함에 따라 그 정확도가 증가한다는 보고가 있다(Miller et al., 2014; Roques et al., 2016; 2019). 따라서 교배 양식 분석을 위해 충분한 변이를 나타내는 표지를 추가적으로 개발하여 유전형 판별의 정확성을 높일 필요가 있을 것으로 생각된다.

자연 임분의 경우 멸종 위기 수종이거나 고산 수종 혹은 희귀 수종이 아닌 경우 타가 교배율이 높아 비교적 높은 유전 다양성을 가진다고 알려져 있다. 하지만 채종원은 유전적으로 개량된 종자를 보급하기 위해 조성한 인공 임분으로 채종원 내 타가 교배율과 유전 다양성을 유지시키는 것과 더불어 채종원 외 개체에 의한 화분 오염률을 감소할 수 있는 방법을 강구해야 한다. 채종원에서 채취한 종자의 유전

변이를 이용하여 집단유전학에서 주로 사용되는 MLTR 프로그램으로 다수 유전자좌 타가 교배율과 근친 교배의 가능성을 한 번 더 확인하였다. 그 결과 고창 채종원에서의 경우 다수 유전자의 타가 교배율이 0.982로 높은 수준으로 확인되었으며, 양친 근친 교배율은 0.023, 자가 교배율은 0.152로 낮은 수준으로 나타났다(Table 21). 서귀포 채종원에서도 마찬가지로 다수 유전자좌 타가 교배율은 1.000로 매우 높은 수준이었으며 양친 근친 교배율(0.059)과 자가 교배율(0.110)은 낮은 수준이었다(Table 21). 이러한 결과는 앞서 CERVUS를 통해 추정한 타가 교배율과 자가 교배율의 수준과 유사하였다.

채종원에서 자가 교배는 모수가 생성한 화분이 수정된 경우와 모수와 동일한 유전자형(full-sib)을 갖는 라멧이 생성한 화분으로 수정된 경우로 이루어진다. 고창과 서귀포 채종원에서 2021년의 클론 간 개화량 변이는 조사 연도 3년 중 암·수구화의 변이가 가장 높게 나타났으나, 구과 생산량의 변이는 가장 낮은 해로 조사되었다. *Cryptomeria japonica* 채종원에서 클론의 라멧 수와 자가 교배율 사이에 유의한 상관관계가 있음을 확인한 선행 연구가 있으며(Moriguchi et al., 2005), 고창과 서귀포 채종원의 경우 소수 클론의 라멧이 전체 라멧 수의 약 50% 이상을 차지하고 있어 자가 교배율이 증가하여 채종원 내 충실 종자율과 발아율에 영향을 미친 것으로 판단되었다.

개화량 변이에 대한 분석과 교배 양식의 결과를 종합해 볼 때 2021년 고창과 서귀포 채종원에서는 특정 클론의 개화량에 대한 기여도가 상대적으로 높았고, 이로 인해 자가 교배나 근친 교배로 인해 열성 동형 접합 비율이 증가하여 근교약세가 유발되었으며 종자의 충실률과 발아율에 영향을 미친 것으로 판단되었다. 따라서 자가 교배나

근교약세로 인한 종자가 발아 단계에서 소거된 후 교배 양식을 분석한 것이 높은 타가 교배율과 낮은 화분 오염률 그리고 낮은 자가 교배율이 추정된 원인 중 하나로 판단되었다. 본 연구의 결과가 이와 같이 나온 또 다른 원인은 교배 양식에 선택된 채종원 내 모수의 공간적 거리와 위치의 영향과 주변 동종 인공림이나 자연림의 존재로 인해 영향을 받았을 가능성이 있다.

자연 집단과 마찬가지로 채종원 내 자가 교배율은 개화 생리와 화분의 양에 영향을 받는다(Kim et al., 2015). 즉 암구화의 화분 수용 시기와 화분이 분출되어 대기중에 퍼져 있는 기간의 차이, 생산된 화분의 농도, 수관의 크기와 모수의 공간 구조의 차이가 관련이 있다(Ritland, 2002). 채종원산 종자의 개량 효과 추정은 채종원 내 클론 간 완전한 타가 교배에 근거하고 있으나 라멧의 위치가 경계부에 있을 경우 외부에서 유입되는 화분의 밀도가 채종원 내부에 비해 높아 동일 클론의 라멧이라도 화분 오염률에 차이가 있을 가능성이 있다(Kim et al., 2015; Moriguchi et al., 2005).

연구 대상지인 고창과 서귀포 채종원에서 2021년에 잔존하는 각 개체목 945본(68개 클론)과 245본(23개 클론) 그리고 단일 개체로부터 옆 시료를 채취하여 클론당 1~5개 라멧을 화분수로 분석하였다. 또한 전수로부터 사방 위에서 10개의 건전 구과를 채취하였으며, 발아 테스트를 통해 최소 15개 이상의 종자가 발아된 개체목을 대상으로 교배 양식을 분석하였다. 분석한 개체목의 위치를 확인한 결과 주로 채종원 내부에 존재하였으며 경계부에 위치한 모수는 발아율이 낮아 유전 변이를 검증하는 대상으로 선정할 수 없었다. 따라서 채종원 내부에 존재하는 모수로부터 발아된 종자를 대상으로 한 타가 교배율의 경우 매우 높은 수준으로 측정될 수 있으며, 자가

교배율과 화분 오염률이 낮게 확인될 가능성이 있을 것으로 판단되었다.

분자 표지를 이용하여 교배 양식을 확인한 많은 연구에서 동종 자연 집단이 주변에 존재하는 경우 대부분 30% 이상의 높은 화분 오염률을 보고한 바 있으며, 채종원을 둘러싼 인공림의 규모가 화분 오염률에 영향을 미친다는 연구 결과가 있다(Moriguchi et al., 2004; 2005; Pakkanen et al., 2000; Wheeler and Jech, 1992). 고창 채종원의 경우 최소 9개 유전자좌로 분석하였을 때 화분 오염률이 개체목당 최대 20%로 나타났으나, 대부분의 개체목에서 확인된 화분 오염률은 0%이었다(Table 25). 채종원 내 모수의 공간적 거리와 위치에 영향을 고려할 때 고창 채종원의 경우 모수 간 최소 거리는 55.6m이고, 평균 유효 화분 이동 거리가 평균 5.58m이었으며, 기여 화분수의 분포 범위는 약 250m^2로 추정되었다(Table 23).

고창 채종원의 경우 같은 도엽 내에 동종 자연림이나 인공림이 거의 존재하지 않는 지역에 조성되어 외부 화분이 유입될 가능성이 낮다. 반면, 서귀포 채종원의 경우 주변에 동종 인공림이 다수 존재하는 집단임에도 불구하고 화분 오염률이 확인되지 않았다. 하지만 서귀포 채종원은 동종 수종 외 주변 성목의 밀도가 매우 높은 지역으로 화분 이동 시기에 방풍의 역할을 하였을 가능성이 있다. 그리고 서귀포 채종원에서의 경우 생산된 종자의 발아율이 매우 낮아 유전 모수의 분석을 위한 개체가 부족하여 외부 화분으로부터 생산된 종자가 확인되지 않았을 수 있다. 그리고 또 다른 원인으로 화분의 활력과 관계가 있을 수 있다. 소나무류와 같은 풍매 수종의 경우 화분 이동이 최대 3,000km까지 이동하며, 수직적으로는 300m까지 상승하는 것으로 보고된 바 있다(Campbell, 1999; Williams and Barnéoud, 2021). 서귀포 채종원의 경우 채종목의 평균 수고가 9m이며, 수관은 8m^2

이상으로 수령이 50년 이상 된 교목으로 이루어진 집단이다. 그럼에도 불구하고 유효 화분 이동 거리가 평균 3.892m로 확인되어 기여 화분수의 분포 범위가 120m^2로 좁게 추정되었다(Table 23). 따라서 주변 인공림이나 자연림으로부터 생산된 화분이 이동 시기의 기후 영향으로 활력이 감소하였을 가능성이 있다. 화분의 활력은 수분과 염, 기온, 자외선 등의 환경에 영향을 받는다(Aksic et al., 2017; Im and Suh, 2013). 고창과 서귀포 채종원의 경우, 최근 5년 중 2021년 5~6월의 강수량과 강수 일수가 가장 낮은 것으로 확인되어, 기온과 강수량과 같은 기후 인자에 의한 화분 활력 저하가 그 원인일 수 있다고 생각되었다.

화분원의 유전적 분화는 모수 간 거리에 영향을 받는다. 다른 요소가 동일할 때 모수의 거리가 증가할수록 모수 주변에 산포하는 화분의 유전적 구성은 달라지며 그 결과 화분원의 유전적 분화는 증가하는 경향이 있다. 모수의 평균 거리가 평균 유효 화분 이동 거리의 5배 이상인 경우, 화분원의 유전적 분화 추정의 오차는 감소하는 것으로 알려져 있다(Austerlitz and Smouse, 2001a). 화분 이동과 집단의 유전 구조는 화분원의 유전적 구성에 영향을 미칠 수 있는데, 집단 내 모수 간 고정 지수가 높은 경우 화분원의 유전적 분화가 증가하는 경향이 있다(Austerlitz and Smouse, 2001a; 2001b; Smouse et al., 2001). 반면 본 연구에서는 모수 간 지리적 거리가 증가하더라도 평균 유효 화분 이동 거리는 증가하였으나 유전적 분화에는 차이가 없었다. 이는 집단 내 매우 낮은 고정 지수가 유지되며, 유전 변이가 비교적 고르게 분포하기 때문에 화분원의 유전적 분화가 높게 나타난 것으로 생각되었다.

제6장 결론

본 연구는 경제림 조성에 유리하고, 목재 수요가 증가하는 편백 우량 종자의 안정적인 공급을 위해 국내에서 최초로 조성된 서귀포 채종원과 가장 최근에 조성된 고창 채종원을 대상으로 암·수구화 개화량 및 구과 생산량의 연도별 변이를 분석하여 클론 간 기여도와 유효 집단 크기 및 유전력을 추정하였다. 그리고 구과와 종자의 특성 간 상관관계와 유전력을 추정하였으며, 교배 양식 유전 모수와 화분 오염률, 평균 유효 화분 이동 거리를 추정하여 채종원산 종자의 유전 다양성을 평가하였다.

채종원산 종자의 유전적 개량 효과는 일차적으로 개화량에 대한 정보를 토대로 채종원을 구성하고 있는 클론 간 기여도와 유효 집단 크기를 도출함으로써 종자를 생산하는 데 관여한 유전 모수의 다양성을 추정할 수 있다. 고창과 서귀포 채종원은 클론당 라멧 수의 편차가 높은 집단으로 확인되었다. 이에 따라 개화량 및 구과 생산량에 기여하는 상대적인 비율이 낮게 추정되는 결과가 도출되었으며, 소수 클론에 의해 종자 생산이 이루어질 가능성이 높을 것으로 판단되었다.

이러한 결과를 증명하기 위해 구과 분석을 실시하여 실제 생산된 종자로부터 충실률, 비립률, 종자 효율, 발아율 등을 분석하였다. 그 결과 두 지역 모두 비립 종자율이 높은 수준으로 확인되었으며, 종자 효율과 발아율이 낮게 도출되었다. 이 결과는 개화량과 구과 생산량 변이에서 확인한 바와 같이 소수의 클론이 종자 생산에 관여한 영향인 것으로 생각되었다.

이론적으로 수종의 생식 특성과 결실의 풍흉, 교배 양식 등 다양한

원인이 종자 생산에 영향을 미칠 수 있으며, 모수 집단과 차대 집단의 유전 변이와 구조에 차이를 유발한다. 특히 채종원과 같이 한정된 모수로 생산된 종자는 유전 변이의 감소와 근친 교배에 의한 형질 저하가 발생할 수 있다. 따라서 본 연구 대상지의 경우, 유전 다양성과 충실 종자 생산량 증가를 위해 모수 집단에 대한 추가 선발이나 클론 내 개체목 단위의 본수에 조절이 필요할 것으로 생각되며, 선택적 구과 채취를 통해 종자 생산량과 유전 다양성 간의 균형을 이룰 수 있을 것으로 판단된다.

채종원의 교배 양식은 채종원 내부와 외부 동종 자연 집단의 화분 생산량, 개화 생리 그리고 채종원 관리 기술에 영향을 받는다. 종자의 품질 증진을 위해서는 유전적 측면에서 개량이 필수적이며, 이와 더불어 채종원의 효율적인 관리가 동시에 이루어진다면 고품질의 우량 종자를 지속적으로 생산할 수 있다. 따라서 자가 교배와 화분 오염 등 교배 양식 분석에 의한 모수의 추정은 채종원산 종자의 유전적 품질 평가와 화분 관리 기술을 채종원 관리에 적용하는 데 유용한 정보가 될 수 있다. 고창과 서귀포 채종원에서는 타가 교배율이 높고 근친 교배율과 자가 교배율, 그리고 화분 오염률이 낮게 추정되었다. 따라서 근교 약세나 외부 화분에 의해 유전적으로 불량한 형질이 발생할 가능성은 낮을 것으로 예상된다. 다만 종자 생산에 관여한 화분수가 고창과 서귀포 채종원에서 각각 평균 약 11개로 확인되었으며, 고창 채종원의 경우 전체 클론 대비 약 18%로 비교적 낮은 유전 다양성을 보유하고 있는 것으로 나타났다. 따라서 개화량과 종자 생산의 유전 다양성에서 확인한 바와 같이 한정된 화분수의 영향으로 유전 다양성이 감소할 우려가 있어 유효 화분친을 증가시키는 데 초점을 맞추어 유전적 개량 종자의 생산 방안을 모색할 필요가 있다.

본 연구를 통해 편백 채종원산 종자의 유전적 다양성과 가치를 증명하고자 하였으며, 그 결과 기여도가 높은 일부 클론에 대한 개체목 조절(유전 간벌), 화분원의 증가를 위한 수형목 모수 추가 선발 및 인공 화분 주입, 호르몬 처리에 의한 개화량 조절, 종자 생산량의 균일성을 위한 선택적 구과 채취와 적과 처리 등 다각적인 대안을 제시하였다. 이로써 편백 채종원산 개량 종자의 안정적인 생산과 공급을 위한 관리 방안으로 적용 가능할 것으로 생각되며 나아가 편백 진전세대 채종원을 조성하기 위한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

참고 문헌

고영석, 박인협. 2005. 장성지역 편백 인공림의 간벌, 가지치기 및 하층식생 제거효과. 한국환경생태학회 2005: 106-108.

공우석. 2004. 한반도에 자생하는 침엽수의 종 구성과 분포. 대한지리학회지 39: 528-543.

구영본, 이위영, 조동광. 1993. 잣나무 클론 보존원의 유구과 낙과 및 구과해충 피해에 의한 종자 손실. 임육연보 29: 135-139.

국립산림품종관리센터(National Forest Seed and Variety Center, NFSV). 2017. 채종원 조성 및 관리 추진 계획(2017~2021). 충주.

국립산림품종관리센터(National Forest Seed and Variety Center, NFSV). 2020. 고창, 서귀포 편백 채종원 클론 식별 결과 Ver. 3.1. 미공개 자료. 충주.

국립산림품종관리센터(National Forest Seed and Variety Center, NFSV). 2022. 종자 공급원 현황. https://nfsv.forest.go.kr. (2022. 12)

권용락, 서명원, 이경미, 김용율, 조경진, 황의식. 2011. 구과 분석에 의한 잣나무(*Pinus koraiensis*) 3개 채종원의 종자 생산 진단. 산림과학 공동학술발표논문집 2011: 1038-1041.

기상청. 2022. 고창, 서귀포 지역 월별 온도 및 강수량 자료(2018-2022). https://data.kma.go.kr/cmmn/main.do. (2022. 10)

김원우, 김진수. 1998. Gibberellin 처리에 의한 편백나무의 개화 촉진. 한국산림과학회지 87: 549-556.

김인식, 허성두. 2013. 잣나무 채종원에서 구과 착과수에 따른 구과 및

종자 특성. 한국자원식물학회지 26: 1-8.

김춘식, 백경원, 최병길, 하지석, 배은지, 이광수, 손영모. 2020. 삼나무와 편백 임분의 임목, 임상, 토양의 탄소량 비교. 한국산림과학회지 109: 169-178.

나성준, 이효신, 김인식, 강규석, 한상억. 2014. 상수리나무 육종 채종원에서 유전 간벌 모형에 따른 개량 효과 및 유전 다양성 추정. 농업생명과학연구 48: 51-58.

박석곤, 유한춘, 오찬진, 최우경. 2015. 전남 편백림에서의 입지 환경 요인과 연륜 생장량의 상관성 분석. 한국환경생태학회지 29: 777-784.

박준형, 손영모, 이광수, 박은정, 정수영. 2019. 편백림의 1차 솎아베기 방법에 따른 생장 효과와 적절성 연구. 한국산림과학회지 108: 349-356.

산림청(National Institute of Forest Science, NiFoS). 2017. 종묘사업실시요령. 별표 4. 종자 품질 기준. 서울.

산림청(National Institute of Forest Science, NiFoS). 2022. 산림임업통계연보. 제52호. pp. 33-164, 223-244. 서울.

송현진, 배태웅, 문병호, 이성기, 이병실. 2015. 안면도 소나무 채종원 종자 생산 진단을 위한 구과 분석. 한국육종학회 학술발표회지 2015: 91-91.

양경록, 김세진, 정현환, 유봉식, 박기영. 2021. 장미 화분 채취 단계와 건조 기간이 화분 발아에 미치는 영향. 한국원예학회 학술발표요지 39(별호1): 110-111.

양아람, 황재홍, 송선화, 조민석, 김석권, 이상길. 2013. 편백 조림목의 초기 생장 및 부위별 양분 비교. 한국산림휴양학회 2013: 223-225.

양아람, 황재홍, 조민석. 2014. 편백 조림목의 입지 특성에 따른 지역별 초기 생육 특성. 한국임학회지 103: 375-382.

유찬열, 김종익, 박지웅, 강기현, 정하규, 이영한, 최송현. 2016. 산림 부산물을 활용한 편백 양묘 생육에 관한 연구. 한국환경생태학회 학술발표논문집 2016: 19-20.

이경준. 1993. 수목생리학. 서울대학교 출판부, 서울. pp. 200.

이경준, 이재순, 이연주, 이석구. 1984. 화분비산량 조사와 구과 분석을 통한 채종원의 종자 생산 효율의 분석. 한국산림과학회지 65: 103-103.

이영진, 이미향, 이경학, 손영모, 서정호, 박인협, 손요환. 2006. 편백 조림지에서 영급이 바이오매스 확장 계수와 줄기 밀도에 미치는 영향. 한국산림과학회지 95: 50-54.

한국임업진흥원(Korea Forestry Promotion Institute, KoFPI). 2022. 임업정보 다드림. https://gis.kofpi.or.kr/gis/main.do. (2022. 12)

한상억, 김장수, 깅규석, 오창영. 2007. 개량 종자 생산을 위한 채종원 조성 및 관리. 연구자료 제291호. 국립산림과학원, 서울. pp. 93-137.

한상억, 김장수, 이효신, 나성준, 오창영, 이위영, 김인식, 우관수, 허성두, 김원우, 강규석. 2014. 주요 용재수종의 배우자 기여도 및 종자 생산량 분석. 연구보고 14-11. 국립산림과학원, 서울. pp. 21-128.

허만규, 최주수, 문성기. 2005. 거제시 계룡산의 편백 군락에 관한 생태학적 연구. 생명과학회지 15: 447-452.

Aksic, M. F., Cerovic, R., Rakonjac, V., Bakic, I., Colic, S., and Meland, M. 2017. Vitality and in vitro pollen germination of different ‘Oblačinska’ sour cherry clones. Genetika 49: 791-800.

Austerlitz, F. and Smouse, P. E. 2001a. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{ft}, pollen dispersal, and interfemale distance. Genetics 157: 851-857.

Austerlitz, F. and Smouse, P. E. 2001b. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. III. Impact of adult population structure. Genetics Research 78: 271-280.

Ayari, A. and Khouja, M. L. 2014. Ecophysiological variables influencing Aleppo pine seed and cone production: a review. Tree Physiology 34: 426-437.

Balvanera, P. and Aguirre, E. 2006. Tree diversity, environmental heterogeneity, and productivity in a Mexican tropical dry forest. Biotropica 38: 479-491.

Baskin, J. M. 2009. The woody plant seed manual. Native Plants Journal 10: 300-301.

Bilir, N., Kang, K. S., and Ozturk, H. 2002. Fertility variation and gene diversity in clonal seed orchards of *Pinus brutia, Pinus nigra*, and *Pinus sylvestris* in Turkey. Silvae Genetica 51: 112-114.

Bilir, N., Kang, K.-S., Zang, D., and Lindgren, D. 2004. Fertility variation and status number between a base population and a seed orchard of *Pinus brutia*. Silvae Genetica 53: 161-163.

Bramlett, D. L., Belcher Jr., E. W., DeBarr, G. L., Hertel, G. D., Karrfalt, R. P., Lantz, C. W., Miller, T., Ware, K. D., and Yates III, H. O. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook (Vol. 13). Department of Agriculture, Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station. Asheville, NC, USA. pp. 3-28.

Bramlett, D. L. and Bridgwater, F. E. 1989. Pollen development classification system for loblolly pine. 20th Southern Forest Tree Improvement Conference, Louisiana State University, Division of Continuing Education 20: 116.

Bramlett, D. L. and O'Gwynn, G. H. 1980. Recognizing developmental stages in southern pine flowers: the key to controlled pollination. General Technical Report, Southeastern Forest Experiment Station, USDA Forest Service. Asheville, NC, USA. SE-18: 14.

Bridgwater, F. E. and Bramlett, D. L. 1982. Supplemental mass pollination to increase seed yields in loblolly pine seed orchards. Southern Journal of Applied Forestry 6: 100-104.

Brown, A. H. 1990. Genetic characterization of plant mating systems. Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources. Sinauer. Sunderland, MA, USA. pp. 145-162.

Brown, E. and Kephart, S. 1999. Variability in pollen load: implications for reproduction and seedling vigor in a rare plant, *Silene douglasii* var. *oraria*. International Journal of Plant Sciences 160: 1145-1152.

Burczyk, J., Adams, W., and Shimizu, J. Y. 1996. Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine *Pinus attenuate* Lemmon. Stand. Heredity 77: 251-260.

Burczyk, J., DiFazio, S., and Adams, W. 2004. Gene flow in forest trees: how far do genes really travel?. Forest Genetics 11: 179.

Buth, D. G. 1984. The application of electrophoretic data in systematic studies. Annual Review of Ecology and Systematics

15: 501-522.

Campbell, I. D. 1999. Quaternary pollen taphonomy: examples of differential redeposition and differential preservation. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 149: 245-256.

Carlson, J. E., Hong, Y.-P., Brown, G. R., and Glaubitz, J. C. 2020. FISH, DNA amplification markers and conifers. In Plant Genome Analysis. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. pp. 69-82.

Carneiro, F. d. S., Lacerda, A. E. B. d., Lemes, M. R., Gribel, R., Kanashiro, M., Wadt, L. H. d. O., and Sebbenn, A. 2011. Effects of selective logging on the mating system and pollen dispersal of *Hymenaea courbaril* L.(Leguminosae) in the Eastern Brazilian Amazon as revealed by microsatellite analysis. Forest Ecology and Management 262: 1758-1765.

Caron, G. and Powell, G. 1989. Patterns of seed-cone and pollen-cone production in young *Picea mariana* trees. Canadian Journal of Forest Research 19: 359-364.

Cheng, S.-S., Chang, H.-T., Wu, C.-L., and Chang, S.-T. 2007. Anti-termitic activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. Bioresource Technology 98: 456-459.

Choi, H.-S., Kang, Y.-J., Kim, I.-S., Park, Y.-K., and Ryu, K.-O. 2012. Growth and heritability of hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa*) families in Seogwipo. Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology 14: 236-245.

Di-Giovanni, F. and Kevan, P. 1991. Factors affecting pollen dynamics and its importance to pollen contamination: a review. Canadian Journal of Forest Research 21: 1155-1170.

Doerksen, T., Deslauriers, M., and Beaulieu, J. 2011. Ecological and biological information improves inferred paternity in a white spruce breeding orchard. Canadian Journal of Forest Research 41: 1344-1351.

Dogra, P. D. 1967. Seed sterility and disturbances in embryogeny in conifers with particular reference to seed testing and tree breeding in Pinaceae. Technical Report, Royal School of Forestry. Stockholm, Sweden. pp. 1-97.

Dutkuner, I., Bilir, N., and Ulusan, M. 2008. Influence of growth on reproductive traits and its effect on fertility and gene diversity in a clonal seed orchard of Scots pine, *Pinus sylvestris* L. Journal of Environmental Biology 29: 349.

Edwards, D. G. W. and El-Kassaby, Y. A. 1996. The biology and management of coniferous forest seeds: genetic perspectives. The Forestry Chronicle 72: 481-484.

El-Kassaby, Y. 1995. Evaluation of the tree-improvement delivery system: factors affecting genetic potential. Tree Physiology 15: 545-550.

El-Kassaby, Y. and Cook, C. 1994. Female reproductive energy and reproductive success in a Douglas-fir seed orchard and its impact on genetic diversity. Silvae Genetica 43: 243-245.

Endo, R. and Akasi, T. 2003. Estimation of heritability and breeding

effect based on the quantity of male flowers setting in a hinoki (*Chamaecyparis obtusa*) seed orchard and progeny test plantation. The Japanese Forestry Society 85: 241−244.

Eriksson, G., Lindgren, D., and Jonsson, A. 1973. Flowering in a clone trial of *Picea abies Karst*. Technical Report, Royal School of Forestry. Stockholm, Sweden. 110: 1−45

Farjon, A. 2005. A monograph of Cupressaceae and Sciadopitys. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK. pp. 5−21.

Feilberg, L. and Soegaard B. 1975. Historical review of seed orchards. Forestry Commission Bulletin. No. 54. Her Majesty's Stationary Office. London, UK. 54: 1−8

Fennesy, J., Pat, D., and David, T. 2012. A review of tree improvement programmes in Ireland: historical developments, current situation, and future perspective. Irish Forestry 69: 184−203.

Funda, T. and El−Kassaby, Y. A. 2012. Seed orchard genetics. CABI Reviews 7: 1−23.

Gea, L. 1997. Genetic diversity and gain: the concept of a status number. PhD Dissertation, School of Forestry, University of Canterbury, Christ Church. New Zealand. pp. ll0

Gömöry, D., Bruchanik, R., and Paule, L. 2000. Effective population number estimation of three Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed orchards based on an integrated assessment of flowering, floral phenology, and seed orchard design. Forest Genetics 7: 65−75.

Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. 2001. A fast method for checking

the genetic identity of ramets in a clonal seed orchard by RAPD analysis with a bulking procedure. Silvae Genetica 50: 271-274.

Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. 2002. Identification of the male parents of half-sib progeny from Japanese black pine (*Pinus thunbergii* Parl.) clonal seed orchard using RAPD markers. Breeding Science 52: 71-77.

Goto, S., Takahashi, M., Matsumoto, A., Ieiri, R., and Tsumura, Y. 2008. Genetic relationships and origin of commercial clones of Nangouhi, a vegetatively propagated cultivar of hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa*). Breeding Science 58: 411-418.

Hwang, S.-Y., Lin, H.-W., Kuo, Y.-S., and Lin, T.-P. 2001. RAPD variation in relation to population differentiation of *Chamaecyparis formosensis* and *Chamaecyparis taiwanensis.* Botanical Bulletin of Academia Sinica 42: 173-179

Im, K. R. and Suh, J. K. 2013. Effect of air temperature and relative humidity during flowering on pollen germination of oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Makino). Journal of Bio-Environment Control 22: 13-18.

Ishii, K. 1986. In vitro plantlet formation from adventitious buds on juvenile seedlings of hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa*). Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 7: 247-255.

Ishii, K. 2002. Liquid culture and transformation of hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.). Journal of Forest Research 7: 99-104.

Ishii, K. 2013. Biotechnology in agriculture and foresrty, Vol. 16:

Trees III. Springer. Berlin, Germany. 471 p.

Iwaizumi, M., Watanabe, A., and Isoda, K. 2011. Primer note: development of highly polymorphic nuclear microsatellite markers for hinoki. Silvae Genetica 60: 62–65.

Jansson, G., Hansen, J. K., Haapanen, M., Kvaalen, H., and Steffenrem, A. 2017. The genetic and economic gains from forest tree breeding programmes in Scandinavia and Finland. Scandinavian Journal of Forest Research 32: 273–286.

Jones, A. G., Small, C. M., Paczolt, K. A., and Ratterman, N. L. 2010. A practical guide to methods of parentage analysis. Molecular Ecology Resources 10: 6–30.

Kalinowski, S. T., Taper, M. L., and Marshall, T. C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Molecular Ecology 16: 1099–1106.

Kang, K. S. 2000. Clonal and annual variation of flower production and composition of gamete gene pool in a clonal seed orchard of *Pinus densiflora*. Canadian Journal of Forest Research 30: 1275–1280.

Kang, K. S. and El–Kassaby, Y. A. 2002. Considerations of correlated fertility between genders on genetic diversity: the *Pinus densiflora* seed orchard as a model. Theoretical and Applied Genetics 105: 1183–1189.

Kang, K. S. and Lindgren, D. 1998. Fertility variation and its effect on the relatedness of seeds in *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii,*

and *Pinus koraiensis* clonal seed orchards. Silvae Genetica 47: 196-201.

Kang, K. S. and Mullin, T. 2007. Variation in clone fertility and its effect on the gene diversity of seeds from a seed orchard of *Chamaecyparis obtusa* in Korea. Silvae Genetica 56: 134-137.

Kang, K. S., Bila, A. D., Harju, A. M., and Lindgren, D. 2003. Estimation of fertility variation in forest tree populations. Forestry 76: 329-344.

Kang, K. S., El-Kassaby, Y. A., Han, S. U., and 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: 405-410.

Kang, K. S., Lindgren, D., and Mullin, T. J. 2001. Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchard crops under alternative management strategies. Theoretical and Applied Genetics 103: 1099-1107.

Kim, I.-S., Kim, J.-H., Kang, J.-T., and Lee, B.-S. 2008. Clonal variation in female flowering of *Larix leptolepis*. Korean Journal of Plant Resources 21: 1-4.

Kim, J., Jang, K., Kang, J., Kim, W., and Kim, Y. 2006. Seed production and seed orchard management by stem pruning. Research Report 06-18, Korea Forest Research Institute. Seoul, Korea.

Kim, Y., Ku, J., Kim, J., Lim, H., and Han, J. 2020. Determination of climate predictor variables effecting on annual cone harvest and seed yield of Korean pine (*Pinus koraiensis* Siebold and Zucc.)

seed orchards. Journal of Forest Research 9: 239.

Kim, Y. M., Hong, Y.-P., and Park, J. I. 2015. Two-year estimates of mating system in seed orchard of *Pinus densiflora* revealed by cpSSR and nSSR markers. Journal of Korean Forest Society 104: 578-587.

Kim, Y. M., Shin, Y. S., and Jeong, J. H. 2016. Development and characterization of microsatellite primers for *Chamaecyparis obtusa* (Cupressaceae). Applications in Plant Sciences 4: 1500136.

Kjær, E. D. 1996. Estimation of effective population number in a *Picea abies* (Karst.) seed orchard based on flower assessment. Scandinavian Journal of Forest Research 11: 111-121.

Kofujita, H., Ota, M., Takahashi, K., Kawai, Y., and Hayashi, Y. 2002. A diterpene quinone from the bark of *Cryptomeria japonica*. Phytochemistry 61: 895-898.

Kotyk, M. E., Basinger, J. F., and McIver, E. E. 2003. Early tertiary *Chamaecyparis spach* from Axel Heiberg Island, Canadian High Arctic. Canadian Journal of Botany 81: 113-130.

Lande, R. and Schemske, D. W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. Evolution 39: 24-40.

Lee, I.-K., Kang, Y.-J., Kim, C.-S., and Kim, Y.-K. 2006. Effects of thinning on soil properties and seed productivity in seed orchards of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*. Journal of Ecology and Environment 29: 495-501.

Lee, K., Kim, I.-S., and Kang, K.-S. 2022. Pedigree reconstruction and spatial analysis for genetic testing and selection in a *Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière plantation. BMC Plant Biology 22: 152.

Lee, K., Lee, J., Lee, J., and Lee, S. 1984. Estimation of seed production efficiency in seed orchards by measurement of pollen dispersal, cone survival, and cone analysis. Research Report of the Institute of Forest Genetics 20: 116-125.

Levin, D. A., and Kerster, H. W. 1974. Gene flow in seed plants. In Evolutionary Biology. Springer. Boston, MA, USA. pp. 139-220.

Li, J., Zhang, D., and Donoghue, M. J. 2003. Phylogeny and biogeography of *Chamaecyparis* (Cupressaceae) inferred from DNA sequences of the nuclear ribosomal ITS region. Rhodora 105: 106-117

Liao, P.-C., Lin, T.-P., and Hwang, S.-Y. 2010. Reexamination of the pattern of geographical disjunction of *Chamaecyparis* (Cupressaceae) in North America and East Asia. Botanical Studies 51: 511-520.

Lindgren, D. and Mullin, T. J. 1998. Relatedness and status number in seed orchard crops. Canadian Journal of Forest Research 28: 276-283.

Lindgren, D. and Prescher, F. 2005. Optimal clone number for seed orchards with tested clones. Silvae Genetica 54: 80-92.

Little, D. P. 2006. Evolution and circumscription of the true cypresses (Cupressaceae: Cupressus). Systematic Botany 31: 461-480.

Mansur, L., Orf, J., Chase, K., Jarvik, T., Cregan, P., and Lark, K. 1996. Genetic mapping of agronomic traits using recombinant inbred lines of soybean. Crop Science 36: 1327–1336.

Mao, K., Hao, G., Liu, J., Adams, R. P., and Milne, R. I. 2010. Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. New Phytologist 188: 254–272.

Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. E. B., and Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood–based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology 7: 639–655.

Matsuda, O., Hara, M., Tobita, H., Yazaki, K., Nakagawa, T., Shimizu, K., Uemura, A., and Utsugi, H. 2015. Determination of seed soundness in conifers *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa* using narrow–multiband spectral imaging in the short–wavelength infrared range. PLoS One 10: e0128358.

Miller, J. K., Buchner, N., Timms, L., Tam, S., Luo, X., Brown, A. M., Pasternack, D., Bristow, R. G., Fraser, M., and Boutros, P. C. 2014. Use of sequenom sample SNP genotyping in identification of FFPE tumor samples. PLoS One 9: e88163.

Mimura, M. and Aitken, S. N. 2007. Increased selfing and decreased effective pollen donor number in peripheral relative to central populations in *Picea sitchensis* (Pinaceae). American Journal of Botany 94: 991–998.

Mitton, J. 1992. The dynamic mating systems of conifers. New Forests 6: 197–216.

Moriguchi, Y., Taira, H., Tani, N., and Tsumura, Y. 2004. Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomeria japonica* determined using microsatellite markers. Canadian Journal of Forest Research 34: 1683–1690.

Moriguchi, Y., Tani, N., Itoo, S., Kanehira, F., Tanaka, K., Yomogida, H., Taira, H., and Tsumura, Y. 2005. Gene flow and mating system in five *Cryptomeria japonica* D. Don seed orchards as revealed by analysis of microsatellite markers. Tree Genetics and Genomes 1: 174–183

Mukasa, P., Wakholi, C., Mo, C., Oh, M., Joo, H.–J., Suh, H. K., and Cho, B.–K. 2019. Determination of viability of retinispora (hinoki cypress) seeds using FT–NIR spectroscopy. Infrared Physics and Technology 98: 62–68.

Nagakura, J., Shigenaga, H., Akama, A., and Takahashi, M. 2004. Growth and transpiration of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa*) seedlings in response to soil water content. Tree Physiology 24: 1203–1208.

Nagao, A., Sasaki, S., and Pharis, R. P. 2019. *Chamaecyparis*: En. white cedar, false cypress. pp. 170–188. In: Handbook of Flowering. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.

Nakao, Y., Iwata, H., Matsumoto, A., Tsumura, Y., and Tomaru, N. 2001. Highly polymorphic microsatellite markers in *Chamaecyparis obtusa*. Canadian Journal of Forest Research 31: 2248–2251.

Nikkanen, T. and Ruotsalainen, S. 2000. Variation in flowering abundance and its impact on the genetic diversity of the seed crop in a Norway spruce seed orchard. Silva Fennica 34: 205–222.

Nikkanen, T. and Velling, P. 1987. Correlations between flowering and some vegetative characteristics of grafts of *Pinus sylvestris*. Forest Ecology and Management 19: 35–40.

O'Connell, L. M. 2003. The evolution of inbreeding in western redcedar (*Thuja plicata*: Cupressaceae). PhD Dissertation, University of British Columbia, Canada.

Osone, Y., Hashimoto, S., Kenzo, T., Araki, M. G., Inoue, Y., Shichi, K., Toriyama, J., Yamashita, N., Tsuruta, K., Ishizuka, S., Nagakura, J., Noguchi, K., Ono, K., Sakai, H., Sakai, Y., Sano, T., Shigenaga, H., Shinohara, Y., and Yazaki, K. 2020. Plant trait database for *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*: their physiology, morphology, anatomy, and biochemistry. Ecological Research 35: 274–275.

Owens, J. N. and Fernando, D. D. 2007. Pollination and seed production in western white pine. Canadian Journal of Forest Research 37: 260–275.

Pakkanen, A., Nikkanen, T., and Pulkkinen, P. 2000. Annual variation in pollen contamination and outcrossing in a *Picea abies* seed orchard. Scandinavian Journal of Forest Research 15: 399–404.

Park, J.-M., Kang, H.-I., Yeom, D.-B., Kang, K.-S., El-Kassaby, Y. A., and Lee, K.-M. 2020. Gender, reproductive output covariation, and their role on gene diversity of *Pinus koraiensis*

seed orchard crops. BMC Plant Biology 20: 418.

Park, J.-M., Kwon, S.-H., Lee, H.-J., Na, S.-J., El-Kassaby, Y. A., and Kang, K.-S. 2017. Integrating fecundity variation and genetic relatedness in estimating the gene diversity of seed crops: *Pinus koraiensis* seed orchard as an example. Canadian Journal of Forest Research 47: 366-370.

Park, S.-G., You, H.-C., Oh, C.-J., and Choi, W.-K. 2015. Analysis of the correlation between site environmental factors and tree ring growth in *Chamaecyparis obtusa* stands in Jeonnam Province. Korea Society of Environment and Ecology 29: 777-784.

Parthiban, K. T., Krishnakumar, N., and Devanand, P. S. 2020. Tree breeding and improvement theory and technology. Scientific Publishers. Jodhpur, India. pp. 174-192.

Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295.

Peakall, R. and Smouse, P. E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research: an update. Bioinformatics 28: 2537-2539.

Prescher, F. 2007. Seed orchards: genetic considerations on function, management and seed procurement. PhD Dissertation No. 2007: 75. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå, Sweden.

Raha, S., Kim, S. M., Lee, H. J., Lee, S. J., Heo, J. D., Venkatarame Gowda Saralamma, V., Ha, S. E., Kim, E. H., Mun, S. P., and Kim, G. S. 2019. Essential oil from Korean *Chamaecyparis obtusa* leaf

ameliorates respiratory activity in Sprague-Dawley rats and exhibits protection from NF-κB-induced inflammation in WI38 fibroblast cells. International Journal of Molecular Medicine 43: 393-403.

Richardson, T. E. and Stephenson, A. G. 1992. Effects of parentage and size of the pollen load on progeny performance in *Campanula americana*. Evolution 46: 1731-1739.

Ritland, K. 2002. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. Heredity 88: 221-228.

Robledo-Arnuncio, J. and Gil, L. 2005. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. Heredity 94: 13-22.

Robledo-Arnuncio, J. J., Austerlitz, F., and Smouse, P. E. 2006. A new method of estimating the pollen dispersal curve independently of effective density. Genetics 173: 1033-1045.

Roques, S., Berrebi, P., Chèvre, P., Rochard, E., and Acolas, M.-L. 2016. Parentage assignment in the critically endangered European sturgeon (*Acipenser sturio*) based on a novel microsatellite multiplex assay: a valuable resource for restocking, monitoring, and conservation programs. Conservation Genetics Resources 8: 313-322.

Roques, S., Chancerel, E., Boury, C., Pierre, M., and Acolas, M. L. 2019. From microsatellites to single nucleotide polymorphisms for the genetic monitoring of a critically endangered sturgeon. Ecology and Evolution 9: 7017-7029.

Sakai, S. and Harada, Y. 2001. Sink-limitation and the size-number trade-off of organs: production of organs using a fixed amount of reserves. Evolution 55: 467–476.

Schemske, D. W. and Lande, R. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. Evolution 39: 41–52.

Schoen, D., Denti, D., and Stewart, S. 1986. Strobilus production in a clonal white spruce seed orchard: evidence for unbalanced mating. Silvae Genetica 35: 201–205.

Sedgley, M., Hand, F., Smith, R., and Griffin, A. 1989. Pollen tube growth and early seed development in *Eucalyptus regnans* F. Muell.(Myrtaceae) in relation to ovule structure and preferential outcrossing. Australian Journal of Botany 37: 397–411.

Seido, K., Maeda, H., and Shiraishi, S. 2001. Pollen dispersal in a hinoki (*Chamaecyparis obtusa*) seed orchard detected using a chloroplast DNA marker. Journal of Forest Research 6: 7–12.

Shiraishi, S., Maeda, H., Toda, T., Seido, K., and Sasaki, Y. 2001. Incomplete paternal inheritance of chloroplast DNA recognized in *Chamaecyparis obtusa* using an intraspecific polymorphism of the trnD–trnY intergenic spacer region. Theoretical and Applied Genetics 102: 935–941.

Sk Lai, B., Funda, T., Liewlaksaneeyanawin, C., Klápště, J., Van Niejenhuis, A., Cook, C., Stoehr, M. U., Woods, J., and El-Kassaby, Y. A. 2010. Pollination dynamics in a Douglas–fir seed orchard as revealed by pedigree reconstruction. Annals of Forest

Science 67: 808.

Slavov, G. T., Howe, G. T., and Adams, W. T. 2005. Pollen contamination and mating patterns in a Douglas-fir seed orchard as measured by simple sequence repeat markers. Canadian Journal of Forest Research 35: 1592-1603.

Smouse, P. E., Dyer, R. J., Westfall, R. D., and Sork, V. L. 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. Evolution 55: 260-271.

Smouse, P. E. and Sork, V. L. 2004. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. Forest Ecology and Management 197: 21-38.

Snow, A. A. 1982. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. Oecologia 55: 231-237.

Son, H.-J., Kim, Y.-S., Kim, N.-Y., Lee, H.-B., and Park, W.-G. 2014. A consideration of the possibility of planting *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa* on the east sea area in Gangwon-province by tree ring dating and climatic factor analysis. Journal of Forest Science 30: 36-44.

Son, S.-G., Kim, C.-S., Hwang, S.-I., Jeong, J.-H., and Choi, W.-Y. 2008. Effects of climatic factors and picking time on availability of seeds of *Chamaecyparis obtusa*. Journal of Korean Society of Forest Science 97: 135-139.

Sork, V. L. and Smouse, P. E. 2006. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. Landscape Ecology 21: 821-836.

Sweet, G. 1973. Shedding of reproductive structures in forest trees. Academic Press. New York, NY, USA. pp. 341−382.

Taira, H., Teranishi, H., and Kenda, Y. 1997. Comparison of predictive methods of sugi (*Cryptomeria*) atmospheric pollen counts using mean temperture, solar radiation, and male flower index: an example of Toyama Prefecture. The Japanese Journal of Allergology 46: 489–495.

Takahashi, Y. and Kawashima, S. 1999. A new prediction method for the total pollen counts of *Cryptomeria japonica* based on variation in annual summertime temperature. The Japanese Journal of Allergology 48: 1217−1221.

Tang, D.−Q. and Ide, Y. 1998. Detection of genetic variation among seed and seedlings of *Chamaecyparis obtusa* using allozyme markers. Journal of Forest Research 3: 35−38.

Tang, D.−Q. and Ide, Y. 2001. Genetic variation in fruitfulness in a hinoki (*Chamaecyparis obtusa* Endl.) seed orchard and its impact on the maintenance of genetic diversity in seedlots. Journal of Forest Research 6: 67−72.

Tsuji, C., Dannoura, M., Desalme, D., Angeli, N., Takanashi, S., Kominami, Y., and Epron, D. 2022. Drought affects the fate of nonstructural carbohydrates in hinoki cypress. Tree Physiology, 42: 784−796.

USDA Forest Service. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook. General Technical Report SE−13. pp. 28

Wakushima, S. 2004. Promotion of female strobili flowering and seed

production in two japanese pine species by 6-benzylaminopurine (BAP) paste application in a field seed orchard. Journal of Plant Growth Regulation 23: 135-145.

Wang, M. L., Barkley, N. A., and Jenkins, T. M. 2009a. Microsatellite markers in plants and insects. part I: Applications of biotechnology. Genes, Genomes, and Genomics 3: 54-67

Wang, W., Hwang, C., Lin, T., and Hwang, S.-Y. 2003. Historical biogeography and phylogenetic relationships of the genus *Chamaecyparis* (Cupressaceae) inferred from chloroplast DNA polymorphism. Plant Systematics and Evolution 241: 13-28.

Wang, X., Rinehart, T. A., Wadl, P. A., Spiers, J. M., Hadziabdic, D., Windham, M. T., and Trigiano, R. N. 2009b. A new electrophoresis technique to separate microsatellite alleles. African Journal of Biotechnology 8: 2432-2436.

Wang, Y., Ruhsam, M., Milne, R., Graham, S. W., Li, J., Tao, T., Zhang, Y., and Mao, K. 2022. Incomplete lineage sorting and local extinction shaped the complex evolutionary history of the paleogene relict conifer genus, *Chamaecyparis* (Cupressaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution 172: 107485.

Westwood, M.N. 1978. Temperate zone pomology. Freeman, W. H. and Company. San Francisco, CA, USA. 428 p.

Wheeler, N. and Jech, K. 1992. The use of electrophoretic markers in seed orchard research. New Forests 6: 311-328.

Williams, C. G. and Barnéoud, P. 2021. Live pine pollen in rainwater: reconstructing its long-range transport. Aerobiologia 37: 333-

350.

Wilson, E. O. and Peter, F. M. 1988. The loss of diversity causes and consequences. In Biodiversity. National Academies Press. Washington, DC, USA.

Winsor, J., Davis, L., and Stephenson, A. G. 1987. The relationship between pollen load and fruit maturation and the effect of pollen load on offspring vigor in *Cucurbita pepo*. The American Naturalist 129: 643-656.

Woessner, R. and Franklin, E. 1973. Continued reliance on wind pollinated southern pine seed orchards: is it reasonable? In Proceedings of 12th Southern Forest Tree Improvement Conference. pp. 64-73.

Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97.

Wright, S. 1940. Breeding structure of populations in relation to speciation. The American Naturalist 74: 232-248.

Yamazaki, F. 1985. Studies of the pollen grains causing pollinosis (10): correlation between sugi pollinosis and mean ten day temperature in July. The Japanese Journal of Allergology 34: 305-309.

Yang, J.-K., Choi, M.-S., Seo, W.-T., Rinker, D. L., Han, S. W., and Cheong, G.-W. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* leaf essential oil. Fitoterapia 78: 149-152.

Zobel, D. B. 1985. Ecology, pathology, and management of Port-Orford-cedar (*Chamaecyparis lawsoniana*). Vol. 184. US

Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station. USDA Forest Service. Portland, OR, USA.

Appendix

Table A1. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_14	1.486
AB	G_13	1.667
	JN19_typeA	1.514
ABCDEF	JN33	5.289
	GN50	5.286
	JN15	5.226
	G_21	5.133
	BS5_typeA	5.078
	GN46	5.019
	GN37	4.895
	GN57	4.821
	JN25	4.795
	GN18_typeA	4.792
	GN55	4.770
	G_8	4.623
	GN35	4.577
	GN39	4.316
	JN10	4.203
	JN24	4.143
	GN19	4.073
	UK 22	4.069
	G_16	4.052
	GN51	4.008
	G_19	4.005
	GN23	3.997
	GN38	3.900

	GN45	3.800
	JN09	3.787
	JN29	3.738
	JJ01	3.737
ABCDF	UK13	3.695
	G_10	3.649
	GN16	3.627
	JN08	3.524
	JN06	3.514
	G_11	3.513
	CN02	3.417
	JN22	3.387
	JN30_typeB	3.383
	G_12	2.932
ABCF	GN27	2.784
	G_2	2.769
	GN28	2.669
	JN13	2.665
	G_20	2.543
ABF	BS02	2.455
	G_9	2.319
	G_15	2.285
	G_5	2.004
	JN05	1.910
	G_1	1.691
BCDEF	UK06	1.222
	G_22	1.118
	GN47	1.028
	GN52	0.983
	JB01_typeC	0.677
	GN48	0.531
CDE	G_18	0.000
CDEF	G_6	0.331
DE	G_7	0.000
E	G_3	0.000

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2020

Group	Clone	Mean
A	GN37	9.562
AB	JN09	7.656
ABCDE	GN50	8.421
ABCDEF	UK13	6.371
	JN15	5.793
ABCDEFG	GN46	6.344
	GN18_typeA	6.082
ABCDEFGH	JN33	6.588
	BS5_typeA	6.510
	GN45	6.107
	JN30_typeB	6.042
	G_16	5.908
	GN16	5.741
	GN57	5.570
	GN39	5.219
	JJ01	5.096
	GN35	5.024
	BS02	4.611
	G_2	4.550
	G_11	4.434
	UK22	4.414
	G_14	4.199
	JN25	4.177
	G_15	4.143
	JN06	4.055
	GN23	3.994
	G_9	3.664
	JN19_typeA	3.546
	G_19	3.516
	G_10	3.466
	UK06	3.126

	G_18	3.045
	G_21	3.006
	G_8	2.364
	GN38	2.203
	G_12	1.684
	GN52	1.600
	G_7	0.000
	G_5	0.000
	G_3	0.000
ABCE	GN28	6.776
ABE	GN55	7.529
BCDEFGH	JN10	3.928
	JN22	3.696
	JN08	3.686
	JN29	3.666
	GN51	3.539
	CN02	3.191
	G_1	1.941
CDEFGH	JN05	2.433
	G_20	1.902
	GN47	1.335
CDFGH	GN19	3.808
DFGH	GN27	1.825
	JB01_typeC	1.692
FGH	JN13	2.142
	G_13	1.057
	GN48	0.000
GH	JN24	1.607
H	G_22	1.212
	G_6	1.178

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN15	5.024
AB	GN18_typeA	4.279
ABC	GN55	4.176
	JN09	3.921
	JN25	3.868
	UK13	3.770
	GN46	3.742
	GN23	3.695
	JJ01	3.685
	JN10	3.678
	GN35	3.662
	JN24	3.549
ABCD	GN51	3.197
	JN06	3.058
ABCDE	G_21	4.209
	JN33	4.197
	G_8	4.059
	GN50	3.799
	G_10	3.502
	BS5_typeA	3.355
	G_16	3.332
	G_19	3.258
	JN30_typeB	3.125
	UK22	3.079
	GN37	2.946
	G_11	2.946
	CN02	2.863
	JN29	2.838
	JN13	2.835
	JN08	2.755
	GN28	2.719

	G_2	2.615
	G_9	2.571
	GN27	2.334
	GN16	2.306
	GN45	2.258
	G_15	1.981
	G_1	1.895
	GN38	1.798
	GN57	1.768
	GN52	1.698
	G_12	1.599
	JN19_typeA	1.361
	GN48	0.907
	UK06	0.687
	G_14	0.480
	G_3	0.000
	G_5	0.000
	G_18	0.000
	G_7	0.000
BC	GN19	3.090
BCDE	GN39	2.717
	JN22	2.442
	BS02	1.625
	G_20	1.287
	JN05	1.136
	G_13	0.941
	GN47	0.893
CDE	JB01_typeC	0.958
DE	G_6	0.266
E	G_22	0.000

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A2. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN55	7.751
AB	GN35	7.241
ABC	GN46	6.910
ABCDEFG	JN19_typeA	7.557
	GN57	7.505
	GN50	7.107
	BS5_typeA	7.104
	G_8	6.800
	UK22	6.589
	JN25	6.446
	G_9	6.403
	JN33	6.278
	GN51	6.188
	JN10	6.093
	JN24	6.036
	GN39	6.020
	GN37	5.986
	JN30_typeB	5.972
	GN28	5.867
	GN23	5.861
	CN02	5.753
	JJ01	5.705
ABCDEFGHI	G_2	5.935
	GN48	5.454
	G_21	5.245
	G_10	5.113
	GN45	5.043
	G_3	4.875
	GN38	4.860

	G_15	4.707
	G_18	4.615
	GN52	4.126
ABCDEFGI	G_19	5.705
	G_16	5.462
ABCDF	JN06	6.525
ABCDFG	GN16	6.556
	GN18_typeA	6.427
ABCF	JN13	6.687
	JN09	6.670
	JN22	6.588
BCDEFG	JN15	5.968
	GN19	5.821
	UK13	5.673
BCDEFGHI	G_11	4.789
BCDEFGHIJ	GN47	4.440
	G_7	0.693
CDEFG	JN08	5.308
	BS02	5.088
	JN29	5.049
CDEFGHI	JN05	4.830
CDEFGHIJ	G_12	3.729
	G_5	2.055
CDEFGI	GN27	5.025
DEFGHIJ	G_1	3.834
DEGHIJ	JB01_typeC	4.325
EGHIJ	UK06	3.187
EGHIJ	G_14	3.183
EHIJ	G_20	3.759
HIJ	G_13	2.266
HJ	G_22	2.373
J	G_6	2.082

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN37	10.778
ABCDEFGHIJ	G_3	9.980
	G_18	8.700
	GN48	6.925
	G_9	6.455
	JN19_typeA	6.425
	UK06	5.926
	GN45	4.771
	GN38	4.511
	G_2	4.411
	G_15	3.948
	GN52	3.504
	G_7	0.000
ABCDEGHIJ	GN50	7.614
	JN33	7.592
	JN24	6.604
	JJ01	6.332
	JB01_typeC	6.213
	JN25	6.093
	JN08	6.047
	GN23	5.961
ABCDEGHJ	G_8	10.043
	BS5_typeA	8.454
ABCDGHJ	CN02	7.516
	GN16	7.441
	JN13	7.351
	GN39	6.986
ABCGH	GN57	10.811
	G_16	9.189
	GN55	8.321
	GN35	7.946

	GN51	7.874
ABCGHJ	GN19	7.282
ABGH	GN46	9.155
	UK13	8.854
	GN18_typeA	8.739
	GN28	8.530
ABH	JN30_typeB	9.108
	JN06	9.028
	BS02	9.009
AH	JN15	8.876
BCDEFGHIJ	G_20	4.812
	GN47	4.215
	G_14	3.599
	G_5	0.000
BCDEFGIJ	JN05	4.793
BCDEGHIJ	JN29	5.820
BCDEGIJ	JN10	6.129
CDEFGIJ	G_11	4.235
CDEFIJ	JN22	4.995
	JN09	4.889
	UK22	4.487
	GN27	4.431
DEFI	G_1	1.956
DEFIJ	G_21	0.000
	G_10	0.000
EFI	G_12	0.822
F	G_22	1.343
	G_6	1.246
	G_13	0.502
FI	G_19	0.836

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN55	6.167
ABCDEF	G_8	6.462
	G_19	5.350
	JN05	4.430
	JN29	4.096
ABCDEFG	G_15	5.063
	G_10	4.982
	GN38	4.722
	GN45	4.717
	GN48	4.614
	G_18	4.511
	G_2	4.484
	BS5_typeA	4.465
	G_3	4.394
	G_21	3.856
	GN27	3.757
	GN47	3.678
	G_1	3.627
	G_20	3.434
	G_11	3.377
	GN52	2.408
	G_12	2.313
	G_7	0.693
ABCEF	GN57	6.712
	G_16	5.212
	GN37	5.012
	CN02	4.640
ABEF	JN19_typeA	7.114
	GN50	6.550
	G_9	6.233
	JN33	5.922

	GN16	5.658
	JN25	5.623
	UK22	5.607
	JN30_typeB	5.588
	JN24	5.572
	JN13	5.526
	GN18_typeA	5.514
	GN23	5.493
	GN51	5.441
	UK13	5.324
	GN28	5.118
	JJ01	5.107
	GN39	4.981
	GN19	4.953
	JN10	4.728
	JN08	4.724
	BS02	4.596
AE	GN35	5.891
	GN46	5.868
	JN09	5.804
	JN06	5.767
	JN22	5.700
AEF	JN15	5.517
BCDEFG	G_5	0.000
BCDFG	UK06	1.669
BCDG	JB01_typeC	2.911
	G_14	1.625
CDG	G_6	2.002
DG	G_13	1.157
G	G_22	1.184

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A3. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2022 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2022

Group	Clone	Mean
A	JN24	7.124
	JN22	6.720
	UK13	6.714
	GN19	6.332
ABCDE	G_8	7.581
	G_21	7.252
	JN33	6.884
	GN38	6.729
	BS5_typeA	6.517
	G_3	6.479
	G_7	6.399
	GN52	6.339
	JN25	6.153
	JN05	6.078
	GN57	5.990
	JN19_typeA	5.659
	JN30_typeB	5.604
	GN47	5.569
	G_9	5.544
	G_10	5.526
	UK22	5.503
	GN18_typeA	5.415
	G_16	5.237
	GN37	5.224
	GN28	5.212
	JN08	5.138
	G_13	4.936
	GN51	4.888
	GN55	4.839

	JN10	4.788
	GN45	4.636
	G_11	4.514
	UK06	4.298
	G_20	4.199
	GN48	4.191
	G_14	4.149
	G_18	3.932
	G_12	3.609
	G_2	3.388
	G_15	2.700
	G_5	1.522
ABD	JB01_typeC	6.482
	JJ01	6.420
ABDE	GN23	6.245
	GN16	6.215
	GN39	6.009
	GN46	5.985
	JN13	5.929
	JN09	5.784
	BS02	5.775
	JN06	5.774
	JN15	5.661
AD	GN27	6.708
	CN02	6.483
	JN29	6.332
BCDE	G_19	2.900
	GN50	2.888
BCE	GN35	3.814
	G_22	3.495
C	G_6	3.015
CE	G_1	2.419

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2022

Group	Clone	Mean
A	GN37	11.046
	BS02	10.181
ABCDEFGH	G_3	9.798
	GN57	9.503
	GN48	7.503
	G_11	7.239
	GN47	7.010
	JN05	6.844
	G_20	6.656
	G_15	6.492
	UK22	6.218
	G_2	6.048
	G_14	5.473
	G_1	5.431
	G_5	4.736
	GN45	4.518
	G_21	3.182
	G_8	2.900
	G_10	2.303
ABCDEFH	GN38	9.880
	GN52	9.778
	BS5_typeA	9.207
	G_9	8.592
	G_16	8.273
	JN25	7.708
	JN09	6.323
ABCEFH	JN33	9.707
	GN27	9.160
	JJ01	8.923
	GN18_typeA	8.151
	JN30_typeB	8.034

	JN08	7.925
	GN51	7.348
	GN55	7.178
ABEFH	CN02	9.272
	JN24	9.102
	JN29	9.032
	JN13	8.955
	GN28	8.710
AEF	JB01_typeC	9.869
	GN16	9.791
	GN23	9.552
	JN15	9.199
	JN22	9.180
AEFH	GN39	8.848
AF	GN46	9.861
	UK13	9.829
	JN06	9.709
	GN19	9.298
BCDEFGH	JN19_typeA	1.727
BCDEGH	G_12	2.765
BCDG	JN10	5.336
BCDGH	G_19	3.122
	GN50	3.122
	UK06	1.703
CDG	GN35	4.718
	G_22	4.201
DG	G_6	2.417
	G_6	2.417
G	G_13	0.691
	G_13	0.691

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2022

Group	Clone	Mean
A	G_18	6.868
	G_8	6.804
	G_5	6.642
	GN23	6.370
	JB01_typeC	6.351
	G_14	6.143
	JN 06	6.067
	JN 13	5.950
	JN 25	5.869
	JN 09	5.815
	JN 15	5.802
	G_3	5.707
	JN30_typeB	5.602
	UK13	5.565
	JN19_typeA	5.558
	JN08	5.455
	JN 29	5.345
	UK22	5.324
	G_19	5.225
	GN 16	5.207
	JJ 01	5.176
	GN 37	5.147
	GN 28	5.028
	GN 18_typeA	4.986
	GN 38	4.876
	JN 10	4.848
	G_16	4.827
	GN 19	4.823
	GN 27	4.793
	GN 39	4.769
	JN 22	4.767

JN 05	4.622
JN 33	4.619
G_21	4.618
GN 55	4.616
GN 50	4.586
GN 35	4.566
BS 05_typeA	4.562
CN 02	4.498
G_11	4.486
GN 46	4.421
GN 51	4.389
G_22	4.378
GN 47	4.360
G_6	4.265
G_20	4.241
G_15	4.065
GN 52	3.826
GN 48	3.814
G_13	3.797
GN 45	3.693
G_12	3.648
BS 02	3.625
JN 24	3.482
UK06	3.474
G_7	3.434
G_10	3.253
GN 57	3.117
G_1	2.864
G_9	2.458
G_2	0.858

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A4. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_2	4.416
AB	JN30	4.060
	G_4	3.798
	JN6	3.547
	G_10	3.497
	G_6	3.083
	JN12	2.983
	UK08	2.708
	JN29	2.708
	JN08	2.459
	G_5	2.411
	G_1	2.394
	JN25	2.316
	G_9	2.197
	BS02	2.197
	JB01_typeC	1.993
	JN01	1.987
	JB01_typeA	1.979
	BS05	1.792
	G_3	1.368
	G_12	1.354
	G_11	1.099
B	JN10	0.924

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_4	4.967
AB	JN30	5.994
ABCDEF	JN29	3.761
	BS05	3.714
	JN6	3.548
	G_11	3.434
	BS02	3.135
	UK08	2.773
	G_10	2.398
	JN12	2.333
	G_12	1.869
ABCDF	G_1	3.934
ABD	G_6	3.879
ABDF	JN01	3.202
ABDF	G_5	3.126
BCDEF	G_3	2.259
BCDF	JN08	2.387
CDEF	JN25	1.572
	G_9	0.000
CE	JB01_typeC	1.623
CEF	JN10	0.693
	G_2	0.347
E	JB01_typeA	0.902

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_4	7.961
AB	G_2	7.601
	JN30	7.091
	G_12	6.965
	G_1	5.997
	G_6	5.912
	G_11	5.707
	JN6	5.658
	G_9	5.485
	BS02	5.485
	BS05	5.198
	G_10	4.949
	JN29	4.796
	JN12	4.698
	JN25	4.677
	UK08	4.615
	JN10	3.137
B	JB01_typeC	3.867
	JB01_typeA	3.300
	G_5	3.093
	JN01	2.823
	JN08	2.619
	G_3	2.296

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A5. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C), at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_4	4.117
AB	JN30	6.594
	JN08	2.405
ABC	G_11	5.861
	UK08	5.802
	BS05	4.277
	G_10	4.263
	JN6	4.085
	G_1	3.661
	G_12	3.597
	BS02	3.434
	G_6	2.746
	JN25	2.496
	JN29	2.398
	G_3	2.373
	JN12	2.228
	G_2	2.095
	G_9	1.609
	JN10	1.570
	G_5	1.355
	JN01	1.342
BC	JB01_typeC	1.179
C	JB01_typeA	0.635

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_11	10.820
	UK08	10.779
	JN30	10.309
	G_4	6.608
	JN6	6.127
	BS05	5.707
	JN01	5.610
	G_10	4.796
	G_3	4.673
	G_5	4.580
	JN08	3.285
	JN25	2.993
	JB01_typeC	2.960
	JB01_typeA	2.897
	JN12	2.877
	G_1	2.481
	G_2	2.355
	G_6	1.672
	G_12	0.549
	G_9	0.000
	BS02	0.000
	JN10	0.000
	JN29	0.000

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_4	5.661
ABCD	JN30	6.176
	G_10	6.066
	G_11	6.043
	UK08	5.638
	BS05	4.263
	JN25	3.715
	G_2	3.431
	G_9	3.045
	JN6	2.821
	G_5	2.745
	G_3	2.677
	JN10	2.220
	JN29	1.792
	BS02	0.000
ABD	G_1	5.661
	G_12	5.594
	JN12	4.432
	G_6	4.241
AD	JN08	3.876
B	JB01_typeC	2.430
BCD	JN01	2.214
C	JB01_typeA	1.349

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A6. Multiple comparison of female (A) and male strobilus (B), and mature cone production (C) at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2022 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Female strobilus production in 2022

Group	Clone	Mean
A	G_1	6.962
	G_10	9.401
	G_11	7.969
	G_12	7.599
	G_2	7.978
	G_3	6.312
	G_4	7.653
	G_5	8.002
	G_6	5.980
	G_9	8.517
	UK08	8.175
	BS 02	6.256
	BS 05	9.094
	JN 01	8.036
	JN 08	7.813
	JN 10	5.806
	JN 12	8.911
	JN 25	9.066
	JN 29	5.707
	JN 30	8.019
	JN 06	8.136
	JB01_typeA	6.163
	JB01_typeC	7.134

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Male strobilus production in 2022

Group	Clone	Mean
A	G_4	12.811
	JN 01	11.876
	G_5	11.141
	JN 08	10.850
	JB01_typeC	9.535
AB	UK08	13.721
	JN 30	13.508
	G_1	13.281
	JN 06	13.174
	BS 02	11.983
	G_6	11.621
	G_11	11.513
	JN 29	10.820
	BS 05	10.800
	G_9	10.714
	JN 12	10.439
	G_2	10.399
	JN 25	10.375
	G_10	9.741
	G_3	9.488
	JN 10	9.287
	G_12	5.578
B	JB01_typeA	7.653

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Mature cone production in 2022

Group	Clone	Mean
A	JN 08	9.064
AB	UK08	11.339
	JN 12	9.420
	G_4	9.405
	G_3	9.251
	JN 01	8.573
	JB01_typeC	8.262
ABC	G_10	10.491
	JN 06	9.754
	JN 30	9.522
	G_12	9.522
	G_9	9.432
	G_1	9.239
	G_2	9.085
	JN 29	8.882
	G_11	8.748
	BS 05	8.594
	G_6	8.407
	G_5	8.032
	JN 25	8.020
	BS 02	6.986
BC	JB01_typeA	7.528
C	JN 10	4.632

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A7. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Cone fresh weight in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN 06	0.662
AB	JB01_typeC	0.559
	GN 37	0.524
	GN 47	0.522
	GN 57	0.514
	G_16	0.490
	UK13	0.482
	GN 55	0.475
	CN 02	0.472
	UK22	0.471
	G_6	0.455
	GN 16	0.441
	G_10	0.439
	BS 02	0.439
	JN 13	0.439
	GN 45	0.439
	BS5_typeA	0.428
	GN 23	0.416
	GN 52	0.412
	JN 05	0.409
	GN 38	0.408
	G_8	0.405
	G_2	0.389
	JN 33	0.386
	G_19	0.383
	JN19_typeA	0.378
	G_9	0.375
	G_13	0.366

	G_12	0.345
	G_21	0.310
	G_15	0.305
	G_20	0.305
	UK06	0.292
	G_1	0.274
B	GN18_typeA	0.436
	JN 29	0.431
	GN 51	0.429
	JN 24	0.428
	JN 09	0.425
	GN 39	0.419
	JN 15	0.413
	GN 27	0.409
	GN 35	0.393
	JN 22	0.391
	GN 46	0.386
	JN 08	0.383
	JJ 01	0.381
	GN 19	0.378
	GN 28	0.375
	JN 10	0.374
	G_11	0.357
	GN 50	0.354
	JN 25	0.322
	JN30_typeB	0.322

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Cone length in 2020

Group	Clone	Mean
A	UK13	2.465
AB	GN 47	2.549
	GN 57	2.512
	GN 37	2.491
	JB01_typeC	2.491
	GN 55	2.452
	UK22	2.449
	G_16	2.447
	JN19_typeA	2.439
	JN 13	2.437
	CN 02	2.436
	JN 29	2.435
	GN18_typeA	2.428
	GN 16	2.427
	JN 06	2.426
	G_10	2.426
	BS 02	2.425
	JN 09	2.423
	G_6	2.421
	GN 23	2.418
	BS5_typeA	2.418
	GN45	2.415
	GN52	2.407
	G_9	2.404
	JN15	2.401
	GN28	2.399
	GN35	2.398
	GN19	2.396
	GN39	2.396
	JN24	2.394
	G_2	2.386

	JN08	2.385
	G_8	2.385
	GN51	2.379
	GN38	2.376
	G_19	2.376
	GN46	2.375
	JJ01	2.373
	JN22	2.369
	JN33	2.365
	GN50	2.353
	G_13	2.353
	JN25	2.349
	JN10	2.346
	JN30_typeB	2.346
	G_11	2.330
	UK06	2.328
	JN05	2.314
	G_20	2.306
	G_12	2.300
	G_15	2.296
	G_21	2.286
	G_1	2.252
B	GN27	2.278

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Cone width in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN24	2.451
AB	GN37	2.417
ABC	JB01_typeC	2.408
ABCD	UK13	2.365
ABCDE	UK22	2.344
	JN06	2.343
ABCDEF	GN47	2.433
	GN57	2.377
	G_10	2.351
	CN02	2.333
	GN52	2.324
	BS5_typeA	2.310
	GN45	2.308
	GN23	2.301
	G_16	2.295
	GN38	2.288
	G_20	2.288
	G_2	2.272
	G_6	2.271
	UK06	2.270
	G_13	2.268
	G_8	2.258
	G_19	2.249
	JN05	2.248
	JN19_typeA	2.247
	G_12	2.244
	G_9	2.225
	G_1	2.172
BCDEF	GN55	2.312
	JN13	2.307
	GN51	2.302

	BS02	2.297
	JJ01	2.291
	JN09	2.283
	GN18_typeA	2.281
	GN19	2.281
	GN39	2.280
	JN29	2.278
	JN22	2.276
	GN16	2.274
	JN15	2.272
	GN27	2.268
	GN28	2.268
	G_11	2.267
	JN33	2.239
	G_21	2.178
	G_15	2.176
CDEF	GN46	2.252
DEF	GN35	2.242
EF	JN10	2.241
	JN08	2.215
	JN30_typeB	2.211
	GN50	2.176
F	JN25	2.181

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Cone dry weight in 2020

Group	Clone	Mean
A	CN02	0.303
	GN52	0.358
ABC	GN57	0.273
	GN37	0.264
	JB01_typeC	0.259
	GN47	0.258
	G_16	0.237
	UK13	0.237
	BS5_typeA	0.232
	GN35	0.231
	GN55	0.229
	BS02	0.222
	JN13	0.220
	GN23	0.219
	G_6	0.219
	JN09	0.216
	JN29	0.215
	UK22	0.215
	JN06	0.213
	GN46	0.212
	GN45	0.211
	GN18_typeA	0.206
	GN16	0.205
	JN15	0.205
	G_10	0.204
	G_8	0.201
	G_19	0.200
	JN24	0.199
	GN27	0.199
	GN38	0.197
	G_9	0.196

	G_2	0.195
	JN22	0.193
	JN05	0.191
	GN28	0.189
	JN19_typeA	0.187
	G_20	0.185
	JN08	0.184
	G_11	0.183
	JN33	0.180
	GN50	0.179
	G_13	0.170
	G_12	0.158
	UK06	0.150
	G_21	0.149
	G_15	0.142
	G_1	0.133
AC	GN51	0.273
B	JN10	0.189
	GN19	0.186
	GN39	0.184
	JN30_typeB	0.163
	JN25	0.146
BC	JJ01	0.169

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A8. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Cone fresh weight in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN47	0.695
AB	JN24	0.606
ABCDEFGHIJKLMNOPQ	G_7	0.634
	G_18	0.549
	G_3	0.531
	G_21	0.507
ABCDEFGHIJKMNOPQ	GN38	0.524
ABCDEFGHIJMNOPQ	BS05_typeA	0.540
ABCDEFGMNO	G_10	0.610
ABCDEFMNO	GN37	0.560
ABCDEN	GN52	0.665
ABCDMNO	JB01_typeC	0.579
ABCNO	UK13	0.573
ABCO	JN13	0.571
BCDEFGHIJKLMNOPQ	G_13	0.501
	G_12	0.470
	GN48	0.462
	GN57	0.455
	G_8	0.422
	UK06	0.404
BCDEFGHIJKMNOPQ	GN45	0.504
	G_20	0.495
BCDEFGHMNOP	JN05	0.535
BCDEFGMNOP	BS02	0.529
	GN16	0.527
BCDEFMNO	JN29	0.540
CDEFGHIJKLMNOPQ	G_1	0.477
	G_22	0.468
	JN19_typeA	0.460

	G_19	0.456
	G_14	0.438
CDEFGHIJKMNOPQ	CN02	0.487
	UK22	0.487
CDEFGHIKMNOP	GN51	0.501
CDEFGHIMNOP	GN46	0.513
	JN06	0.501
DEFGHIJKLMNPQ	G_16	0.458
DEFGHIKMP	JN15	0.493
DEFGHIKMPQ	JN22	0.490
EFGHIJKPQ	JN09	0.483
EFGHIKP	GN19	0.492
FGHIJKLMOPQ	G_15	0.433
	G_2	0.432
FGHIJKLMPQ	JN33	0.449
FGHIJKLPQ	GN27	0.464
	G_11	0.451
	G_9	0.433
FGHIJKPQ	GN18_typeA	0.464
GHIJKLPQ	JN08	0.455
	GN55	0.450
GHIJKPQ	GN39	0.458
HIJKLPQ	JN25	0.438
HIJKLQ	GN35	0.441
	GN23	0.435
	JJ01	0.435
	G_6	0.416
IJKLQ	JN10	0.437
JL	GN28	0.415
JLQ	JN30_typeB	0.415
KL	Single	0.373
L	GN50	0.338

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Cone width in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN47	2.595
ABCDEFGHIJK	G_18	2.501
	G_7	2.495
	G_21	2.480
	G_3	2.479
	G_13	2.467
	G_1	2.453
	G_12	2.452
	GN48	2.450
	GN57	2.450
	G_14	2.430
	G_8	2.426
	UK06	2.396
ABCDEFGHJK	BS05_typeA	2.499
	JN05	2.491
	GN38	2.485
	GN51	2.480
	GN45	2.477
	G_20	2.470
	G_16	2.459
ABCDEFGJ	GN52	2.585
ABCDEFGJK	GN46	2.484
ABCDEGJ	G_10	2.558
ABCDG	GN37	2.523
ABCDGJ	GN16	2.499
	GN19	2.485
ABCG	JB01_typeC	2.526
	JN29	2.517
	BS02	2.516
ABG	UK13	2.529
	JN13	2.527

AG	JN24	2.542
BCDEFGHIJK	G_19	2.441
	JN19_typeA	2.441
	G_22	2.433
BCDEFGHJK	UK22	2.469
	JN09	2.469
	CN02	2.467
	GN27	2.452
BCDEFHIJK	G_9	2.428
	JN33	2.421
BCDEFHJK	JN15	2.469
	JN06	2.465
	GN18_typeA	2.460
CDEFHIJK	G_11	2.423
	G_15	2.398
	G_2	2.394
CDEFHJK	JN22	2.449
DEFHIJK	GN55	2.430
	JN25	2.430
DEFHJK	JN08	2.442
	GN35	2.439
EFHIJK	JJ01	2.421
	G_6	2.410
EFHIK	GN39	2.425
	GN23	2.414
FHIK	JN10	2.415
HI	GN28	2.409
	JN30_typeB	2.406
HIK	Single	2.365
I	GN50	2.324

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Cone length in 2021

Group	Clone	Mean
A	JN24	2.480
AB	GN47	2.498
ABCDE	G_10	2.496
ABCDEFGHIJKLMNOPQ	G_7	2.440
	G_18	2.399
	UK06	2.342
	G_3	2.341
	G_8	2.312
ABCDEFGHIJKLMNPQ	G_13	2.390
	G_12	2.375
	G_21	2.371
	GN45	2.363
ABCDEFGHIJKLMPQ	GN38	2.380
ABCDEFGHIJKLPQ	GN52	2.451
ABCDEFGHIJPQ	BS05_typeA	2.406
ABCDEFGHPQ	JN05	2.391
ABCDEFGPQ	GN37	2.408
	G_20	2.406
ABCDEFPQ	JB01_typeC	2.409
ABCDPQ	JN13	2.420
ABCP	UK13	2.431
BCDEFPQ	JN06	2.397
CDEFGHIJKLMNOPQ	GN48	2.326
	GN57	2.306
CDEFGHIJKLMNPQ	G_1	2.348
	G_11	2.334
CDEFGHIJKLMNPQ	JN33	2.333
CDEFGHIJKLMPQ	JN29	2.353
CDEFGHIJKMPQ	BS02	2.355
CDEFGHIJKPQ	GN46	2.361
	GN51	2.360

CDEFGHIJPQ	UK22	2.371
DEFGHIJKLMQ	CN02	2.343
DEFGHIQ	JN15	2.358
EFGHIJKM	JN22	2.351
FGHIJKLM	GN16	2.342
	JN09	2.334
FGHIJKLMN	GN27	2.321
	JJ01	2.320
FGHIJKLMNO	G_2	2.272
	G_14	2.272
FGHIJKLMNOQ	JN19_typeA	2.302
	G_15	2.296
	G_19	2.320
	G_22	2.320
FGHIJKM	GN19	2.343
GHIJKLMN	GN23	2.316
GHIJKLMNO	G_9	2.284
HIJKLMN	GN18_typeA	2.302
	JN30_typeB	2.302
	GN39	2.302
HIJKLMNO	G_16	2.275
IJKLMN	JN10	2.302
IJKLMNO	JN25	2.285
JKLMN	GN55	2.289
KLMN	GN35	2.286
LNO	JN08	2.279
	GN28	2.278
MNO	Single	2.237
NO	G_6	2.233
O	GN50	2.171

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Cone dry weight in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN47	0.328
AB	GN52	0.343
ABC	JN24	0.273
	JN13	0.271
ABCDEFGHIJKLMN	G_3	0.278
	G_7	0.272
	G_12	0.235
	G_13	0.229
	G_18	0.222
	G_21	0.221
	UK06	0.195
ABCDEFGHJKLMN	G_10	0.268
	GN38	0.251
ABCDEFJKLM	BS05_typeA	0.269
ABCDEJKLM	GN37	0.261
ABCDJ	JB01_typeC	0.273
ABCDJK	JN29	0.259
ABCJ	UK13	0.271
BCDEFGHIJKLMN	GN45	0.228
	GN57	0.226
BCDEFGHJKLMN	G_20	0.239
BCDEFGJKLM	JN05	0.250
BCDJKL	GN16	0.257
BCDJKLM	BS02	0.255
CDEFGHIJKLMN	G_1	0.224
	GN48	0.215
	G_15	0.210
	G_22	0.210
	JN19_typeA	0.206
	G_14	0.205
	G_2	0.200

	G_8	0.191
CDEFGHJKLMN	CN02	0.232
	GN27	0.222
CDEFGJKLM	GN46	0.239
CDEFJKLM	JN22	0.242
DEFGHIJKLMN	G_16	0.211
DEFGHJKLMN	JN06	0.230
	GN51	0.226
DEFGHKLMN	JN09	0.226
DEFGKLM	JN15	0.232
DEFGKLMN	GN19	0.229
EFGHIKLMN	G_19	0.203
	JN33	0.198
	G_9	0.195
EFGHILMN	GN23	0.212
	G_11	0.200
EFGHIMN	UK22	0.210
EFGHIN	GN18_typeA	0.208
EFGHN	JN08	0.213
FGHIN	GN35	0.209
	GN55	0.201
GHIN	JN10	0.203
	Single	0.174
HI	GN39	0.195
	GN28	0.192
	JN30_typeB	0.191
	JJ01	0.186
	G_6	0.178
HIN	JN25	0.187
I	GN50	0.149

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A9. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Cone fresh weight in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_1	0.623
ABCDE	UK08	0.601
ABCDEF	G_11	0.501
	G_3	0.483
	JN30	0.481
	G_4	0.446
	JN12	0.427
	G_10	0.419
	JN10	0.418
	JN29	0.405
	JN25	0.395
	JN6	0.394
	G_9	0.394
	BS02	0.390
ABCE	G_5	0.469
ABE	JB01_typeA	0.485
AE	JB01_typeC	0.522
BCDEF	BS05	0.338
BCDF	G_6	0.392
	G_2	0.307
CDF	G_12	0.382
DF	JN08	0.347
F	JN01	0.300

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Cone width in 2020

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	2.495
ABCDEF	G_9	2.464
	G_3	2.446
	JN30	2.445
	G_11	2.442
	G_10	2.439
	JN25	2.411
	JN12	2.410
	G_4	2.409
	BS02	2.403
	JN10	2.390
	JN6	2.383
	JN29	2.364
ABCDF	UK08	2.528
ABD	G_1	2.522
ABDF	G_5	2.455
AD	JB01_typeA	2.481
BCDEF	BS05	2.359
BCEF	G_12	2.395
	G_6	2.390
CE	JN08	2.360
CEF	G_2	2.327
E	JN01	2.347

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Cone length in 2020

Group	Clone	Mean
AB	G_1	2.492
ABCD	JB01_typeA	2.395
ABCDE	UK08	2.473
	G_4	2.382
ABCDEF	G_3	2.403
ABCDEFG	JN30	2.428
ABCDEFGHI	G_11	2.382
	G_9	2.326
	JN29	2.313
	G_10	2.312
	JN10	2.311
	BS02	2.306
ABCDEFGI	JN6	2.353
AC	JB01_typeC	2.421
BDE	G_5	2.354
CDEFGHI	JN12	2.308
	G_2	2.284
DEFGHI	JN25	2.276
EFGHI	G_6	2.270
FGHI	G_12	2.252
GHI	JN01	2.237
H	JN08	2.198
HI	BS05	2.154

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Cone dry weight in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_1	0.338
ABCDE	UK08	0.275
	G_3	0.237
ABCDEF	JN30	0.235
	G_10	0.215
AE	JB01_typeC	0.264
B	JB01_typeA	0.240
BC	G_5	0.215
BCD	G_12	0.200
BCDE	G_4	0.220
BCDEF	G_9	0.203
	JN10	0.202
	G_11	0.190
	BS02	0.175
	JN29	0.173
BCDF	G_6	0.204
	JN12	0.191
	JN6	0.172
	BS05	0.170
CDF	JN25	0.170
	G_2	0.144
DF	JN08	0.168
F	JN01	0.146

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A10. Multiple comparison of morphological characteristics of cone at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Cone fresh weight in 2021

Group	Clone	Mean
A	UK08	0.616
	G_1	0.586
	JB01_typeC	0.538
	JB01_typeA	0.505
AB	G_4	0.477
	G_5	0.470
ABC	G_9	0.543
	JN30	0.492
	G_11	0.451
	JN10	0.435
	G_3	0.434
	JN6	0.410
	G_10	0.384
	BS05	0.371
BC	JN08	0.411
	JN25	0.377
	JN12	0.367
	G_2	0.362
	G_12	0.337
C	G_6	0.348
	JN01	0.343

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Cone width in 2021

Group	Clone	Mean
A	UK08	2.632
	G_1	2.527
	G_9	2.520
	JN30	2.507
	JB01_typeA	2.495
	JN08	2.495
	JB01_typeC	2.493
	G_11	2.449
	G_4	2.446
	G_5	2.429
	G_3	2.408
	BS05	2.398
	JN25	2.378
	JN10	2.377
	JN6	2.361
	G_12	2.355
	JN12	2.354
	G_10	2.354
	JN01	2.348
	G_6	2.347
	G_2	2.336

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Cone length in 2021

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	2.425
AB	G_6	2.521
ABC	UK08	2.574
	G_1	2.488
	JN30	2.460
	G_9	2.443
	JB01_typeA	2.403
	G_11	2.394
	G_4	2.387
	G_5	2.365
	G_3	2.334
	JN6	2.308
	G_10	2.291
	G_2	2.291
	BS05	2.266
	G_12	2.265
	JN12	2.262
	JN25	2.259
	JN10	2.258
BC	JN08	2.276
C	JN01	2.207

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Cone dry weight in 2021

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	0.285
AB	UK08	0.341
	G_1	0.310
	JB01_typeA	0.266
ABC	G_9	0.314
ABCD	G_4	0.240
ABCDE	JN30	0.267
	JN10	0.218
	G_3	0.216
	G_11	0.213
	JN6	0.196
	BS05	0.177
	G_10	0.176
BCD	G_5	0.228
CD	JN08	0.204
DE	JN25	0.180
	G_6	0.175
	JN12	0.169
	G_2	0.164
	G_12	0.153
E	JN01	0.154

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A11. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Seed potential in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN24	3.655
AB	UK22	3.623
	UK13	3.619
ABCD	BS5_typeA	3.647
ABCDE	JN22	3.594
ABCDEF	GN23	3.597
	JN13	3.595
ABCDEFGHI	G_1	3.611
	G_2	3.611
	UK06	3.611
	G_10	3.611
	G_15	3.611
	GN52	3.611
	GN47	3.611
	JN05	3.611
	GN57	3.592
	GN27	3.538
	G_19	3.536
	G_11	3.534
	G_13	3.530
	JN33	3.521
	G_21	3.511
	JN19_typeA	3.497
	GN45	3.489
	GN38	3.489
	G_8	3.428
	G_6	3.367
ABCDEFGI	G_12	3.611

	G_20	3.606
	JB01_typeC	3.578
	CN02	3.578
	GN37	3.577
	GN51	3.551
	JJ01	3.550
ABCDEFI	BS02	3.566
	GN55	3.562
	JN09	3.555
	GN35	3.551
ABD	JN06	3.612
BCDEFGHI	GN39	3.517
	JN29	3.511
	GN16	3.497
	G_16	3.489
BCDEFGI	GN46	3.539
CDEFGHI	G_9	3.444
CEFGHI	JN10	3.508
	JN15	3.508
EFGHI	GN28	3.488
	JN08	3.480
FGHI	GN18_typeA	3.482
GH	GN19	3.463
GHI	JN30_typeB	3.451
	JN25	3.442
H	GN50	3.386

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Percent developed seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	GN51	4.511
	GN35	4.498
	JN06	4.479
	UK22	4.464
	JN15	4.445
	GN19	4.375
AB	G_16	4.584
	JB01_typeC	4.485
	GN27	4.473
	GN55	4.426
	JN09	4.406
ABC	G_6	4.817
	G_10	4.654
	GN38	4.496
	GN57	4.492
	GN37	4.457
	GN16	4.418
	UK13	4.384
	G_11	4.376
	BS02	4.361
	JN30_typeB	4.357
	JJ01	4.351
	JN13	4.343
	JN08	4.326
	GN18_typeA	4.323
	JN24	4.315
	GN39	4.279
ABCD	G_13	4.445
	JN33	4.398
ABCDE	GN47	4.483
	G_2	4.477

	JN19_typeA	4.436
	G_21	4.433
	G_20	4.386
	UK06	4.383
	GN52	4.349
	G_15	4.338
	G_19	4.280
	G_8	4.268
	BS5_typeA	4.256
	GN50	4.255
	JN22	4.241
	GN23	4.237
	G_9	4.202
	JN29	4.181
	GN46	4.178
	GN28	4.164
	JN25	4.140
	GN45	4.054
	G_1	4.000
BCDE	JN10	4.132
CDE	CN02	3.977
DE	G_12	3.664
E	JN05	3.556

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Percent filled seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	GN37	4.555
ABCDEFG	G_6	4.555
	UK06	4.487
	GN57	4.291
	GN52	4.289
	JN19_typeA	4.264
	G_1	4.261
	G_16	4.257
	G_9	4.250
	JN05	4.237
	G_13	4.200
	JN25	4.178
	G_20	4.178
	JN33	4.151
	GN47	4.126
	G_15	4.083
	G_2	3.990
ABCDF	G_10	4.522
	G_8	4.442
	G_12	4.377
	JN30_typeB	4.320
	JN08	4.319
	JN22	4.318
	JB01_typeC	4.318
	G_19	4.315
	GN46	4.314
	GN39	4.307
	CN02	4.306

	GN45	4.301
	JN06	4.300
	GN28	4.297
	GN19	4.279
	JN10	4.254
	JN09	4.245
ABCDFG	GN27	4.220
ABCF	JJ01	4.414
	GN16	4.414
	GN23	4.385
	BS02	4.379
	GN55	4.343
	GN51	4.339
	JN29	4.333
ABF	UK13	4.413
	JN15	4.386
AF	GN18_typeA	4.459
BCDEFG	GN50	4.133
BCDEG	JN24	4.164
	GN38	3.968
CDEG	UK22	4.108
	GN35	4.103
	G_11	4.037
DEG	JN13	4.027
E	BS5_typeA	3.777
EG	G_21	3.708

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Percent empty seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN13	3.740
AB	BS5_typeA	3.939
ABCD	G_21	4.085
ABCDEFG	GN47	3.636
	JN19_typeA	3.353
	GN57	3.218
	JN05	2.785
	GN52	2.704
	GN16	2.667
	GN45	2.577
	JJ01	2.552
	G_12	2.550
	UK06	2.500
	G_1	2.196
	G_10	2.009
	G_6	1.922
ABCDEG	GN38	3.836
	G_2	3.835
	G_15	3.683
	G_11	3.626
	G_20	3.472
	JN33	3.450
	GN50	3.431
	G_13	3.385
	JN24	3.238
	JN25	3.223
	GN27	3.174
	G_19	3.163

	JN09	3.106
	G_9	3.071
	JN08	3.062
	GN28	3.032
	JN06	3.012
	GN19	3.011
	G_16	2.971
	JB01_typeC	2.928
	GN23	2.928
	JN22	2.919
	JN10	2.891
	JN30_typeB	2.839
	CN02	2.834
	JN29	2.793
	GN51	2.785
	GN46	2.755
ABCEG	UK22	3.500
AE	GN35	3.521
BCDEFG	BS02	2.569
BCDEG	GN55	2.630
	GN39	2.620
BCDG	JN15	2.660
CDFG	UK13	2.392
DF	GN18_typeA	2.299
EFG	G_8	1.452
F	GN37	1.272

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(E) Percent aborted ovules in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_12	3.591
ABCDEF	G_1	2.992
	UK06	2.494
	GN38	2.238
	G_10	2.175
	BS5_typeA	2.073
	G_21	1.997
	G_20	1.966
	GN16	1.926
	UK22	1.907
	G_11	1.894
	GN23	1.885
	JN13	1.854
	G_9	1.812
	JN22	1.800
	G_8	1.785
	JN29	1.783
	JN06	1.769
	JN24	1.731
	G_2	1.704
	CN02	1.666
	JN08	1.650
	GN45	1.636
	JN09	1.581
	JB01_typeC	1.576
	GN28	1.552
	GN55	1.515
	JN30_typeB	1.512

	JN33	1.477
	JJ01	1.470
	GN47	1.329
	G_13	1.269
	GN57	0.788
	JN19_typeA	0.709
	G_15	0.675
	G_6	0.000
	GN52	0.000
ABCEF	G_19	2.714
	BS02	2.225
	GN50	2.212
	GN51	2.135
	GN27	2.080
	JN10	1.683
	GN19	1.632
ABE	JN05	3.700
ABEF	GN46	2.217
AEF	JN25	2.615
	GN35	2.281
	GN39	2.231
BCD	JN15	1.152
BCDEF	GN37	0.788
CD	UK13	0.884
CDF	G_16	0.608
D	GN18_typeA	0.546

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(F) Seed efficiency (%) in 2020

Group	Clone	Mean
A	GN37	4.397
ABCDEFGH	UK06	4.255
	GN57	4.169
	G_8	4.096
	JN19_typeA	4.086
	GN27	4.079
	JN30_typeB	4.064
	JN09	4.038
	JN08	4.031
	G_13	4.030
	GN52	4.023
	GN23	4.010
	GN47	3.995
	GN35	3.986
	G_19	3.981
	GN39	3.973
	UK22	3.958
	G_20	3.950
	JN22	3.947
	JN33	3.936
	JN29	3.903
	GN46	3.881
	JN24	3.867
	G_2	3.853
	GN38	3.851
	GN28	3.849
	G_9	3.839
	G_15	3.809

	G_11	3.802
	GN50	3.777
	GN45	3.741
	G_1	3.647
ABCDFG	G_6	4.757
	JJ01	4.151
	BS02	4.125
	GN19	4.040
ABCFG	G_16	4.228
	GN16	4.217
	JB01_typeC	4.188
	JN06	4.165
ABFG	G_10	4.562
ACFG	UK13	4.183
	GN18_typeA	4.167
	GN55	4.155
AFG	GN51	4.235
AG	JN15	4.217
BCDEFGH	G_21	3.531
BCDEFH	CN02	3.674
BCDEH	JN13	3.759
	JN25	3.715
BDEH	JN10	3.775
CDEH	G_12	3.428
DH	BS5_typeA	3.426
EH	JN05	3.187

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(G) Aborted ovules in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_12	2.631
AB	JN05	2.732
ABCDE	G_1	2.058
	UK06	1.609
	BS5_typeA	1.473
	GN38	1.403
	G_20	1.386
	G_10	1.370
	GN27	1.349
	GN23	1.275
	GN50	1.269
	G_11	1.238
	JN22	1.222
	G_9	1.212
	JN13	1.206
	JN24	1.175
	GN16	1.164
	GN45	1.152
	JN06	1.143
	JN29	1.133
	G_21	1.127
	CN02	1.076
	G_8	1.069
	G_2	1.069
	JN08	1.028
	JB01_typeC	0.995
	JN33	0.864
	G_13	0.798

	GN47	0.693
	G_15	0.448
	JN19_typeA	0.347
	G_6	0.000
	GN52	0.000
ABCE	G_19	1.824
	BS02	1.514
	GN46	1.441
	GN51	1.427
	UK22	1.269
ABE	JN25	1.688
	GN35	1.502
	GN39	1.442
BCDE	JN10	1.043
	GN19	1.026
	JN09	1.000
	GN28	0.952
	GN55	0.945
	JJ01	0.889
	JN30_typeB	0.845
	GN57	0.499
CD	JN15	0.689
	UK13	0.547
CDE	GN37	0.462
	G_16	0.318
D	GN18_typeA	0.299

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(H) Developed seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN06	3.479
	UK22	3.475
ABCDEFGH	G_6	3.565
	GN47	3.481
	G_2	3.475
	UK06	3.383
	G_20	3.382
	GN38	3.373
	G_13	3.363
	GN52	3.350
	G_15	3.340
	G_21	3.333
	JN19_typeA	3.322
	JN33	3.309
	GN16	3.305
	G_11	3.303
	BS05_typeA	3.296
	JJ01	3.292
	GN19	3.233
	GN23	3.232
	JN22	3.229
	G_19	3.209
	JN30_typeB	3.200
	JN08	3.198
	GN18_typeA	3.197
	GN39	3.190
	G_8	3.091
	G_9	3.045

	G_1	3.012
	GN45	2.960
ABCDFGH	G_10	3.650
	GN57	3.472
	G_16	3.459
	JN13	3.331
	BS02	3.321
ABCFGH	GN37	3.422
	GN27	3.399
	JN24	3.361
	JN09	3.350
ABCFH	GN55	3.377
ABF	JB01_typeC	3.451
	UK13	3.393
ABFH	JN15	3.342
AF	GN51	3.449
	GN35	3.436
BCDEFGH	GN50	3.037
BCDEGH	GN46	3.115
	JN29	3.090
CDEG	GN28	3.050
CDEGH	CN02	2.972
DE	JN10	3.039
DEG	JN25	2.988
E	G_12	2.714
	JN05	2.606

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(I) Empty seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN13	2.497
ABCDEFGH	GN47	2.538
	GN57	2.148
	JN19_typeA	2.124
	G_16	1.946
	G_19	1.857
	JN25	1.736
	G_9	1.705
	GN45	1.701
	GN23	1.700
	GN52	1.666
	BS02	1.660
	JN30_typeB	1.647
	JN05	1.594
	CN02	1.564
	UK06	1.445
	G_12	1.384
	G_1	1.348
	G_10	1.269
	G_6	1.099
ABCDEFH	G_2	2.720
	G_15	2.447
	G_20	2.302
	JN33	2.214
	G_13	2.212
	GN27	2.055
	JN06	1.986
	GN50	1.963

	JB01_typeC	1.893
	GN51	1.834
	JN08	1.778
	JN22	1.727
ABCDFH	GN38	2.623
	G_11	2.369
	JN24	2.106
	JN09	1.986
	GN19	1.863
ABCFH	G_21	2.820
ABFH	BS05_typeA	2.654
ABH	UK22	2.418
AH	GN35	2.399
BCDEFG	GN28	1.663
	GN55	1.662
BCDEFGH	GN16	1.554
CDE	JN15	1.619
CDEFG	JJ01	1.492
CDEG	GN39	1.608
	JN10	1.598
	JN29	1.571
	GN46	1.548
DEG	UK13	1.480
	G_8	0.749
EG	GN18_typeA	1.235
G	GN37	0.731

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(J) Filled seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	GN37	3.364
ABC	G_10	3.558
ABCDEF	G_6	3.506
	UK06	3.258
	JB01_typeC	3.162
	GN57	3.156
	G_16	3.118
	GN16	3.110
	JJ01	3.098
	BS02	3.091
	GN18_typeA	3.046
	GN52	3.034
	GN27	3.019
	GN23	3.013
	GN47	3.006
	JN09	2.995
	UK22	2.984
	JN19_typeA	2.983
	G_13	2.963
	G_20	2.958
	JN22	2.945
	GN35	2.942
	JN24	2.930
	G_8	2.927
	G_19	2.920
	JN30_typeB	2.919
	JN08	2.915
	GN19	2.910

	GN39	2.896
	G_2	2.870
	JN33	2.862
	JN29	2.828
	G_15	2.828
	G_11	2.753
	GN38	2.751
	G_9	2.696
	G_1	2.671
	GN45	2.657
ABCE	JN06	3.173
ABCEF	GN55	3.114
ABE	UK13	3.197
	GN51	3.180
ABE	JN15	3.121
BCDEF	GN46	2.831
	JN13	2.767
	CN02	2.685
CDF	GN28	2.750
D	JN10	2.700
	JN25	2.600
	BS05_typeA	2.499
DEF	G_12	2.488
	G_21	2.471
DF	GN50	2.584
	JN05	2.259

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknow

Table A12. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Seed potential in 2021

Group	Clone	Mean
A	JN24	3.749
AB	GN47	3.768
ABCDEFGH	G_7	3.807
	GN38	3.709
	G_18	3.709
	G_3	3.709
	GN52	3.709
	G_21	3.709
	JN33	3.692
	G_15	3.684
	G_20	3.684
	G_1	3.676
	G_13	3.671
	G_9	3.660
	G_11	3.660
	JN19_typeA	3.650
	BS05_typeA	3.650
	G_10	3.644
	G_2	3.635
	G_8	3.611
	UK06	3.611
ABCDEFH	G_12	3.741
ABCDEH	UK13	3.687
ABCDH	JB01_typeC	3.701
	JN06	3.685
ABCH	JN13	3.700
ABH	GN37	3.738
BCDEFGH	CN02	3.674
	GN46	3.663
	JJ01	3.661

	JN05	3.660
	G_22	3.644
BCDEFH	JN15	3.672
CDEFG	GN55	3.654
	GN16	3.638
	JN29	3.638
	GN51	3.637
	GN27	3.630
	G_6	3.622
	GN45	3.611
	GN48	3.611
	Single	3.611
	G_16	3.611
	G_19	3.611
	GN50	3.611
CDEFGH	G_14	3.611
	GN57	3.611
DEFG	GN19	3.644
	JN22	3.639
	JN30_typeB	3.634
	JN08	3.631
	UK22	3.629
	JN25	3.626
EFG	GN39	3.625
	GN35	3.624
	GN18_typeA	3.621
	BS02	3.620
	GN23	3.617
FG	JN09	3.623
	GN28	3.619
G	JN10	3.615

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Percent developed seeds in 2021

Group	Clone	Mean
ABCDEFGHIJKLM	G_3	4.692
ABCDEFGHIJKLMN	G_13	4.440
	GN57	4.413
	G_18	4.318
	G_8	4.275
	G_7	4.237
	G_21	4.236
ABCDEFGHIKLM	UK06	4.755
	JN19_typeA	4.533
	GN45	4.511
	G_20	4.480
	JB01_typeC	4.465
	JN05	4.460
	G_16	4.452
	G_19	4.445
	G_6	4.439
ABCDEFGHKLM	GN47	4.548
ABCDEFGKLM	BS05_typeA	4.567
	GN27	4.501
	UK22	4.482
ABCDEFKLM	GN48	4.613
	G_22	4.568
ABCDEKLM	G_2	4.619
ABCDKLM	JN13	4.543
ABCL	G_10	4.766
ABDKL	GN51	4.581
	JN06	4.578
AK	BS02	4.656
AKL	GN35	4.633
BCDEFGHILM	UK13	4.459
BCDEFGHIM	GN16	4.444

	JN24	4.437
	JN09	4.428
	GN46	4.425
BCDEGM	JN22	4.462
CEFGHIM	GN19	4.419
DEFGHIJKMN	GN52	4.222
DEFGHIJM	G_11	4.365
DEFGHIJMN	Single	4.335
	GN38	4.278
	G_12	4.238
DEFGHIM	JN25	4.379
EFGHI	JN15	4.378
	JN08	4.367
	GN55	4.353
	JN29	4.349
	JN30_typeB	4.345
EFGHIJ	JJ01	4.311
EFGHIJMN	G_15	4.256
	G_14	4.197
EFGHIJN	GN37	4.297
	G_9	4.258
	JN33	4.250
FHIJ	GN39	4.302
GHIJN	CN02	4.269
	G_1	4.226
HIJN	GN23	4.265
IJN	GN50	4.188
JN	JN10	4.157
	GN18_typeA	4.132
N	GN28	4.087

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Percent filled seeds in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN18_typeA	4.303
AB	UK13	4.259
	JN30_typeB	4.255
	GN35	4.238
ABC	GN37	4.300
ABCDEFGHIJKL	G_7	4.164
	G_18	4.072
	UK06	3.722
	G_3	3.438
ABCDEFGHIKL	G_21	4.113
	G_2	3.950
	JN19_typeA	3.906
	BS05_typeA	3.788
ABCDEFGHKL	G_14	4.086
	G_15	4.050
	G_6	3.951
	G_20	3.906
	G_22	3.900
ABCDEFGKL	G_8	4.370
	G_10	4.294
	GN52	4.282
	GN57	4.239
	GN48	4.220
	GN45	4.159
	GN47	4.138
	GN50	4.129
	G_16	4.078
	G_1	4.057
	G_19	4.032
	GN51	4.020
	GN39	3.986

	GN23	3.956
	JB01_typeC	3.939
ABCDEGKL	G_9	4.187
	GN46	4.129
	GN16	4.072
	JN15	4.014
ABCDG	GN55	4.194
ABCDGK	JN06	4.127
ABCDGKL	BS02	4.113
	JN10	4.081
ABCG	GN28	4.182
BCDEFGHIJKL	Single	3.742
BCDEFGHIKL	G_11	3.834
BCDEFGHKL	JJ01	3.907
BCDEFGKL	JN22	3.972
	JN09	3.932
CDEFGHKL	JN24	3.872
DEFGHIJKL	JN33	3.726
DEFGHIKL	CN02	3.818
DEFHIKL	JN25	3.798
DEFHKL	JN13	3.849
	JN29	3.832
EFH	GN19	3.831
EFHIKL	UK22	3.775
	GN27	3.757
EFHL	JN08	3.799
FHIJ	JN05	3.614
HIJ	G_12	3.216
IJ	G_13	3.120
J	GN38	3.028

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Percent empty seeds in 2021

Group	Clone	Mean
A	JN05	4.106
AB	JN29	3.957
ABC	UK22	3.953
	JN13	3.901
	JN08	3.890
	GN19	3.840
ABCD	JN33	4.063
	GN27	4.000
	G_11	3.980
	JN25	3.908
	CN02	3.897
	JJ01	3.851
	JN24	3.849
ABCDE	G_12	4.262
	GN38	4.141
	G_6	3.864
	GN23	3.804
	JN09	3.764
	GN39	3.762
ABCDEF	BS05_typeA	3.993
	G_20	3.871
	JB01_typeC	3.755
	GN51	3.669
	JN15	3.638
ABCDEFG	G_13	4.130
	Single	3.923
	JN19_typeA	3.862
	BS02	3.603
	JN22	3.567
ABCDEFGH	G_2	3.881
	G_22	3.735

	G_15	3.681
	G_16	3.620
	GN16	3.574
	G_9	3.524
	GN50	3.516
	G_19	3.514
	G_1	3.506
ABCDEFGHI	G_3	4.259
	UK06	4.094
	G_18	3.764
	G_14	3.674
	G_7	3.629
	G_21	3.505
	GN47	3.464
	GN45	3.436
	GN57	3.342
	GN48	3.327
	G_10	3.121
	GN52	3.049
	G_8	3.006
BCDEFGH	JN10	3.485
	GN46	3.442
CDEFGH	GN28	3.440
	GN55	3.404
DEFGH	JN06	3.404
EFGH	GN35	3.293
FGHI	UK13	3.169
GHI	JN30_typeB	3.130
HI	GN37	2.943
I	GN18_typeA	2.666

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(E) Percent aborted ovules in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_22	1.281
AB	JN13	0.865
ABC	UK22	0.855
ABC	GN23	0.834
ABCDEF	G_14	1.044
	G_12	1.020
	G_9	0.973
	G_8	0.891
	G_15	0.847
	Single	0.810
	JN05	0.790
	GN38	0.779
	G_19	0.743
	CN02	0.606
	BS02	0.599
	G_10	0.594
	G_2	0.594
	GN16	0.586
	GN27	0.579
	G_11	0.569
	G_6	0.558
	GN28	0.541
	G_20	0.436
	GN57	0.372
	JN08	0.332
	BS05_typeA	0.321
	G_13	0.313
	JN30_typeB	0.280
	GN48	0.279
	GN51	0.272
	GN37	0.227

	JN33	0.222
	JN25	0.218
	GN47	0.188
	GN50	0.186
	G_16	0.160
	JN19_typeA	0.119
	G_3	0.000
	G_21	0.000
	GN52	0.000
	GN45	0.000
	G_18	0.000
	UK06	0.000
	G_7	0.000
ABCDF	GN39	0.631
	JN10	0.617
ABCF	JN29	0.766
	JN09	0.731
BCDEF	JN22	0.286
	GN35	0.255
	GN46	0.173
	JB01_typeC	0.171
	G_1	0.000
CDEF	JN06	0.166
	JJ01	0.086
DE	GN19	0.165
	UK13	0.033
	JN24	0.000
DEF	GN18_typeA	0.084
	GN55	0.074
E	JN15	0.066

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(F) Seed efficiency (%) in 2021

Group	Clone	Mean
A	GN35	4.256
AB	BS02	4.154
ABCD	G_10	4.445
ABCDEFGHIJK	GN57	4.038
	G_8	4.032
	G_2	3.955
	G_19	3.864
	G_22	3.853
	G_9	3.834
	JN19_typeA	3.825
	G_6	3.777
	G_20	3.772
ABCDEFGHIJKL	GN52	3.891
	BS05_typeA	3.741
	GN50	3.706
	G_15	3.694
	G_1	3.672
ABCDEFGHIJKLM	UK06	3.861
	G_7	3.788
	G_18	3.778
	G_21	3.738
	G_14	3.673
	G_3	3.514
ABCDEFGHJK	GN47	4.071
	GN45	4.056
	GN37	3.984
	G_16	3.917
	GN16	3.903
ABCDEFGJ	GN48	4.218
ABCDEFGJK	GN46	3.941
	GN55	3.934

ABCDEG	JN30_typeB	3.987
ABCDEGJ	GN51	3.987
ABCG	UK13	4.104
	JN06	4.090
BCDEFGHIJK	JB01_typeC	3.794
	JN13	3.778
BCDEFGHJK	GN18_typeA	3.823
	JN22	3.823
CDEFGHIJK	JN09	3.748
	JN24	3.696
CDEFGHIJKL	GN27	3.647
	G_11	3.588
CDEFGHJK	JN15	3.779
DEFHIJK	GN39	3.677
DEFHIJKL	UK22	3.645
EFGHIJKLM	Single	3.466
EFHIJK	GN28	3.658
EFHIJKL	GN23	3.612
	JJ01	3.608
	JN25	3.566
FHIJK	JN10	3.628
FHIJKL	JN29	3.571
FHIK	GN19	3.637
FHIKL	JN08	3.556
FHIKLM	JN05	3.467
HIKLM	JN33	3.366
HILM	CN02	3.480
ILM	G_13	3.015
LM	G_12	2.860
M	GN38	2.779

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A13. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2020 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Seed potential in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_1	3.741
	G_4	3.660
	G_5	3.659
	JB01_typeA	3.608
	JB01_typeC	3.593
AB	JN6	3.676
	G_9	3.611
	G_11	3.611
	BS02	3.611
	G_10	3.595
	G_2	3.592
	G_12	3.574
	UK08	3.573
	G_6	3.562
	JN12	3.557
	JN29	3.530
	JN30	3.530
	BS05	3.513
	JN01	3.498
	G_3	3.489
	JN10	3.489
	JN25	3.476
B	JN08	3.415

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Percent developed seeds in 2020

Group	Clone	Mean
AB	G_1	4.859
ABCDEF	UK08	4.624
	G_10	4.555
	G_9	4.490
	BS05	4.400
	JN6	4.389
	G_3	4.348
	G_4	4.284
	BS02	4.274
	JN25	4.164
	JN12	4.133
	JN29	3.947
ABCDF	JN30	4.784
	JN01	4.237
	G_5	4.197
ABCF	G_12	4.345
AC	JB01_typeC	4.459
BDF	JB01_typeA	4.230
CDEF	G_2	3.926
	G_11	3.556
DE	G_6	3.808
DEF	JN10	3.726
E	JN08	3.818

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Percent filled seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	2.277
AB	G_1	3.095
	G_3	3.008
	JB01_typeA	1.953
	G_5	1.826
ABC	JN29	2.901
	G_10	2.272
	G_4	2.071
	JN30	1.960
	G_2	1.836
	G_6	1.781
	JN25	1.729
	JN6	1.728
	UK08	1.412
	G_9	1.297
	JN12	1.286
	JN10	0.488
	BS05	0.304
	G_11	0.000
	BS02	0.000
BC	JN08	1.301
	G_12	1.262
C	JN01	0.641

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Percent empty seeds in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_11	4.615
	BS02	4.615
	BS05	4.608
	JN01	4.589
	JN10	4.583
	G_9	4.562
	UK08	4.562
	JN12	4.548
	G_2	4.542
	JN30	4.539
	G_12	4.522
	G_10	4.521
	JN6	4.507
	JN25	4.505
	G_4	4.477
	JN08	4.470
	G_5	4.439
	JB01_typeA	4.429
	JN29	4.425
	G_6	4.425
	JB01_typeC	4.387
	G_3	4.355
	G_1	4.340

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(E) Percent aborted ovules in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_6	3.933
AB	G_5	3.367
	JB01_typeA	3.330
	JN08	3.317
ABC	G_11	4.441
	JN29	3.835
	JN10	3.666
	G_2	3.568
	BS02	3.525
	JN12	3.499
	BS05	3.415
	JN25	3.334
	G_3	3.236
	G_4	3.099
	UK08	2.923
	G_10	2.849
	G_1	2.832
	JN6	2.816
	JN30	2.711
	G_9	2.453
BC	JB01_typeC	3.017
	G_12	2.781
C	JN01	2.441

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(F) Seed efficiency (%) in 2020

Group	Clone	Mean
A	G_1	3.329
ABCD	JN29	2.283
	G_10	2.223
	JN30	2.095
	G_4	1.900
	JN6	1.635
	G_5	1.525
	UK08	1.458
	JN25	1.392
	G_6	1.391
	G_2	1.367
	G_9	1.188
	JN12	1.160
ABD	G_3	2.766
	JB01_typeA	1.733
AD	JB01_typeC	2.198
BC	G_12	1.091
	JN08	1.029
	JN10	0.410
BCD	BS05	0.266
	G_11	0.000
	BS02	0.000
C	JN01	0.583

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(G) Filled seed weight in 2020

Group	Clone	Mean
A	JN12	0.533
AB	JN6	0.519
ABC	G_1	0.452
ABCD	BS02	0.402
	G_6	0.345
	G_3	0.317
	G_4	0.317
	JN10	0.314
	BS05	0.307
	G_9	0.247
	UK08	0.236
BCD	G_12	0.316
	G_11	0.179
CD	JB01_typeA	0.273
	JB01_typeC	0.268
	JN08	0.240
	JN01	0.213
	G_2	0.170
	G_10	0.146
D	G_5	0.201

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A14. Multiple comparison of seed characteristics at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021 by post-hoc Tukey-HSD test ($p < 0.05$)

(A) Seed potential in 2021

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeA	3.662
	JB01_typeC	3.660
AB	UK08	3.741
	G_1	3.709
	JN12	3.660
	G_5	3.658
	G_11	3.645
	JN30	3.645
	JN25	3.624
	JN08	3.620
	G_10	3.611
	JN6	3.611
	JN10	3.611
	G_2	3.603
	G_4	3.601
	G_9	3.573
	BS05	3.569
	G_3	3.541
	G_12	3.530
B	JN01	3.564
	G_6	3.552

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(B) Percent developed seeds in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_1	4.806
	JB01_typeC	4.647
AB	G_4	4.613
ABC	G_10	4.736
	JN30	4.674
	UK08	4.645
	JN6	4.645
	G_11	4.639
	G_3	4.631
	BS05	4.519
	G_12	4.513
	JN12	4.503
	G_5	4.494
	G_2	4.490
	G_9	4.472
	G_6	4.432
	JN10	4.367
BC	JN08	4.404
	JB01_typeA	4.404
	JN25	4.359
C	JN01	4.321

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(C) Percent filled seeds in 2021

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	3.441
AB	JB01_typeA	3.122
ABC	G_9	3.832
	G_2	3.696
	G_11	3.552
	G_1	3.548
	UK08	3.416
	JN10	3.355
	G_12	3.229
	JN25	3.208
	JN30	3.050
	G_10	2.941
	G_3	2.922
	BS05	2.890
	G_6	2.662
	JN6	2.562
	JN12	2.419
BC	JN08	2.821
	JN01	2.478
	G_4	2.327
C	G_5	2.170

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(D) Percent empty seeds in 2021

Group	Clone	Mean
A	JN12	4.477
	G_4	4.455
	G_5	4.453
	G_6	4.446
	JN6	4.412
	BS05	4.409
	G_10	4.405
	JN30	4.392
	G_3	4.333
	JN10	4.277
	UK08	4.269
	G_12	4.261
	JN25	4.248
	JN01	4.233
	G_11	4.183
	JN08	4.155
	G_1	4.149
	JB01_typeA	4.146
	G_2	4.064
	G_9	4.017
	JB01_typeC	3.998

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(E) Percent aborted ovules in 2021

Group	Clone	Mean
A	BS05	2.430
	JN6	1.963
	G_4	1.692
	JN10	1.631
	JN12	1.408
	G_3	1.358
	JB01_typeA	1.097
	G_5	1.065
	G_6	0.926
	G_2	0.905
	JN08	0.802
	G_1	0.786
	JB01_typeC	0.659
	JN25	0.554
	JN01	0.529
	G_9	0.472
	G_12	0.222
	G_10	0.000
	G_11	0.000
	UK08	0.000
	JN30	0.000

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(F) Seed efficiency (%) in 2021

Group	Clone	Mean
A	JB01_typeC	3.473
AB	G_1	3.738
ABC	G_9	3.691
	G_11	3.575
	G_2	3.574
	UK08	3.446
	G_12	3.142
	JN10	3.114
	JN30	3.107
	G_10	3.057
	JN25	2.967
	G_3	2.935
	BS05	2.796
	JN6	2.585
BC	JB01_typeA	2.934
	JN08	2.641
	G_6	2.495
	G_4	2.331
	JN12	2.316
	JN01	2.227
C	G_5	2.093

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

(G) Filled seed weight in 2021

Group	Clone	Mean
A	G_1	0.050
AB	JB01_typeC	0.033
ABC	G_11	0.029
	JB01_typeA	0.024
	UK08	0.024
	G_9	0.019
	JN30	0.019
	G_12	0.018
	G_2	0.018
	G_3	0.017
	JN10	0.016
	JN6	0.014
	BS05	0.013
	G_10	0.011
BC	JN25	0.014
C	JN08	0.012
	JN01	0.012
	G_4	0.011
	G_5	0.010
	G_6	0.007
	JN12	0.007

BS, Busan, Korea; G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A15. Seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Gochang, Korea in 2021

Clone	Ramet	Total seeds	GP (%)
BS02	11	175	5.30
BS05_typeA	3	37	4.11
CN02	5	73	4.87
G_10	1	12	4.00
G_16	1	8	2.67
GN16	2	48	8.00
GN18_typeA	2	14	2.33
GN19	21	389	6.17
GN23	2	24	4.00
GN28	4	9	0.75
GN35	2	15	2.50
GN37	2	24	4.00
GN39	4	41	3.42
GN46	2	60	10.00
GN47	2	20	3.33
GN50	3	64	7.11
GN51	2	57	9.50
GN55	4	35	2.92
JB01_typeC	6	177	9.83
JB01C	1	21	7.00
JJ01	9	203	7.52
JN06	16	382	7.96
JN08	6	66	3.67
JN09	4	48	4.00
JN10	3	20	2.22
JN13	4	48	4.00
JN15	8	69	2.88
JN19_typeA	1	32	10.67
JN22	4	86	7.17
JN24	3	58	6.44
JN29	4	33	2.75
JN30_typeB	3	24	2.67
JN30B	1	8	2.67
Unknown 13	1	7	2.33
Mean	4.32	70.21	4.96

BS, Busan, Korea; CN, Chungnam, Korea; G, genotype group; GN, Gyeongnam, Korea; JB, Jeonbuk, Korea; JJ, Jeju, Korea; JN, Jeonnam, Korea; UK, unknown

Table A16. Seed germination rate at the seed orchard of *C. obtusa* in Seogwipo, Korea in 2021

Clone	Ramet	Total seeds	GP (%)
G_5	2	12	2.00
JN01	2	25	4.17
JN08	2	3	0.50
JB01_typeA	3	22	2.44
JB01_typeC	4	22	1.83
Single1	1	32	10.67
Single2	1	1	0.33
Mean	2.14	16.71	3.13

G, genotype group; JB, Jeonbuk, Korea; JN, Jeonnam, Korea

Abstract

Clonal Fertility Variation and Genetic Characteristics at the Seed Orchards of *Chamaecyparis obtusa* in Gochang and Seogwipo, Korea

Ji-Min Park
Major in Forest Environmental Sciences
Department of Agriculture, Forestry, and Bioresources
The Graduate School of Seoul National University

Chamaecyparis obtusa is a major tree species for wood production in Korea. It is straight and light and is used for interior and ship materials. It also has a scent and gloss, so widely used as a park or garden tree. In addition, it has various functional substances such as oil extracted from wood and fragrances extracted from cones. Therefore, it has recently been spotlighted as a preferred tree for afforestation, and planting is being attempted in various parts the country. *C. obtusa* is the most well-known species that can live in

warm temperate zones, but the survival rate of planted trees tends to decrease significantly with climate. Therefore, it is urgent to supply excellent seeds and seedlings that can adapt to various climates. Seed orchards, the basis of forest tree breeding, are established to produce stably and supply genetically improved seeds. Genetic improvement refers to maximizing the characteristics and genetic structures of plus trees to be improved by transferring it on to the next generation (seed). By estimating the production capacity and contribution among clones and analyzing the genetic characteristics involved in the seed production process, the quality of seed orchard seeds can be proved and effective seed management methods can be suggested. This study was conducted to quantify some reproductive traits of *C. obtusa*. Over the past three years (2020~2022), the reproductive characteristics of 61 and 23 clones were surveyed in the seed orchards at Gochang and Seogwipo, Korea. The seed orchards were established in 2015 and 1969, respectively. In this study, the clonal contributions of male and female strobilus, and cone productions were estimated. It has been clearly shown that female and male parents contributed unequally to the gamete gene pool. Among the 61 clones at the seed orchard of Gochang, 12 to 15

clones (20 to 25% of the total) and 6 to 9 clones (10 to 15% of the total) produced 50% female and male strobili, respectively. The effective population numbers of female and male strobilus ranged from 23.64 (2021) to 37.38 (2022) and from 15.52 (2021) to 19.84 (2022) at gamete level, respectively. The effective population numbers at zygote (cone) level ranged from 20.15 (2022) to 35.94 (2021). Among the 23 clones at the seed orchard of Seogwipo, 1 to 5 clones (5 to 21% of the total) and 1 to 3 clones (5 to 15% of the total) produced 50% female and male strobili, respectively. Compared with the previous reports of other species, fewer clones contributed to the reproductive process in the seed orchards of *C. obtusa*. The effective population numbers of female and male strobilus ranged from 6.4 (2021) to 15.45 (2022) and from 4.32 (2021) to 9.58 (2022) at gamete level, respectively. The effective population numbers at zygote (cone) level ranged from 7.3 (2020) to 10.71 (2021), compared with the gamete level, more clones had contributed to reproductive process in the Seogwipo seed orchards. The individual heritabilities of female and male strobilus, and cone production ranged from 0.150 (2022) to 0.306 (2021), from 0.161 (2020) to 0.326 (2021), from 0.013 (2022) to 0.133 (2020),

respectively in the seed orchard of Gochang. At the seed orchard of Seogwipo, the individual heritabilities of female and male strobilus, and cone production were estimated from 0.086 (2022) to 0.297 (2021), from 0.077 (2021) to 0.489 (2020), from 0.156 (2022) to 0.408 (2021), respectively. In both seed orchards, the clonal heritabilities were estimated to be higher than the individual heritabilities. The strobilus and cone production were positively correlated and statistically significant, except for the male strobilus and cone production at the seed orchard of Seogwipo in 2020. A total of 10 cones were collected per each individual tree for cone analysis over two consecutive years (2020~2021). At the seed orchard of Gochang, the cones were analyzed to have 72.69% full-filled seeds, and 27.30% empty seeds, and 11.57% aborted ovules, so the seed efficiency was estimated to be 57.96% in 2020. In 2021, the cone had 56.43% full-filled seeds, and the 43.57% empty seeds, showing similar proportions of the full-filled seeds and empty seeds. The seed efficiency was estimated to be 46.98% that was slightly lower than in 2020. The germination rate per cone was very low with an average of 5.09%. The cones had 9.46% full-filled seeds, 90.54% empty seeds, and 33.06% aborted ovules. The seed efficiency was

estimated to be 7.51% in 2020. In 2021, the cones had 25.77% full-filled seeds, 73.23% empty seeds, and 3.33% aborted ovules. Seed efficiency was higher than that in 2020, but the amount of full-filled seeds was lower. The average germination rate per clone was very low at 3.13%, which was similar to that of the seed orchard of Gochang. Parameters of the mating system and pollen flow were estimated using eleven nuclear microsatellite markers. At the seed orchard of Gochang, the expected heterozygosity (H_e) and the observed heterozygosity (H_o) were 0.740 and 0.796, respectively, in mother trees. The H_e and H_o were 0.702 and 0.765, respectively in seeds. Fixation indices (*F*) were −0.062 and −0.087 in mother trees and seeds, respectively. At the seed orchard of Seogwipo, the H_e and H_o were 0.683 and 0.667 in mother trees, and those were 0.704 and 0.826 in seeds, respectively. Fixation indices (*F*) were 0.037 in mother trees and −0.084 in seeds. From the analysis using MLTR, the outcrossing rate (t_m), the biparental inbreeding (t_m-t_s), and the correlation of paternity (r_p) were estimated to be 0.982, 0.028, and 0.172, respectively, at the seed orchard of Gochang. These values were similar to those analyzed using microsatellite markers in other *Pinus* species. At the seed orchard of Seogwipo, the t_m, the (t_m-t_s),

and the r_p were 1.000, 0.059, and 0.064, respectively. From the analysis using CERVUS, the averages of outcrossing rate, pollen contamination rate, and selfing rate were estimated to be 94.21, 1.1, and 4.69%, respectively. The average number of pollen donors was 11.1 at the seed orchard of Gochang. The averages of outcrossing rate and selfing rate were 95.14 and 4.86%, respectively, at the seed orchard of Seogwipo. The average number of pollen donors was 10.8. Using TwoGener model for optimal pollen dispersal with the effective density of 130 trees per ha, the genetic differentiation level in pollen pool structure was estimated to be 0.134 at the seed orchard of Gochang. The average radial distance of pollen flow was calculated as 5.58 m. At the seed orchard of Seogwipo, the genetic differentiation level in pollen pool structure was estimated to be 0.330 with the effective density of 125 trees per ha. The average radial distance of pollen flow was calculated as 3.89 m. As the effective pollen dispersal in the population might be restricted, the amount of genetic variation could be maintained in each generation without loss of genetic diversity caused by selfing or inbreeding in seedlings at the seed orchard of Gochang and Seogwipo. The genetic diversity of pollen pool might be high at the seed orchard of Seogwipo,

but the number of pollen donors at the seed orchard of Gochang were similar in the natural populations. Therefore, pollen donors should be managed to increase genetic diversity under completely random mating conditions at the seed orchard of Gochang.

Keywords: *Chamaecyparis obtusa*, cone analysis, fertility variation, gene diversity, mating system, pollen contamination
Student number: 2017-34070