

RAPD marker를 이용한 고려인삼  
(*Panax ginseng* C.A.Meyer)의 유전적 변이 분석

## RAPD marker를 이용한 고려인삼 (*Panax ginseng* C.A.Meyer)의 유전적 변이 분석

차선경, 김영창, 최재율\*, 최장선<sup>1)</sup>, 강권규<sup>1)</sup>

충남대학교 농업생명과학대학, <sup>1)</sup>한경대학교 원예학과

### Genetic Variation in Among Cultivated Field Populations of Korean Ginseng(*Panax ginseng* C.A.Meyer) Using RAPD

Sun-Kyung Cha, Young-Chang Kim, Jae-Eul Choi, Jang-Sun Choi<sup>1)</sup> and Kwon-Kyoo Kang<sup>1)</sup>

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

<sup>1)</sup>College of Agric. & Life Sciences, Hankyong National University, Anseong, 456-749, Korea

#### ABSTRACT

Genetic variation in field grown Korean ginseng(*Panax ginseng* C.A.Meyer) was evaluated using random amplified polymorphic(RAPD) markers. (This experiment was carried to collect the local native from farm of Chungnam National University in Korea in order to investigate genetic variation.) Some morphological characters showed considerable variation ranging 22 to 68cm in plant height, 10 to 38mm in root diameter, 16 to 86g in root weight, and culm color and flowering date, respectively. Ten RAPD primers out of the 32 which produced reproducible bands in 662 Korean ginseng plants were selected for the further study. The total number of bands generated by 10 primers were 108 and among them 103 were polymorphic among the 662 plants with the polymorphism ratio of 94.5%. A total of 662 plants were classified into 16 groups based on polymorphic data with an URP 05 primer.

key words : RAPD, genetic variation, genetic polymorphism, panax ginseng

#### 서언

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오가과 인삼속에 속하는 다년생 약용식물로서 자경종, 황숙종, 청경종, 등황숙종의 변종으로 구분하고 있으나 (Jung et al., 1992), 대부분의 농가에서는 줄기와 잎자

루가 자색이고 열매는 붉은 색인 자경종을 재배하고 있다. 그러나 자경종은 개체에 따라 자색의 발현 정도가 다르며 엽형이나 화서도 일정하지 않아 혼계상태라고 하였다 (Choi et al., 1982, 1983).

인삼의 형질차이는 유전적인 변이와 환경적인 변이에 의하여 나타나므로 개체간의 변이를 모두 유전

\*교신저자 : E-mail : choije@cnu.ac.kr

적인 차이라고 말할 수 없다. 특히 인삼은 다년간 해가림구조하에서 재배되므로 같은 포장에서도 재식 위치에 따라 수광량, 통기성, 습도 및 토양의 비옥도가 다르므로 환경변이가 매우 심하여 우량한 개체 선발이 매우 곤란하다.

인삼은 개화 결실에 필요한 기간이 최소한 3년이 소요되고 개체당 결실량도 적어 품종을 육성하는데는 적어도 30년 이상이 소요된다. 따라서 품종 육성 기간을 단축하는 방법중의 하나는 재래종으로부터 우량한 순계를 선발하는 방법일 것이다. 그러나 인삼은 다른 작물과 달리 형태적으로 단순하기 때문에 초장, 경직경, 뿌리의 형태, 줄기, 잎자루 및 열매의 색깔, 개화기 등의 차이로 구분할 수 있으나 초장, 경직경 및 뿌리의 형질은 환경변이가 크므로 이들 특성에 의한 선발은 곤란하다.

환경변이에 따른 오차를 줄이고 인삼의 유전적 특성을 이용한 우량개체의 선발은 최근에 널리 사용되고 있는 RAPD 분석법을 이용할 수 있다. RAPD 분석은 이미 유전자원 평가 (Yang *et al.*, 2001), 집단 유전학의 양적 유전형질 분석 (Suh *et al.*, 1999), 유용 유전형질을 탐지할 수 있는 표지인자 개발 (Song *et al.*, 2001), 유전자 연관지도 작성 (Stewart and Excoffier, 1996), 유연 관계 비교 및 감별 (Tinker *et al.*, 1993; Baek *et al.*, 1997) 등에 이용되고 있다.

인삼에서는 임 등(1993)이 RAPD의 polymorphic band를 이용하여 변종간 또는 변종내 유연 관계를 비교하여 RAPD가 품종간의 분류를 쉽게 할 수 있다고 하였고, Brandle 등(1997)은 RAPD 분석으로 Ontario에서 재배중인 미국 인삼내에서의 유전적 다양성을 통해 두 개의 계통임을 밝혀내고, 이를 통해 품종개량의 가능성을 시사하였다.

본 연구는 인삼의 재배집단으로부터 무작위로 채취한 개체들의 RAPD 분석으로 유전적 다양성을 조사하여 인삼의 육종효과를 증진시키는 방법을 찾기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험재료

본 실험에 사용한 인삼은 충남대학교 농생대 부속농장 실험포장에서 재배중인 4년근 인삼을 무작위로 표지하고 DNA분리용 잎을 채취하였다.

### 2. 작물학적 특성조사

초장, 줄기색, 개화기, 뿌리의 직경 및 무게를 조사하였다.

### 3. DNA 분리

-80°C의 초저온 냉동고에 저장중인 인삼의 잎을 Brunel 등 (1984)의 방법을 변형하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA를 TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0) buffer에 녹인후 0.8% agarose gel에서 100V로 전기영동하고, 260nm의 자외선에서 ethidium-bromide (EtBr)로 염색하여, 분리된 DNA의 농도와 순도를 확인하고 필요한 농도로 희석하여 PCR sample로 사용하였다.

### 4. DNA의 PCR 조건

PCR반응은 50ng의 genomic DNA, 2.5mM dNTP, 5 μM primer, 10 × buffer (MgCl<sub>2</sub> 2.5mM), Taq polymerase (promega) 1 unit로하여 총 반응액을 50μl로 하였다. 각 요인들에 대한 적정화는 DNA의 농도, Taq DNA polymerase의 농도, primer의 농도, dNTP의 농도, 그리고 annealing 온도 순서로 조건을 설정하여 고정시킴으로서 최적화 하였다.

DNA증폭은 M-J Research 200 기기를 사용하였으며, PCR을 위한 program은 94°C에서 4분 동안 변성시킨후, 94°C에서 1분, URP primer : 55°C에서 1분 (OPA primer : 36°C에서 1분), 72°C에서 2분으로 45회 반복하여 증폭하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분 동안 DNA를 연장시킨 후, 4°C에서 저장하였다. 증폭된 DNA는 2.0% agarose gel로 전기영동(100V 2hrs)한 다음 EtBr로 염색하고, UV下에서 band의 차이를 관찰하였다.

### 5. Primer의 선발

Primer 선발은 20-mer인 URP 12종 및 10-mer OPA

20종을 사용하여 재현성이 우수하고 polymorphism을 보이는 primer를 선발하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 인삼집단의 작물학적 특성

본 시험에 사용한 662개체의 주요특성은 Table 1, Fig. 1과 같다. 개화기는 5월 16일부터 24일 까지 일주일에 걸쳐 개화하였고, 19-20일에 개화율이 가장 빈도가 높았다. 줄기색은 녹색이 13개체, 연자색이 429개체, 자색이 229개체, 진자색이 38개체로 연자색이 가장 많은 분포를 보였다. 초장은 20~68cm로 넓은 범위로 분포하였고, 41~48cm가 291개체로 가장 높은 빈도를 나타냈다. 4년근의 무게는 16~76g으로 넓게 부포하였으며 36~46g이 385개체로 빈도가

가장 높았다. 이상과 같이 한 재배집단으로부터 선발한 인삼의 개화기, 초장, 경색, 및 근중은 넓은 범위로 분포하여 유전적으로 다양한 개체가 존재함을 알 수 있었다.

### 2. DNA polymorphism 및 grouping

인삼의 잎으로부터 분리한 DNA를 32개의 primer로 증폭시킨 결과 재현성이 우수하고 다형화 현상을 나타내는 10개의 primer를 선발하고, 선발된 primer들로 증폭시킨 결과 총 109개의 band중에서 94.5%인 103개의 band가 개체간 polymorphism을 나타냈고, 5.5%인 6개의 band는 monomorphism을 나타냈으며, primer당 평균 band수는 10.9개였다(Table 2).

10개의 primer 중에서 band가 다양하고 재현성이 높은 primer URP 05에 의한 profile은 Fig. 2와 같이 band의 범위는 200~2,645 bp이고, 주로 500~1,189 bp

Table 1. Frequency distribution of blooming date in *Panax ginseng* C.A.Meyer from a population in Korea

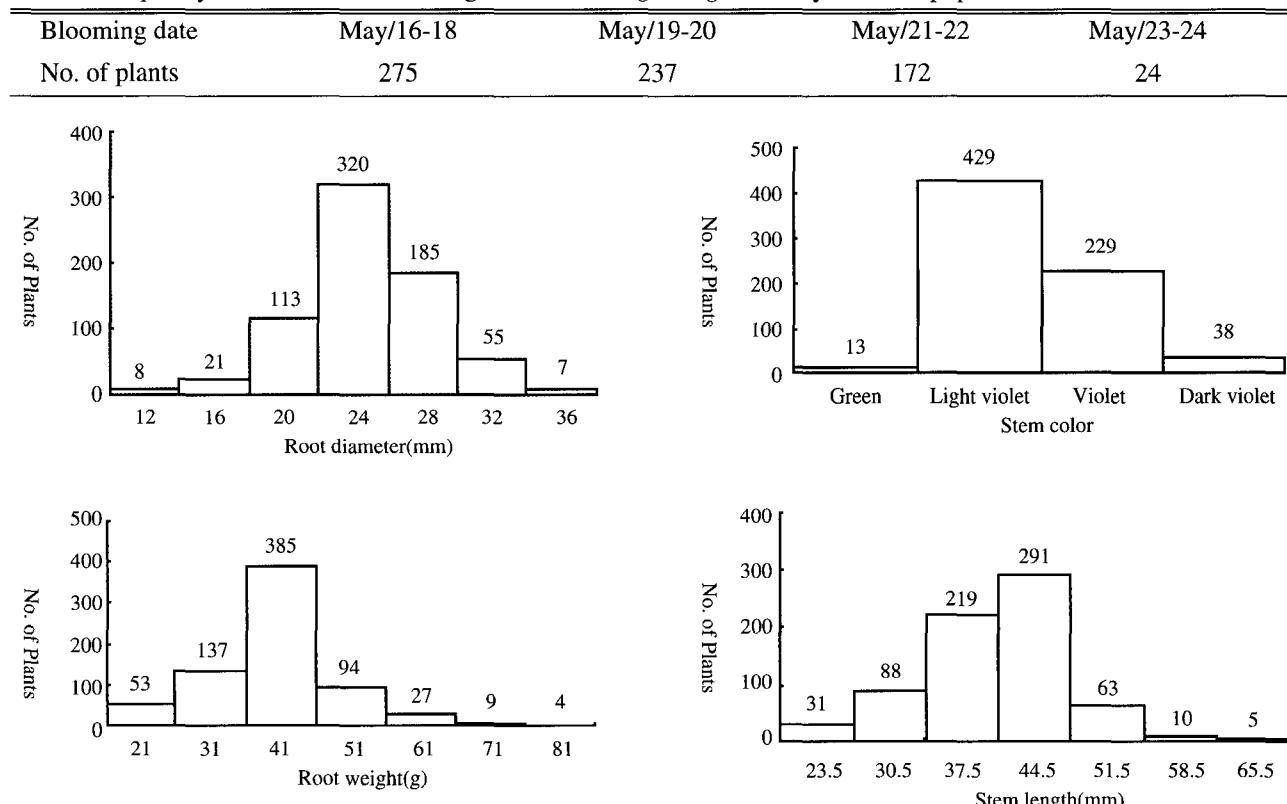


Fig. 1. Frequency distribution of root diameter, stem color, root weight and stem length in *Panax ginseng* population from farm of Chungnam National University in Korea

Table 2. Number of the total and polymorphic bands produced using RAPD primers in 16 Korean ginseng plants

.Primer	No. of bands	No. of polymorphic bands
URP 05	14	13
URP 09	8	7
URP 11	9	7
OPA 02	10	9
OPA 04	12	12
OPA 07	12	12
OPA 10	11	11
OPA 12	11	11
OPA 14	8	8
OPA 20	14	13
Total	109	103

에서 band가 나타났다.

URP 5에 의해 증폭된 band의 유무에 따라 인삼을 분류하면 Table 3과 같다. A group은 1,300, 1,198, 1,098, 900, 750bp의 band, B group은 2,654, 1,198, 750bp의 band, C group은 2,654, 1,198, 300, 200bp의 band, D group은 1,198, 1,098, 900, 750bp의 band, E group은 750, 500, 450, 300bp의 band, F group은 2,654, 2,545, 1,605, 1,300, 1,198, 1,098, 900, 750, 600bp의 band, G group은 1,198, 1,098, 750, 200bp의 band, H group은 1,198, 750bp의 band, I group은 1,300, 1,198, 900, 750, bp의 band, J group은 1,300, 1,198, 750, 200bp의 band, K group은 1,300, 1,198, 750bp의 band, L group은 1,198, 750, 300, 200bp의 band, M group은 900, 750bp의 band, N group은 2,654, 2,545, 1,198, 900, 750, 600bp의 band, O group은 2,654, 2,545, 1,198, 750, 450, 400의 band, P group은 2,654, 2,545, 1,198, 750bp의 band로 구분되었다.

662개체의 인삼은 A group 30개체, B group 14개체, C group 32개체, D group 22개체, E group 2개체, F group 68개체, G group 14개체, H group 50개체, I group 66개체, J group 26개체, K group 32개체, L group 32개체, M group 60개체, N group 24개체, O group 80개체, P group 110개체로 구분되었다(Table 4).



Fig. 2. RAPDs profiles obtained from 16 Korean ginseng plants with primer an URP 05.

Lane M: Molecular marker, lane A: CG204, lane B: CG107, lane C: CG030, lane D: CG108, lane E: CG016, lane F: CG143, lane G: CG119, lane H: CG403, lane I: CG098, lane J: CG311, lane K: CG312, lane L: CG421, lane M: CG514, lane N: CG606, lane O: CG076, lane P: CG694

이상과 같이 충남대학교 농생대 포장에서 수집한 인삼은 URP primer 5에 의해 증폭된 band의 유무에 따라 16종류의 group으로 구분된다는 것은 우리나라에서 재배하고 있는 인삼은 유전적 변이가 매우 다양하기 때문으로 생각된다.

### 3. 고려인삼의 group과 작물학적 특성과의 비교

RAPD에 의한 16 group을 초장 등 형태적 특성과 비교한 결과 인삼초장, 경색, 뿌리직경, 뿌리무게가 group과 관계없이 골고루 분포하였다. 이러한 결과는 본 시험에서 RAPD에 의한 분류와 인삼의 형태적 특성과 직접적인 관련이 없는 것으로 생각되어진다.

이상과 같이 PCR방법이 인삼의 유전적 다양성을 밝히는데 유용한 방법으로 인정되지만 외부형태적으로 나타나는 변이형태와는 일치하지 않았다. 이는 초장, 줄기색, 뿌리직경, 개화기, 뿌리무게 등의 표현형에 관여하는 유전자외에도 많은 유전자가 존재하여 이러한 부분에 계통간 다양성이 클 경우에는 표현형이 같다 할지라도 RAPD상 다양화 밴드를 만들기 때문이라고 생각된다. 형태적 특성과 RAPD에 의한 분류가 일치하지 않는 예는 원추리속(Han et al., 1998), 진달래(Heo et al., 1998), 양파 (Yang et al., 2001)에서도 보고되었다.

본 연구를 통하여 국내에서 재배중인 인삼의 집단내에서 RAPD에 의한 높은 유전적 변이

RAPD marker를 이용한 고려인삼  
(*Panax ginseng* C.A.Meyer)의 유전적 변이 분석

Table 3. Classification of Korean ginseng samples by RAPDs profiles with primer URP5

Size of bands(bp)	Group															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
U*5-2,645	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
U5-2,545	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
U5-1,605	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
U5-1,300	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
U5-1,198	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
U5-1,098	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
U5-900	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
U5-750	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U5-600	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
U5-500	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
U5-450	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
U5-400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
U5-300	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
U5-200	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-

+ : presence, - : absence.

Table 4. Number of plants in each group.

Group	No. of plants	Group	No. of plants
A	30	I	66
B	14	J	26
C	32	K	32
D	22	L	32
E	2	M	60
F	68	N	24
G	14	O	80
H	50	P	110

(polymorphism)가 확인되었고, 경색이나 출수기가 동일한 개체사이에서도 변이가 다양하게 나타났다. 이러한 결과는 인삼의 집단과 primer를 다양하게 사용한다면 변이는 더 많이 나타날 수 있을 것이며, 종래의 형태적인 특성만으로 변이체의 분류나 계통의 선발이 어렵다는 것을 의미한다.

이상을 살펴보면 RAPD방법은 사용법이 간단하고 소요시간이 적게들며, 적은 양의 DNA시료로도

분석이 가능하다는 장점이 있으며, 증폭된 DNA의 단편들의 polymorphism 때문에 작물의 분류 등에 많이 이용되고 있다. 지금까지 RAPD방법을 이용하여 다른 작물에서 유전적 다양성을 검증한 논문은 많으나 인삼에서는 Lim 등(1993)의 보고에 따르면 평균 0.333이었고, 이번 실험에서는 유전적 거리가 평균 0.471로 변이폭이 큰 것으로 나타나 인삼이 혼계 상태임을 보여주었으며 이는 앞으로 순계선발에 의한 품종육성이 가능할 것을 보여준다.

본 연구 결과에서 인삼집단내의 RAPD 변이 패지 및 marker 선발이 용이하다는 것을 입증하였고, RAPD marker를 육종적으로 이용하기 위해서는 개화기, 뿌리형태나 수량 같은 특성들과 RAPD marker들과의 연관짓기 위한 연구가 필요하다고 생각된다.

## 적요

본 연구는 고려인삼의 집단내의 유전적 유전적 변이를 작물학적 특성 및 DNA수준에서 비교하여

인삼품종육성을 위한 기초자료를 제공하기 위하여 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 개화기는 5월 16일부터 24일 까지 일주일에 걸쳐 개화하였고, 19일과 22일에 개화율이 가장 빈도가 높았다.

2. 줄기색은 녹색이 13개체, 연자색이 429개체, 자색이 229개체, 진자색이 38개체로 연자색이 가장 많은 분포를 보였으며 한 집단내에서 다양한 분포를 나타냈다.

3. 초장은 22~68cm의 넓은 범위에 분포하였으며, 20~27cm가 31개체, 27~34cm가 88개체, 34~41cm가 219개체, 41~48cm가 291개체, 48~55cm가 63개체, 55~62cm가 10개체, 62~69cm가 5개체로 다양한 분포를 나타냈다.

4. 뿌리무게는 16~26g이 53개체, 26~36g이 137개체, 36~46g이 385개체, 46~56g이 94개체, 56~66g이 27개체, 66~76g이 9개체, 76~86g이 4개체, 36~46g 범위에서 385(57.7%)개체로 가장 많은 분포를 나타내었으며, 16~86g의 범위로 변이 정도가 매우 컸다.

5. 662개체를 대상으로 RAPD를 실시한 결과 32개의 프라이머 중 10개가 재현성이고 다형성인 밴드를 보였다. 10개의 프라이머에서 나타난 전체 밴드수는 109개였으며 이 중 103개가 다형성을 보여 다형성 비율은 94.5%였다.

6. URP5 프라이머를 이용하여 662개체를 군집 분석한 결과 밴드의 유무에 따라 16개의 그룹으로 구분하였으며, 개화기, 초장, 줄기색, 뿌리직경, 뿌리무게에 다른 분류와 일치하지 않았다.

## 인용문헌

- Baek, I.Y., Y.H. Yoon, D.C. Shin, G.H. Park, Y.H. Hwang and D.U. Kim 1997. Analysis of genetic relationships among glycine species using RAPDs. Korean J. Breed. 29(3): 308-317.
- Heo, K.O., I.K. Chung and S.J. Hahn 1998. Analysis of Phylogenetic Relationship among Korean Landraces of *Allium grayi* by RAPD. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39(3): 273-277.
- Choi, K.T., S.D. Ahn, K.J. Park and D.J. Yang 1983. The characteristics and correlation coefficients of characters in *Panax ginseng* violet stem variant and yellow berry variant and *Panax quinquefolium*. J. Ginseng Res. 7 : 133.
- Choi, K.T. and H.S. Shin 1982. Morphological characteristics of inflorescence, flowering and fruit and leaf of Korean ginseng. J. Korean Ginseng Sci. 6 : 67-74.
- Chung, Y.Y., C.M. Chung, K.T. Choi and C.S. Chung 1992. The comparison of growth characteristics of *Panax ginseng* C.A.Meyer and *Panax quinquefolium* L. Korean J. Breed. 24(1): 81-86.
- Han, H.N., U.H. Cho, H.Y. Kim and H.Y. Lee 1998. Genetic Variability in Four Daylily Genus (Hemerocallis) Taxa using RAPD. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39(2): 218-221.
- Stewart, C.N. and L. Excoffier 1996. Assessing population genetic structure and variability with RAPD data: Application to *Vaccinium macrocarpon*(American Cranberry). J. Evol. Biol. 9: 153-171.
- Suh, J.P., S.N. Ahn, H.P. Moon and H.S. Suh 1999. QTL analysis of low temperature germinability in a weedy rice. Kor. J. Breed. 31(3): 261-267.
- Tinker, N.A., M.G. Fortin and D.E. Mather 1993. Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationship in spring barley. Theor. Appl. Genet. 85: 976-984.
- Yang, B.K., D.H. Kim, I.S. Kim, Y.B. Yi, J.K. Suh, J.S. Nam and S.J. Jeong 2001. Analysis of genetic diversity of onin gemplasm using RAPD. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 42(5):533-539.

(접수일 2003. 9. 20)  
(수락일 2003. 10. 15)