

RAPD를 이용한 고려인삼 육성계통의 유전적 다양성 분석

김진희* · 육진아* · 차선경* · 김현호** · 성봉재** · 김선익** · 최재을*†

*충남대학교 농업생명과학대학 식물자원학부, **금산군농업기술센터

Genetic variation in pure lines of *Panax ginseng* based on by RAPD analysis

Jin Hee Kim*, Jin Ah Yuk*, Sun Kyung Cha*, Hyun Ho Kim**
Bong Jae Seong**, Sun Ick Kim**, Jae Eul Choi*†

*College of Agric. & Life Sciences, Div. of Plant Resources, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

**Kumsan Agricultural Development & Technology Center

ABSTRACT : This experiment was conducted to evaluate the diversity and purity of the Korean ginseng (*Panax ginseng*) lines developed by the pure line selection using RAPD markers. Four primer (OPA 19, OPM 11, URP 3 and UBC 98) out of the 48 primer tested produced band which showed within-line polymorphisms at least in one line. Within-line polymorphisms were detected in six lines by OPA 19, in four lines by URP 03, in five lines by OPM 11, and in one line by UBC 98 respectively. Five plants obtained from the commercial cultivar "Cheonpung" were differentiated using the primers OPA 19 and OPM 11. Five plants obtained from the "Yeonpung" were differentiated using the primer OPM 11. Detection of within-line RAPD polymorphisms might be attributed to the fact that cross pollination appear in *P. ginseng* and a long period of three to four years required to reach the reproductive stage thereby delay the process to homozygosity.

緒 言

高麗人蔘 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오가과 인삼 속에 속하는 다년생 식물로 세계적으로 중요한 약용작물 중의 하나이다. 우리나라 농가에서 재배되고 있는 재배종 인삼은 자경종으로 초장, 경직경, 잎의 형태, 줄기, 잎자루 및 열매의 색깔, 개화기, 뿌리의 형태 등에 변이가 있는 흔계이다. 그러나 인삼은 형태가 단순하고 초장, 경직경 및 뿌리의 형질은 환경변이가 클 뿐만 아니라 뿌리를 수확하는 작물이므로 채굴하기 전에는 뿌리의 형태나 크기를 알 수가 없어 우량개체나 계통의 선발이 어렵다.

입모상태에서 우수성을 검정하는 방법의 하나로 수량구성 형질과 관련지어 형질간 상관관계를 해석하여 있으나

(Ahn et al, 1985), 같은 포장에서도 재식위치에 따라 수광량, 통기성, 습도가 다르고, 재배지역에 따라 강우량, 온도, 지하수위, 토성 및 비옥도 등의 차이가 심하여 개체선발이 용이하지 않는 작물이다.

환경변이에 따른 선발 오차를 줄이고 인삼의 유전적 특성에 의한 우량식물체의 선발은 최근에 널리 사용되고 있는 분자생물학적인 분석법을 이용할 수 있다. 그 중에서 RAPD 분석법은 이미 유전자원의 평가(Yu et al, 1994), 양적 유전 형질 분석(Michelmore et al, 1991), 유용 유전 형질을 탐지할 수 있는 표지인자 개발(Rawland et al, 1994; Song et al, 2001), 유전자 연관지도 작성(Oelzel & Green, 1992), 유연관계 비교 및 감별(Doyle et al, 1990; Zhu 등, 1995) 등에 이용되고 있다.

† Corresponding author(phone) : Jae Eul Choi , E-mail : choije@cnu.ac.kr

Received 3 March 2003 / Accepted 5 June 2003

인삼에서의 RAPD분석은 Lim et al, (1993)이 RAPD의 polymorphic band를 이용하여 변종간 또는 변종내 유연관계를 비교하여 RAPD가 품종간의 분류를 쉽게 할 수 있음을 시사했고, Bai et al. (1997)은 RAPD분석으로 Ontario에서 재배중인 미국 인삼내에서의 유전적 다양성을 통해 두 개의 계통임을 밝혀내고, 이를 통해 품종개량의 가능성을 시사하였다.

본 연구는 순계선발법을 이용하여 육성중인 인삼 계통을 공시하여 RAPD에 의한 다양성을 검정하여 우량계통선발법으로 활용하기 위하여 실시하였다.

材料 및 方法

1. 시험 재료

본 실험에서 사용된 인삼은 재래 인삼 집단으로부터 순계선발법을 이용하여 금산군농업기술센터 포장에서 육성중인 8계통과 인삼연초연구원에서 육성한 천풍과 연풍의 잎과 종자를 농가포장에서 채취하여 사용하였다.

2. DNA의 분리

인삼의 잎과 종자에서 McCouch et al. (1988)의 방법을 변형하여 DNA를 분리하였다. 인삼의 잎과 종자를 액체질소와 함께 유발에 넣어 마쇄하고, extraction buffer[1 M Tris(pH 8.0), 5 M NaCl, 0.5 M EDTA]와 20% SDS를 첨가하여 65°C water bath에서 10분간 반응시킨 후 5 M potassium acetate를 첨가하였다. 이 용액을 -20°C에서 20분간 방치시킨 다음, phenol : chloroform : isopropanol = 25 : 24 : 1을 첨가하여 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액에 RNase A (10mg/ml, DNase-free) 5μl를 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 2차로 phenol : chloroform : isopropanol = 25 : 24 : 1을 첨가하여 12,000rpm에서 원심 한 후 동량의 chloroform을 넣어 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 isopropanol을 첨가하여 -80°C에 30분 넣어 둔 다음 원심하여 DNA가 침전되면 상층액을 버리고 ethanol로 불순물을 제거하였다. DNA는 TE (100 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0) buffer로 녹였다. DNA추출상태는 1.2% agarose gel에서 전기영동 하여 UV(260 nm)하에서 관찰하였고, DNA의 양은 Lambda(λ) DNA를 일련의 농도로 배열하여 ethidium bromide로 직접 염색하여 측정하였다.

3. PCR조건

DNA증폭을 위하여 50 ng의 genomic DNA, 2.5 mM의 dNTP, 500 pmole, 10× buffer ($MgCl_2$ 2.5 mM), Taq polymerase (5 u/μl, Takara Japan), dH₂O를 첨가하여 한

sample당 총 반응액을 30 μl로 하였다. PCR 반응은 MJ Research 200기기를 사용하였다.

PCR의 thermal cycle은 처음 94°C에서 4분간 incubation 한 후 denaturation 94°C 1분, annealing 55°C 1분 (primer 제조회사 별 권장온도), extention 72°C 1분 35 cycle. 그리고, 72°C 10분으로 최종 incubation 하였다. 증폭된 DNA는 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 UV상에서 사진 촬영하였다.

4. Primer

Primer는 20-mer인 URP 12종과 10-mer인 OPA 20종, OPD, OPM 각각 1종, UBC 14종을 사용하였다.

Table 1. Selected random primers, which produced polymorphic DNA bands from Korean ginseng lines and cultivars

Primer No.	Nucleotide sequence (5' – 3')
URP03	5' – GTGTGCGATCAGTTGCTGGG – 3'
OPA19	5' – CAAACGTCGG – 3'
OPM11	5' – GTCCACTGTG – 3'
UBC98	5' – ATCCTGCCAG – 3'

URP (Seoul Scientific Co., Ltd)

OPA, OPD, OPM (Operon Technologies Inc.)

UBC (University of British Columbia in Canada)

결과 및 考察

1. Primer 선발

순계 선발법으로 육성 중인 9계통과 인삼연초연구원에서 육성한 천풍, 연풍 2 품종으로부터 채취한 59개의 종자 및 잎에서 추출된 DNA를 48개의 primer를 사용하여 증폭시킨 결과 재현성이 우수하고 각 식물체간에 다른 band 양상을 나타내는 primer OPA 19, OPM 11, URP 3, UBC 98를 선발하였다(Table 1).

2. 순계선발법에 의해 육성된 인삼 계통의 다양성

GG9712 계통의 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPA 19를 사용하여 증폭시킨 결과 1, 3번의 개체에서는 약 1,800bp 크기의 band가 나타났으나, 2, 4번 개체에서는 이 band가 나타나지 않았다. primer OPM 11을 사용하여 증폭시킨 경우 1과 3번 개체에서는 850bp 크기에서 band가 나타났으나 2와 4번 개체에서는 나타나지 않았으며 730bp 크기에서는 2와 3번 개체에서는 band가 나타났으나 1과 4번 개체에서는 나타나지 않아 개체간의 다양성을 보였다(Fig. 1, Table 2).

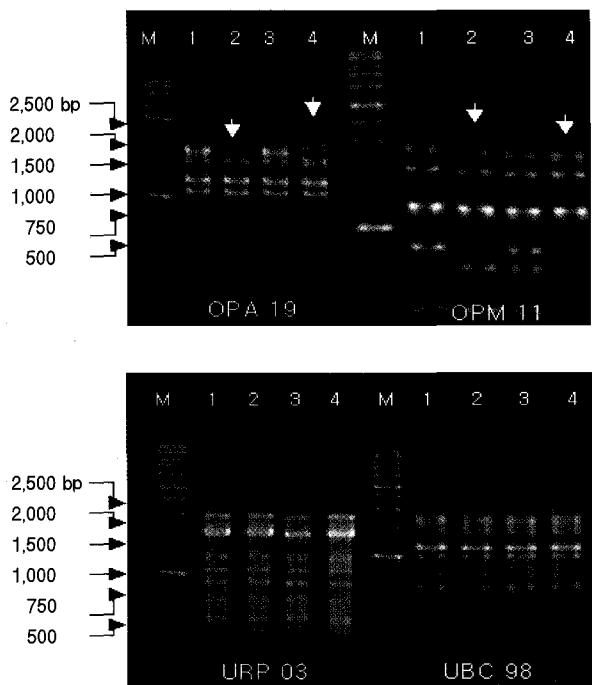


Fig. 1. RAPD profiles obtained from leaves of 4 individual plants from the pure line GG9712. Lane M: Molecular marker (1kb ladder), 1~4 : individual plants.

GG9719 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPA 19로 증폭시킨 결과 2, 5번의 개체에서는 약 1,800bp 크기의 band가 증폭되었으나, 1, 3 및 4번 개체에서는 이 band가 증폭되지 않았다. primer OPM 11을 사용하여 증폭한 경우 3, 5번 개체에서는 850bp에서 band가 나타났으나 1, 2와 4번 개체에서는 band가 나타나지 않았다 (Table 2).

GG9723 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPM 11로 증폭한 결과 1번 개체에서는 1,300, 850, 750bp band가 나타났으나 나머지개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다(Table 2).

GG9724 계통 5개체 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPM 11로 증폭한 경우 3번 개체에서는 710bp 크기의 band가 나타났으나, 1, 2, 4 및 5번 개체에서는 이 band가 나타나지 않았다. primer OPA 19를 사용한 경우 1, 2, 4 및 5번 개체에서는 약 1,100bp 크기의 band가 나타났으나, 3번 개체에서는 이 크기의 band가 발현되지 않았고, 또한 1,800bp 크기에서 3, 4 및 5번 개체에서는 band가 나타났으나 1과 2번 개체에서는 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다(Table 2).

GG9729 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPA 19로 증폭한 결과 2, 3, 4 및 5번 개체에서는 약 1,600bp

크기의 band가 나타났으나 1번 개체에서는 이 크기의 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다. Primer OPM 11을 사용하여 증폭한 결과 2, 3, 4 및 5번 개체에서는 약 850bp 크기의 band가 나타났으나, 1번 개체에서는 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다(Table 2).

GG9741 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPA 19로 증폭한 결과 1, 2, 3 및 4번 개체에서는 1,800bp 크기의 band가 나타났으나, 5번 개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다.

GG9743 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPM 11로 증폭한 결과 4번 개체에서는 850bp 크기의 band가 발현되었으나 1, 2, 3 및 5번 개체에서는 이 band가 나타나지 않았다. 또한, 1, 4번 개체는 730bp의 band가 나타났으나 2, 3, 4개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다(Table 2).

GG9758 계통 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPM 11로 증폭한 결과 4, 5번 개체에서는 약 730bp 크기의 band가 나타났으나, 1, 2 및 3번 개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간의 다형성을 보였다(Table 2).

이상과 같이 GG9712계통과 GG9719 계통은 primer OPA 19, OPM 11로, GG9723 계통은 OPM 11로, GG9724 계통은 OPM 11과 OPA 19, GG9729 계통은 OPM 11과 OPA 19, GG9741 계통은 OPA 19, GG9743 계통은 OPM 11, GG9758 계통은 OPM 11을 사용한 경우 개체간의 RAPD 다형성을 확인할 수 있었다.

그림 2에서 보는 바와 같이 GG9723 계통의 동일한 개체에서 수확한 3립의 종자에서 분리한 DNA를 primer OPA 19로 증폭시킨 결과, 2, 3번의 종자는 약 750~1,800bp 크기의 band가 나타났으나, 다른 1립의 종자에서는 이 크기에 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다.

GG9724-1과 GG9724-2 개체에서 수확한 3립의 종자 DNA를 primer OPA 19로 증폭시킨 결과 2, 3번 종자는 1,500, 750bp의 band가 나타났으나, 1번 종자는 이 크기의 band가 나타났지 않아 종자간에 다형성을 보였다(Fig. 2, Table 2).

GG9743-1 개체에서 수확한 3립의 종자 DNA를 primer UBC 98로 증폭한 결과 1, 3번 종자는 1,300bp의 band가 나타났으나 2번 종자는 이 band가 나타나지 않았다. 또한, 1, 3번 종자는 750bp 크기의 band가 나타났으나, 2번 종자는 이 크기의 band가 나타나지 않아 종자간에 다양성이 나타났다. GG9743-2 개체에서 수확한 3립의 종자 DNA를 primer UBC 98로 증폭한 결과 1, 3번 종자는 1,300bp의 band가 나타났으나 2번 종자는 이 band가 나

Table 2. Survey of RAPD markers in leaves and seeds of 9 ginseng lines and two cultivars

Line and cultivar	RAPD marker(primer OPA 19, bp)						
Leaves	2,000	1800	1600	1300	1100	750	500
GG9712-1	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	-	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+
	-4	+	-	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9719-1	+	-	+	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+
	-3	+	-	+	+	+	+
	-4	+	-	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9724-1	+	-	+	+	+	+	+
	-2	+	-	+	+	+	+
	-3	+	+	+	-	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9729-1	+	+	-	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9741-1	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	-	+	+	+
Cheonpung-1	+	-	+	+	+	+	+
	-2	+	-	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+
	-5	+	-	+	+	+	+
Line and cultivar	RAPD marker(primer OPM 11, bp)						
Leaves	1,800	1,600	1,400	1,300	850	730	700
GG9712-1	+	+	+	+	+	-	+
	-2	+	+	+	-	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	-	-	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9719-1	+	+	+	-	-	+	+
	-2	+	+	-	+	+	+
	-3	+	+	+	-	+	+
	-4	+	+	-	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+
GG9723-1	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	+	-	-	-	+
	-3	+	+	-	-	-	+
	-4	+	+	-	-	-	+
	-5	+	+	-	-	-	+

Table 2. continued

Line and cultivar	RAPD marker(primer OPM 11, bp)							
Leaves	1,800	1,600	1,400	1,300	850	730	700	500
GG9724-1	+	+	+	+	+	-	+	+
	-2	+	+	+	+	-	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	-	+	+
	-5	+	+	+	+	-	+	+
GG9729-1	+	+	+	+	-	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+	+
GG9743-1	+	+	+	+	-	+	+	+
	-2	+	+	+	+	-	+	+
	-3	+	+	+	+	-	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	-	+	+
GG9758-1	+	+	+	+	+	-	+	+
	-2	+	+	+	+	-	+	+
	-3	+	+	+	+	-	+	+
	-4	+	+	+	+	+	+	+
	-5	+	+	+	+	+	+	+
Cheonpung-1	+	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	-	-	+	+
	-4	+	+	+	-	-	+	+
	-5	+	+	+	-	-	+	+
Yeonpung-1	+	+	+	+	+	-	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	-	+	+
	-4	+	+	+	+	-	+	+
	-5	+	+	+	+	-	+	+
Seed	RAPD marker(primer OPA 19, bp)							
	2,000	1,500	1,200	750	400			
GG9723-1-1	-	+	-	+	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+
GG9724-1-1	+	-	+	-	+	+	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+
GG9724-2-1	+	-	+	-	+	-	+	+
	-2	+	+	+	+	+	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	+
	primer UBC 98(bp)							
	1,800	1,500	1,300	1,000	800	750		
GG9743-1-1	+	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	+	-	+	+	-	-
	-3	+	+	+	+	+	+	+
GG9743-2-1	+	+	+	+	+	+	+	+
	-2	+	+	-	+	-	+	+
	-3	+	+	+	+	+	+	-

+ : presence, - : absence

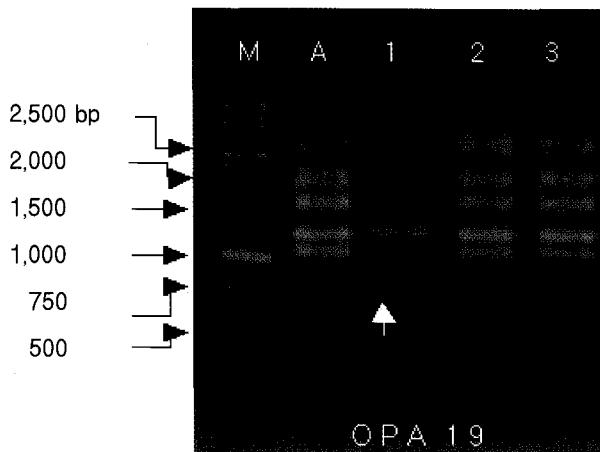


Fig. 2. RAPD profiles obtained from leaf and seed DNAs of the pure line GG9723.

Lane M : Molecular marker (1kb ladder), A : DNA was isolated from the leaves of the single plant from the line GG9723, 1~3 : DNA samples from the three single seed obtained from the line GG9723(A).

타나지 않았다. 또한, 1, 3번 종자는 800bp 크기의 band가 나타났으나, 2번 종자는 이 크기의 band가 나타나지 않았으며, 1, 2번 종자는 750bp의 band가 나타났으나 3번 종자에서는 이 band가 나타나지 않아 종자간에 다양성이 나타났다.

이상과 같이 29식물체로부터 수확한 87립의 종자 중에는 GG9723-1, GG9724-1, GG9724-2, GG9743-1, GG9724-2 계통의 개체에서 수확한 종자간에는 다양성이 나타났으나 나머지 24식물체에서 수확한 종자간에는 다양성이 나타나지 않아 종자는 식물체보다 다양성 비율이 매우 낮았다.

3. 인삼 육성 품종의 유전적 다양성

천풍의 잎으로부터 분리한 DNA를 primer OPA 19를 사용하여 증폭한 결과, 3, 4번 개체에서는 약 1,800bp 크기의 band가 나타났으나, 1, 2 및 5 번 개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간의 다형성을 보였다. OPM 11에서는 1, 2 번 개체에는 약 730bp와 850bp 크기의 band가 나타났으나, 3, 4 및 5번 개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간에 다형성을 보였다.

연풍의 잎으로부터 분리한 DNA를 OPM 11을 사용하여 증폭한 결과 2번 개체에서는 730bp 크기의 band가 나타났으나, 1, 3, 4 및 5번 개체에서는 이 band가 나타나지 않아 개체간에 RAPD 다형성을 확인 할 수 있었다. UBC 98, URP 3을 사용한 경우 개체간에 차이가 나타나지 않았다.

이상과 같이 천풍에서는 OPA 19, OPM 11을 사용한 경우 개체간의 다형성을 보였고, 연풍에서는 OPM 11을 사용한 경우 개체간의 다형성을 보였다. 이러한 결과는 천풍과 연풍이 완전히 고정이 되지 않은 것인지, 아니면 재배하는 동안 타가수정에 의한 것인지 또는 재배 중에 혼입에 의한 것인지는 앞으로 검토되어야 할 것으로 생각된다.

이상에서 살펴보았듯이 RAPD방법을 이용하여 인삼육성계통의 개체간 뿐만아니라 같은 식물체에서 채취한 종자간에도 다양성을 검증할 수 있었다. 이러한 결과는 육성중인 인삼계통이 유전적으로 고정이 되지 않았음을 알 수 있었고, 인삼이 다년생식물이므로 한번 타가수정 되면 유전적으로 hetero가 되어 homo가 되는 기간이 길어지기 때문에 생각된다. Carpenter et al. (1982)에 의하면 미국삼은 높은 자가수정 작물이라고 하였다. 그러나 별과 개미와 같은 충매수분자 때문에 낮은 수준의 타가수분 가능성이 인삼 포장에서 관찰되었다고 하였다(Carpenter & Cottam, 1982; Lewis & Zenger, 1983; Schlter & Punja, 2000). Morgan et al. (1997)도 인삼은 자가수분 작물이지만 방임수분 상태에서 화분매개곤충에 의한 타자수분으로 결실율이 증가한다는 보고 등으로 볼 때 일부의 타가수분이 유전적 다양성을 증가하는 것으로 생각된다.

본 연구에서와 같이 같은 식물체로부터 수확된 인삼종자간에 RAPD marker가 분리한다는 결과는 Schlter & Punja (2002)가 봉지를 써운 것과 써우지 않은 인삼의 후대사이의 유전적 변이 값은 두드러지게 다르지는 않았으나, RAPD marker의 분리는 봉지를 써운 식물들의 자가 수분된 후대의 첫 번째 세대에서 관찰되었다는 보고와 일치한다. 본 시험에서 육성계통의 개체간에 유전적 다양성이 나타나는 원인은 육성중인 계통이 유전적으로 고정되지 않았거나 재배 중에 타가수분이 일어났기 때문으로 생각된다.

RAFD방법은 사용법이 간단하고, 소요시간이 짧고, 적은 양의 DNA시료로 분석이 가능하다는 장점이 있다. 증폭된 DNA이 단편들의 polymorphism으로 인삼의 각 계통의 유전적 고정여부를 검증할 수 있었다. 이러한 검증법을 인삼육종에 응용한다면 유전적으로 고정된 인삼육성계통을 조기에 선발할 수 있어 육종기간의 단축에 기여할 것으로 생각된다.

概 要

본 연구는 금산농업기술센터 인삼연구실에서 순계선발법으로 육성 중인 인삼 계통과 인삼연초연구원에서 육성한 품종을 RAPD 방법으로 계통 내의 변이와 육성계통

의 순도를 검정하여 인삼의 순계선발법으로 활용하기 위한 기초자료를 얻기 위해 실시하여 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 10개 계통으로부터 각각 4~5개 개체를 임의로 수확한 49개체의 DNA를 48개의 primer를 사용하여 PCR한 결과 최소한 1개의 계통내에서 RAPD 다형성을 나타내는 4개의 primer OPA 19, OPM 11, URP 3 및 UBC 98을 선별하였다. 그중 Primer OPA 19, OPM 11 및 UBC 98은 각각 6계통, 7계통 및 1계통 내에서 개체간의 차이를 보이는 band가 증폭되었다.

2. 육성품종 천풍의 DNA를 OPA 19를 사용하여 증폭한 결과 약 1,800bp 크기의 band에서 개체간의 차이를 보였고, OPM 11을 사용하여 증폭한 경우에는 약 730bp 및 850bp 크기의 두 band에서 개체간의 차이를 나타냈으며, 육성품종 연풍은 OPM 11을 사용하여 증폭한 결과 약 730bp 크기의 band에서 개체간의 차이를 보였다.

3. 이와 같이 인삼육성계통내의 개체간에 RAPD 다형성이 나타나는 이유는 영년작물인 인삼이 타가수정 되면 유전적으로 고정이 되는데 필요한 기간이 길어지기 때문이라고 설명할 수 있다.

LITERATURE CITED

- Ahn SD, Choi KT, Cheon SY, Chung CM, Kwon WS (1985) Coefficient of variability of Agronomic characters in *Panax ginseng* C. A. Meyer. Korean J. Ginseng Sci. 6: 9-14.
- Bai D, Brandle J, Reeleder R (1997) Genetic diversity in North American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) grow in Ontario detected by RAPD analysis. Genome 40: 111-115.
- Carpenter SG, Cottam G (1982) Growth and reproduction of American ginseng (*Panax quinquefolius*) in Wisconsin, U. S. A. Can. J. Bot. 60: 2692-2696.
- Doyle JJ, Doyle JL, Brown AHD (1990) A chloroplast-DNA phylogeny of the wild perennial relatives of soybean (*Glycine* subgenus *Glycine*) congruence with morphological and crossing groups. Evolution 44: 371-389.
- Lewis WH, Zenger V (1983) Breeding systems and fecundity in the American ginseng, *Panax quinquefolium* (Araliaceae). Am. J. Bot. 70: 466-468.
- Lim YP, Shin CS, Lee SJ, Youn YN, Jo JS (1993) Survey of proper primers and Genetic Analysis of Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) variants using the RAPD technique. Korean J. Ginseng Sci. 17: 153-158.
- McCouch SR, Kochert YZH, Wang ZY, Tanksley SD (1988) Molecular mapping of rice chromosomes. Theor. Appl. Genet. 76: 815-829.
- Michelmore RW, Paran, Kesseli RV (1991) A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA. 88: 9828-9832.
- Morgan MT, Sehoen DJ, Bataillon TM (1997) The evolution of selffertilization in perennials. AM. Nat. 150: 618-638.
- Oelzel AR, Green A (1992) Analysis of population level variation by sequencing PCR amplified DNA. In: Molecular genetic analysis of populations. A practical approach: 159-187.
- Rawland LJ, Levi A (1994) RAPD based genetic linkage map of blueberry derived from a cross between diploid species (*Vaccinium darrovi* and *v. ellottii*). Theor. Appl. Genet. 87: 863-868.
- Schluter C, Punja ZK (2000) Floral biology and seed production in cultivated North American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) in Canada. Int. J. Plant. Sci. 163: 427-439.
- Schluter C, Punja ZK (2002) Genetic diversity among natural and cultivated field populations and seed lots of American ginseng (*Panax quinquefolius* L.). J. Am. Soc. Hortic. Sci. 125: 567-575.
- Song YS, Tsukasa NE, Choi IH, Jang YS, Choi WY, Park JH (2001) Detection of Randomly Amplified polymorphic DNA(RAPD) markers related to blotting, bulb color and clove adherent type of garlic(*Allium sativum* L.). J. Kor. Soc. Hort. Sci. 42: 305-309.
- Yu LW, Nguyen HT (1993) Genetic variation detected with RAPD marker among upland and lowland rice cultivars (*Oriza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 87: 668-672.
- Zhu T, Shi L, Doyle JJ, Keim P. (1995) A single nuclear locus phylogeny of soybean based on DNA sequence. Ther. Appl. Genet. 90: 991-999.