

SSR 마커를 이용한 국내산 인삼 품종 및 국외 수집종의 유전적 다양성 분석
국립원예특작과학원 인삼특작부 : 방경환*, 조익현, 김영창, 서아연, 김옥태, 현동윤,
김동휘, 차선우

**Analysis of Genetic Polymorphism of Korean Ginseng Cultivars
and Foreign Accessions using SSR Markers**

Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA : Kyong-Hwan Bang*, Ick-Hyun Jo,
Young-Chang Kim, A-Yeon Seo, Ok-Tae Kim, Dong-Yun Hyun, Dong-Hwi Kim, Seon-Woo Cha

실험목적

국내·외에서 다양한 유전자원을 수집하고, 이들 유전자원을 식물학적 분류, 외부 형태적 특성 및 유전학적인 평가를 통해 우수한 형질을 선발하는 것은 육종의 효율을 높이기 위해 매우 중요한 일이다 따라서 본 연구는 SSR 마커를 이용하여 국내·외에서 수집되어 재배중인 유전자원에 대한 유전적 다양성을 평가하고, 국내 육성 품종 판별에 대한 가능성을 검토하여 궁극적으로 과학적인 종자관리 체계를 구축하고자 수행하였다.

재료 및 방법

o 실험재료

- 고려인삼 품종 : 천풍, 연풍, 고풍, 금풍, 선풍의 5품종(*Panax ginseng* C. A. Meyer)
- 국외 수집종 : 중국, 러시아, 일본, 미국 수집종(*P. ginseng* C. A. Meyer, *P. quinquefolius* L.)

o DNA 추출

- Genomic DNA를 확보하기 위하여 3년생 잎을 채취하여 세척한 후 액체질소로 급냉시켜 막자사발을 이용하여 분말상태가 되도록 마쇄
- DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany)을 이용하여 Protocol에 따라 DNA추출
- 추출된 DNA는 BioSpec-nano (Shimadzu, Japen)를 이용하여 인삼 DNA의 quality 및 quantity를 확인하였고, PCR 반응을 위해서 DNA 농도를 20ng/ μ l로 정량 후 사용

o SSR 및 유전자형 분석

- Ma 등 (2007)이 발표한 논문에서 polymorphic information content (PIC) 값이 높고 allele 수가 많은 9개 SSR 마커를 선발하여 분석에 사용하였으며, PCR 반응을 위해서 Schuelke (2000)의 방법을 변형하여 수행
- 유전자형 분석은 Genemapper 4.0(ABI PRIZM Applied Biosystems)을 이용
- 마커에 대한 number of allele(N_A), major allele frequency(M_{AF}), gene diversity(GD) 및 polymorphic information content(PIC)에 대한 분석은 PowerMarker(ver 3.25)를 이용
- 계통분류학적 분석은 PowerMarker에 포함되어 있는 CS Chord 1967 distance를 이용하여 각각의 품종 및 국외 수집종에 대한 유전적 거리를 분석 후 UPGMA 방법을 이용하여 phylogenetic tree를 작성
- SSR 마커를 이용하여 국내산 인삼 품종 및 국외 수집종에 대한 구분성 여부를 검정하기 위하여 GB-PG-142 등 4개의 마커를 이용하여 4단계로 분석

교신저자 연락처 (Corresponding author) : 방경환 E-mail : bang31@Korea.kr. Tel : 043-871-5534

실험결과

- 9개의 SSR 마커를 이용하여 천풍, 연풍, 고풍, 금풍, 선풍의 국내산 5품종과 중국, 러시아, 일본, 미국에서 수집하여 재배중인 12종에 대하여 유전적 다양성을 분석한 결과, 총 39개의 allele가 관찰되었으며, allele 수는 2개 (GB-PG-078)에서 8개 (GB-PG-142)로 나타났고, 평균 allele 수는 4.3개였음
- 각 원산지별로 집단 내에 존재하는 특이적 allele는 본 연구에 사용된 9개의 마커 중 5개의 마커에서 관찰되었는데, 이들 마커에서 총 11개의 특이적인 allele가 관찰되었음
- 특이적인 allele 수는 국내산과 미국산에서 4개, 중국산이 2개, 일본산에서 1개 순으로 나타났으며, 마커별로는 GB-PG-142에서 4개로 가장 높게 나타났고 GB-PG-065에서 1개로 가장 낮았음
- 4개 SSR 마커(GB-PG-026, GB-PG-043, GB-PG-142, GB-PG-177)로 국내산 5품종과 중국산, 러시아산, 일본산 및 미국산의 국외 수집 12종 판별 가능

Table 1. Characterization of nine SSR markers used in this study.

Marker	Size range(bp)	N _A [†]	M _{AF} [‡]	H _O [§]	H _E	PIC [#]
GB-PG-007	195-255	5	0.41	0.94	0.71	0.64
GB-PG-026	126-195	6	0.59	0.35	0.61	0.54
GB-PG-043	108-250	5	0.50	0.88	0.68	0.61
GB-PG-060	181-196	3	0.47	0.94	0.63	0.53
GB-PG-065	154-172	4	0.41	0.76	0.73	0.65
GB-PG-078	270-282	2	0.88	0.24	0.21	0.19
GB-PG-131	217-223	3	0.38	0.76	0.67	0.58
GB-PG-142	180-279	8	0.38	1.00	0.76	0.70
GB-PG-177	157-259	3	0.50	0.75	0.64	0.54
Mean		4.3	0.502	0.736	0.627	0.553

[†] : Number of allele

[‡] : Major allele frequency

[§] : Observed heterozygosity

[¶] : Expected heterozygosity

[#] : Polymorphic information content

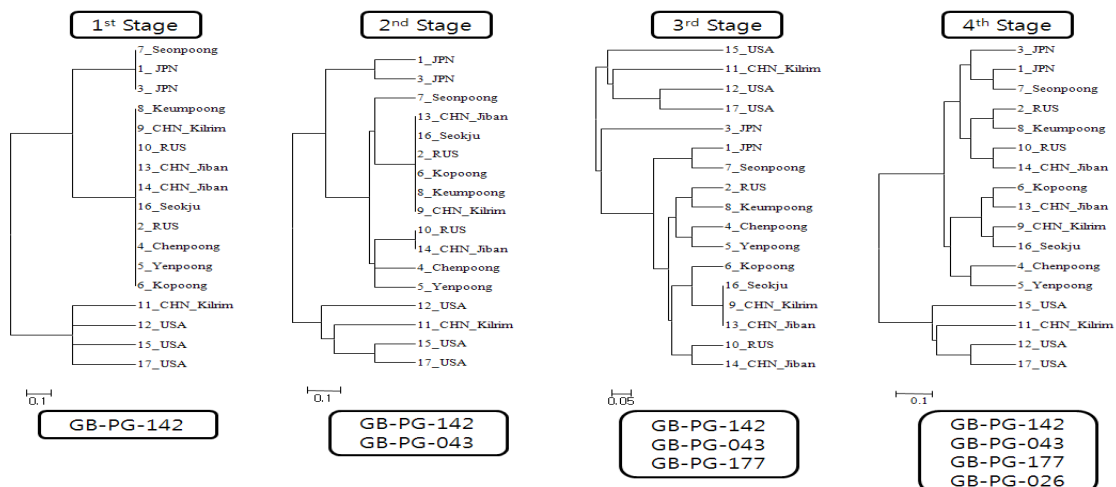


Fig. 1. Diagrammatic display of cultivar discrimination by UPGMA phylogenetic trees using 17 ginseng accessions at each stage by four SSR markers.