

AFLP 분석을 통한 *Curcuma*속 수집종간 유전적 다양성 분석

문병철 · 김옥진 · 지윤의 · 이영미 · 김호경[†]

한국한의약연구원 한약연구본부 한약자원그룹

Genetic Diversity of *Curcuma* Genus Collected Germplasm using Analysis of AFLP

Byeong Cheol Moon, Wook Jin Kim, Yunui Ji, Young Mi Lee and Ho Kyoung Kim[†]

Herbal Medicine Resources Group, Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea.

ABSTRACT : Collected germplasms of five representative species belonging to *Curcuma* genus (*C. longa*, *C. aromatica*, *C. zedoaria*, *C. phaeocalis* and *C. kwangsiensis*) were 52 samples from different farmhouse in Korea and China. To elucidate the genetic diversity among the species, 52 samples were analyzed by genomic fingerprinting method using amplified fragment length polymorphism (AFLP). AFLP results of 6 primer combinations were revealed 643 total DNA fragments and 349 polymorphic bands with the 54.3% ratio of polymorphism. In the analysis of coefficient similarity using unweight pair group method with arithmetic averages (UPGMA), 52 *Curcuma* germplasm lines were ranged from 0.60 to 0.99 and clustered distinct five groups according to the species and collected geographical levels. However, the result of principal coordinate analysis (PCA) by multi-variate analysis was shown significantly greater differences among species than geographical origins based on AFLP profiling data of these samples.

Key Words : *Curcuma*, AFLP, PCA, Genetic Relationship, Germplasm

서 언

열대아시아가 원산지인 생강과 (Zingiberaceae) *Curcuma*속에는 약 80여 종의 식물이 속하며, 열대 및 아열대지역인 인도, 중국, 일본 등지에 주로 분포하고 있다. 이들 국가에서는 주로 강황 (*C. longa*), 울금 (*C. aromatica*), 아출 (*C. zedoaria*), 봉아출 (*C. phaeocalis*) 그리고 광서아출 (*C. kwangsiensis*) 등을 재배하여 다양한 재료로 이용해 오고 있다 (Al-Reza *et al.*, 2010; Komatsu *et al.*, 2008; Sigrist *et al.*, 2011; Wilson *et al.*, 2005). 서남아시아 및 인도 등지에서는 오래전부터 강황 (*C. longa*)을 카레와 같은 식품재료와 천연 염료로 이용해 온 산업적으로 중요한 작물이며 (Sigrist *et al.*, 2010), 울금 (*C. aromatica*)은 피부질환 및 멍을 치료하는 등 민간요법 치료제와 화장품 원료로 이용하고 있으며 (Al-Reza *et al.*, 2010), 아출 (*C. zedoaria*)은 구풍제, 소화제 그리고

감기 치료제로 이용해 오고 있다 (Wilson *et al.*, 2005). 일본 전통의학에서는 봉아출 (*C. phaeocalis*)과 광서아출 (*C. kwangsiensis*)을 배탈, 혈액순환 등의 치료제로 이용하고 있다 (Komatsu *et al.*, 2008). 최근 들어 조류독감 예방, 항균작용, 항산화 그리고 항암 등에 뛰어난 약리적 효과가 있는 것으로 알려진 curcumin 물질이 강황 (*C. longa*)을 비롯한 이들 *Curcuma*속 식물의 뿌리줄기에 다량 존재하는 것으로 알려지면서 세계적으로 주목받고 있다 (Sigrist *et al.*, 2010; Sigrist *et al.*, 2011).

우리나라도 *Curcuma*속 작물이 가진 약용 및 산업원료로서 무한한 가치가 있음을 깨닫고 1990년대에 일본으로부터 종경을 도입하여 재배하고 있으나, 재배지역이 제주 및 남부지역으로 한정되어 있으며 재배종과 재배면적 등의 작물정보가 정확히 파악되고 있지 않아 관련 정보가 부족한 실정이다 (Choi, 2004). 열대성 작물인 *Curcuma*속 작물을 국내 기후조건에서

[†]Corresponding author: (Phone) +82-42-868-9502 (E-mail) hkkim@kiom.re.kr

Received 2013 October 15 / 1st Revised 2013 November 2 / 2nd Revised 2013 November 18 / 3rd Revised November 22 / Accepted 2013 November 22

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재배하였을 경우, curcumin의 약리성분함량이 높지 않아 약재로 사용하기에 부적합하거나 뿌리줄기의 생산량이 떨어지는 등의 문제가 발생할 수 있으므로 국내 재배를 통해서도 품질이 우수한 뿌리줄기를 다량으로 생산 할 수 있는 품종 개발을 위한 연구가 필요하다.

작물을 개량하는데 있어서 수집된 유전자원 식물의 유전적 다양성, 집단구조 및 계통유연관계를 명확히 평가하는 것은 우수형질의 계통을 발굴·육성하고 이들 간의 교배조합을 예측할 수 있는 정보를 제공하기 때문에 중요하다 (Bretting and Widrechner, 1995; Kim et al., 2012). 이를 분석하는 방법으로는 형태적 형질특성을 평가하거나 지표물질이 되는 성분의 함량분석 또는 유전형 분석 등이 이용 될 수 있으나, 형태적 형질 및 지표물질 함량분석의 두 가지 방법은 환경과 유전형의 상호작용에 의해 표현형과 그 결과 값이 영향을 받을 수 있고 식물이 제공하는 형태적 형질의 정보는 극히 제한적이기 때문에 한계점이 있다 (Kim et al., 2010). 최근 분자생물학의 발달로 염기서열 분석의 대량화 및 자동화가 가능해짐에 따라 amplified fragment length polymorphism (AFLP), simple sequence repeat (SSR), random amplified polymorphic DNA (RAPD) 등의 유전형 분석방법은 앞서 언급한 두 가지 분석방법의 문제점을 보완할 수 있어서 다양한 작물의 유전형 분석에 이용되고 있다 (Kim et al., 2013; Moon et al., 2011; Vos and Kuiper, 1996; Wang and Park, 2013). 다양한 유전형 분석방법 중에서도 AFLP는 유전체 정보 없이도 대립유전자의 특성을 명확하게 구분 할 수 있을 뿐 아니라, 단일염기 크기의 다형성까지 정밀하게 검출할 수 있는 장점이 있어서 식물의 유전형 연구에 이용되고 있다 (Kim et al., 2013; Vos and Kuiper, 1996). *Curcuma*속 식물의 유전 다양성을 평가한 연구사례는 국외에서 몇 차례 있었으나 (Komatsu et al., 2008; Sigrist et al., 2011), 국내에서는 주로 식품 또는 생약학적 이용 및 산업재료로서의 효능을 중심으로만 연구가 진행되고 있으며, 국내에서 재배되고 있는 *Curcuma*속 식물자원을 중심으로 한 종 단위나 재배지역에 따른 재배현황 조사나 유

전 다양성 분석 등의 체계적인 연구 진행은 미비하다 (An et al., 2006; Kim et al., 2011; Oh et al., 2010).

따라서 본 연구에서는 AFLP 분석을 통해 한국의 남해안 및 제주 그리고 중국에서 재배되고 있는 강황 (*C. longa*), 울금 (*C. aromatica*), 아출 (*C. zedoaria*), 봉아출 (*C. phaeocaulis*) 그리고 광서아출 (*C. kwangsiensis*) 5종 52개체의 유연관계 및 주성분 분석 (PCA)을 통해 유전 다양성을 평가하여 국내재배를 통해서도 품질이 우수하며 뿌리줄기의 생산량이 뛰어난 품종육성을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 분석용으로 사용한 강황 (*C. longa*)은 제주, 진도 및 중국 사천성 3개 지역에서 23개체, 울금 (*C. aromatica*)은 제주와 진도 2개 지역에서 13개체, 아출 (*C. zedoaria*)은 제주 1개 지역에서 7개체, 봉아출 (*C. phaeocaulis*)은 중국 사천성 1개 지역에서 광서아출 (*C. kwangsiensis*)은 광서성 1개 지역에서 각각 7개체와 2개체를 직접 방문하여 채집하였으며, 총 52개체의 유전자원 계통을 공시하였다 (Table 1). 수집한 종별 시료는 한국한의학연구원 분류동정자문회의 동정을 거쳐 그 종을 확정되었으며, 각 종별 시료의 기원식물은 압착 석엽표본을 제작하고 표본번호를 부여하여 한국한의학연구원 한약표준표본관 (KHSR)에 보관하였다. 또한 수집한 시료의 잎을 깨끗이 씻어 물기를 제거한 후 액체질소에 급랭시켜 -70°C 초저온 냉동고에서 보관하고 genomic DNA 추출에 이용하였다.

2. DNA 추출 및 정량

-70°C에서 보관한 식물체는 액체질소와 막자사발을 이용하여 분쇄한 후 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany)을 이용하여 제작자가 제공한 protocol에 따라 genomic DNA를 추출하였고, 이를 0.8% agarose gel에서 전기영동한 후,

Table 1. *Curcuma* 52 germplasm lines used in this study for AFLP analysis.

Species	Collected region	Latitude	Longitude	No. of sample	Morphological character	
					Color of main vein	Color of Rhizome
<i>C. longa</i>	Aewol, Jeju, Korea	33°27'43"N	126°19'46"E	8	-	Orange
	Jindo, Jindo, Korea	34°28'50"N	126°15'46"E	7	-	Orange
	Chengdu, Sichuan, China	30°34'20"N	104°3'59"E	8	-	Orange
<i>C. aromatica</i>	Aewol, Jeju, Korea	33°27'43"N	126°19'46"E	6	-	Yellow
	Jindo, Jindo, Korea	22°49'2"N	108°21'58"E	7	-	Yellow
<i>C. zedoaria</i>	Aewol, Jeju, Korea	33°27'43"N	126°19'46"E	7	Purple	Emerald
<i>C. phaeocaulis</i>	Chengdu, Sichuan, China	30°34'20"N	104°3'59"E	7	Purple	Yellow
<i>C. kwangsiensis</i>	Nanning, Guangxi, China	22°49'2"N	108°21'58"E	2	-	Gray green

Table 2. List of pre-selective and selective primer sequences used in this study for AFLP analysis.

Step	Primer name	Sequence (5' → 3')
Pre-selective PCR	MseI-C	TGC GAC GAT GAG TCC TGA GTA AC
	EcoRI-A	CTC GTA GAC TGC GTA CCA ATT CA
Selective PCR	M-CAA	GAC GAT GAG TCC TGA GTA ACA A
	E-ACG	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA CG
	E-ACC	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA CC
	E-AGC	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA GC
	E-ACT	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA CT
	E-AGG	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA GG
	E-AAG	CGT AGA CTG CGT ACC AAT TCA AG

ethidium bromide (EtBr)로 염색하여 UV light 상에서 추출한 genomic DNA의 양과 질 등의 상태를 확인하였으며 NanoDrop 1000 spectrophotometer (NanoDrop, U.S.A.)를 이용하여 260 nm에서 정량하였다.

3. AFLP 분석

AFLP 분석은 AFLP Analysis System I (Invitrogen, U.S.A.)과 AFLP Pre-Amp Primer Mix I kit (Invitrogen, U.S.A.)를 이용하여 제작자가 제공한 protocol에 따라 진행하였으며, pre-selective amplification 결과는 1.5% agarose gel에서 전기영동을 통해 확인하였다. Selective PCR 증폭은 pre-selective amplification을 실시한 반응액을 Tris-EDTA (pH 8.0) 완충용액으로 10배 희석한 것의 2 µl를 주형 DNA로 사용하였으며, 2.5 µM MseI primer, 1 µM EcoRI primer, 10× buffer, 8 mM dNTP 그리고 0.65 U TaKaRa Ex Taq (TaKaRa, Japan)이 포함된 총 10 µl의 반응액에서 실시하였다. PCR 증폭 조건은 94°C에서 30초, 65°C에서 30초 (-0.7°C/1 cycle) 그리고 72°C에서 2분을 반응하도록 12 cycle을 touch down PCR 하였고, 이후에는 94°C에서 30초, 56°C에서 30초 그리고 72°C에서 2분의 조건으로 30 cycle 반응시켰다. 총 6조합의 MseI (+3)과 EcoRI (+3) primer가 selective PCR 증폭에 사용되었으며, EcoRI (+3) primer에는 6-FAM 또는 VIC 형광 dye가 결합된 것을 사용하였다 (Table 2). Selective PCR된 시료들은 36 cm capillary가 장착된 ABI3130 XL (Applied Biosystems, U.S.A.)을 이용하여 전기영동을 하였다.

4. Data 분석

Capillary electrophoresis system을 이용하여 나온 AFLP DNA 정보는 Gene Mapper (Applied Biosystems, U.S.A.) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각 시료에 대한 DNA 절편의 증폭여부는 전체 시료의 PCR 증폭 산물에서 noise peak를

제외할 수 있으며 명확하게 PCR 증폭된 peak들만 분석에 이용할 수 있는 형광 값 200을 기준으로 peak의 유무를 1 (유) 또는 0 (무)으로 점수를 부여하였으며, 유전적 유연관계와 주 성분 분석은 각각 NTSYSpc version 2.2 (Exeter Software, U.S.A.) 프로그램의 비가중산술평균 (UPGMA, Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)과 Mini tab 16 (Minitab Inc., U.S.A.) 프로그램의 다변량 주성분 분석법을 각각 이용하여 작성하였다.

결과 및 고찰

1. 다형성 분석

한국과 중국에서 채배하고 있는 Curcuma속 5종 52개체를 대상으로 AFLP 분석을 한 결과, 6쌍의 primer 조합에서 643개의 total peak가 확인되었고 그 중에서 349개가 polymorphic peak였다. Primer 조합당 평균 total peak 개수는 107개였으며, polymorphic peak는 평균 58개가 확인되었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 M-CAA/E-AAG primer 조합의 AFLP 지문분석 패턴을 분석한 결과, 주로 peak가 분포한 범위는 100~220 bp였다. 전체 6쌍의 primer 조합 가운데 M-CAA/E-AAG에서 가장 많은 85개의 polymorphic peak으로 81.7%의 polymorphism을 보여 Curcuma속 수집유전자원들을 분류하는데 이용성이 높을 것이라 판단되며, M-CAA/E-AGG에서 가장 적은 33개의 polymorphic peak으로 32.4%의 polymorphism이 확인되었다 (Table 3). 결과적으로 6쌍의 primer 조합 전체의 polymorphism은 54.3%였는데, 이는 인도에서 자생하는 Curcuma속 15종의 유전 다양성 분석에서 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)는 93.6%의 polymorphism을 보인 결과와 Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)은 95.6%의 polymorphism을 보인 결과와는 차이가 있다 (Syamkumar and Sasikumar, 2007). 또한 인도에서 지역별로 수집한 강황 (C. longa) 유전자원 55점과 재배품종 5점 등 60계통을 대상으로 한 유전 다양성 분석에서 RAPD는 91.4%의 polymorphism을 보인 결과와 ISSR은 95.4%의 polymorphism을 보인 결과와도 차이가 있는데 (Singh et al., 2012), 이러한 차이는 유연관계 분석에 이용한 분자마커 종류와 실험재료로 이용한 대상 식물종의 차이에 따른 유전적 특성 때문이라고 사료된다.

2. 유연관계 및 주성분분석

AFLP 분석을 통해 얻어진 349개의 polymorphic peak들은 NTSYSpc program의 비가중 산술평균 분석 (UPGMA)을 이용하여 유사도 (similarity coefficient)를 확인한 결과, 그 범위는 0.60에서 0.99에 걸쳐 나타났으며 유사도 0.68을 기준으로 Curcuma속 5종이 나뉘는 것을 확인하였다 (Fig. 2). 강황 (C. longa) group에 속한 개체들은 유사도 0.70을 기준으로 제주,

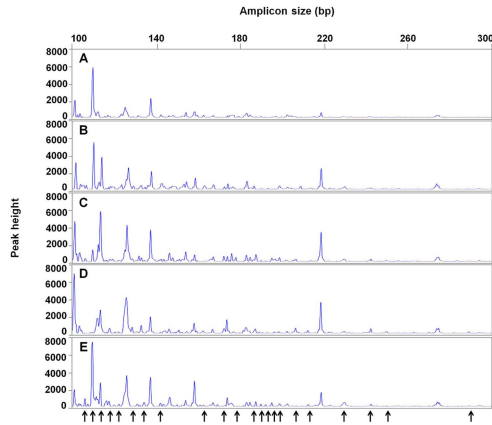


Fig. 1. AFLP patterns of 5 representative *Curcuma* species representative groups on capillary electrophoresis system using M-CAA/E-AAG primer combination. (A); #2 at Jeju in *C. longa*, (B); #51 at Jindo in *C. aromatica*, (C); #35 at Jeju in *C. zedoaria*, (D); #81 at China in *C. phaeocaulis*, (E); #91 at China in *C. kwangsiensis*. The arrow indicate polymorphic peak.

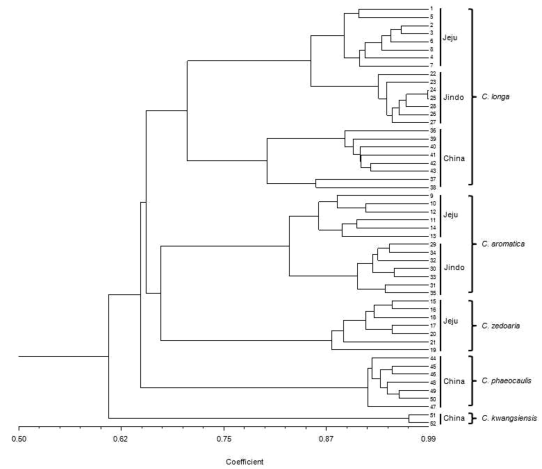


Fig. 2. Dendrogram of *Curcuma* 52 germplasm lines by unweighted pair grouping method of averages (UPGMA) cluster analysis using polymorphic peak profiling generated from the AFLP analysis.

Table 3. Summary of results for PCR amplicons generated by AFLP analysis using six combinations of selective primer pairs in 52 *Curcuma* germplasm lines.

Primer pair	TP [†]	MP [‡]	PP [§]	PR [¶]
M-CAA/E-ACG	123	77	46	37.4
M-CAA/E-ACC	128	58	70	54.7
M-CAA/E-AGC	79	38	41	51.9
M-CAA/E-ACT	107	33	74	69.2
M-CAA/E-AGG	102	69	33	32.4
M-CAA/E-AAG	104	19	85	81.7
Total	643	294	349	-
Mean	107	49	58	54.3

[†]TP; Number of total peaks.

[‡]MP; Number of monomorphic peaks.

[§]PP; Number of polymorphic peaks.

[¶]PR; Polymorphism rate (%).

진도 그리고 중국의 지역별로 구분되어 분포하였다. 울금 (*C. aromatica*) group에 속한 개체들도 제주와 진도 각 수집지역 별로 유집이 됨을 확인하였고, 제주에서 수집한 아출 (*C. zedoaria*)과도 유사도 0.68에서 유집이 이뤄져서 울금 (*C. aromatica*)과 아출 (*C. zedoaria*)간 유전 유사도가 높음을 확인하였다. 또한 중국에서 수집한 봉아출 (*C. phaeocaulis*)과 광서아출 (*C. kwangsiensis*) 2종은 강황 (*C. longa*), 울금 (*C. aromatica*) 그리고 아출 (*C. zedoaria*) 3종과는 비교적 낮은 유전 유사도인 각각 0.65와 0.60을 보였다. 이러한 결과는 Syamkumar와 Sasikumar (2007)가 보고한 인도에 자생하는 *Curcuma*속 15종의 유전 다양성을 inter simple sequence repeats (ISSR)과 RAPD를 이용하여 분석한 결과 강황 (*C.*

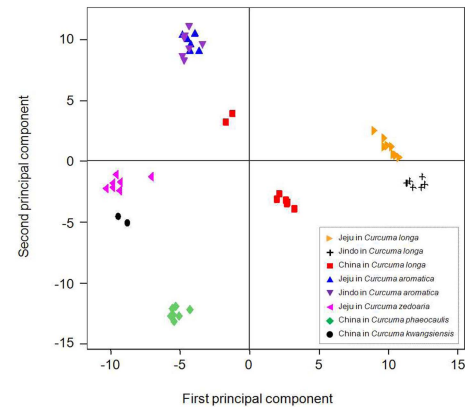


Fig. 3. The scatter plot of principal coordinate analysis (PCA) based on genomic fingerprinting using the AFLP in *Curcuma* 52 germplasm lines.

longa)과 아출 (*C. zedoaria*)이 유전적으로 보다 가까우며 울금 (*C. aromatica*)이 두 종에 비해 유전적으로 먼 것과는 차이가 있다. 이러한 결과의 차이는 본 실험에서 유전유사도 분석을 위해 이용한 AFLP가 Syamkumar와 Sasikumar (2007)가 이용한 ISSR과 RAPD 마커와의 차이에 따른 것으로 사료된다. 또한 유전적으로는 본 실험에서 사용한 국내 재배종 시료들의 원산지가 우리나라 기후조건과 비슷한 일본과 중국 등지에서 수집한 것이 많은 것으로 추측되기 때문에 인도의 *Curcuma*속과는 차이가 있을 것으로 사료된다.

주성분분석을 통해 얻어진 *Curcuma*속 5종 52개체의 이차원 상에서 분포도 분석결과는 first principal component 값 0을 기준점으로 강황 (*C. longa*)의 중국-제주-진도 수집지역 순으로 오른쪽에 분포하였으며 second principal component 값이 -5~5 사이의 범위에서 분포하고 있었다. 울금 (*C. aromatica*)

은 first principal component 값 -5와 second principal component 값 10을 중심으로 제주와 진도 지역의 개체들이 군집을 이루고 있는 것으로 나타났다. 아출 (*C. zedoaria*)과 광서아출 (*C. kwangsiensis*)은 first principal component 값 -10과 second principal component 값이 -5~0 사이의 범위에서 중간 구분이 가능하게 유집을 이루며 분포하고 있음을 보여 준다 (Fig. 3). 이의 결과는 강황 (*C. longa*)의 유연관계에서는 중국, 진도 및 제주 각 재배지역별 수집 개체들의 유집이 분명하게 이뤄졌으나 주성분분석 결과에서는 국내에서 재배되고 있는 개체들인 진도와 제주가 중국에서 재배되고 있는 개체들과 이차원상의 분포범위가 다름을 확인할 수 있었다. 울금 (*C. aromatica*)의 경우 유연관계에서는 재배지역별로 명확히 구분이 되어졌으나, 주성분분석 결과에서는 재배지에 관계없이 혼재되어 있음을 확인하였다. 또한 유연관계 분석에서는 아출 (*C. zedoaria*)과 봉아출 (*C. phaeocaulis*)의 중간 구분이 명확하였으나 주성분분석 결과에서는 다른 종들과 비교하여 두 종간의 유사도가 높은 것으로 나타났다.

AFLP 분석을 통해 얻어진 유연관계와 주성분분석 결과를 종합하면 유연관계 분석은 본 실험에서 사용한 *Curcuma*속 5종 모두 유전 유사도에서 종별 및 지역별 유집이 이뤄졌음을 확인할 수 있었으며, 주성분분석은 이차원상 분포도를 통해 강황 (*C. longa*)의 국내재배종과 중국재배종 구분을 제외하면 5종의 종별 구분이 가능함을 확인하였다. 따라서 *Curcuma*속 수집유전자원의 종간 유전적 관계와 지역별 유전 다양성 분석은 주성분 분석보다 유연관계 분석에서 보다 명확한 결과를 도출할 수 있었다.

그동안 *Curcuma*속 작물에 대한 연구는 주로 국외에서 이뤄졌으며 그 연구범위는 종간, 품종 또는 유전자원들을 대상으로 형태적, 화학적 또는 유전적으로 다양성을 분석하거나 물질의 효능 또는 재배방법 등의 작물 육종을 위한 광범위한 기초연구가 이루어지고 있다 (Al-Reza *et al.*, 2010; Gopichand *et al.*, 2006; Komatsu *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2012; Syamkumar and Sasikumar, 2007; Wilson *et al.*, 2005). 반면 국내에서는 재배를 통한 생육특성과 특정 물질의 효능 등 산업적인 이용방안 개발과 관련된 연구 중심으로 이루어지고 있어서 국내 기후에 맞는 재배품종의 육성이나 보다 적극적인 자원 활용을 위해서는 다양한 *Curcuma*속 식물에 대한 유전 다양성 분석의 연구가 필요한 실정이다 (An *et al.*, 2006; Choi, 2004; Kang, 2007; Kim *et al.*, 2011; Oh *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2007). 따라서 본 연구결과는 *Curcuma*속 수집 유전자원들 간의 유전다양성 분석을 통해 품종육성을 위한 기초자료 및 종관별 또는 원산지 구별을 위한 분자마커 개발로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 한의본초활용기반구축사업 (K12020)과 한약소재 은행 구축을 위한 pilot 연구(K10100)의 지원에 의해 수행되었으며, 기원식물 수집에 도움을 주신 제주시 농업기술센터와 분류동정에 도움을 주신 KIOM 분류·동정 자문위원님들께 감사드립니다.

REFERENCES

- Al-Reza SM, Rahman A, Sattar MA, Oliur Rahman M and Fida HM. (2010). Essential oil composition and antioxidant activities of *Curcuma aromatica* Salisb. Food and Chemical Toxicology. 48:1757-1760.
- An BJ, Lee JY, Park TS, Pyeon JR, Bae HJ, Song MA, Baek EJ, Park JM, Son JH, Lee CE and Choi KI. (2006). Antioxidant activity and whitening effect of extraction conditions in *Curcuma longa* L. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 14:168-172.
- Bretting PK and Widrlechner MP. (1995). Genetic markers and horticultural germplasm management. Hort Science. 30:1349-1356.
- Choi SK. (2004). Growth characteristics of *Curcuma longa* L. in southern part of Korea. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:85-88.
- Gopichand, Singh RD, Meena RL, Singh MK, Kaul VK, Lal B, Acharya R and Prasad R. (2006). Effect of manure and plant spacing on crop growth, yield and oil-quality of *Curcuma aromatica* Salisb in mid hill of western Himalaya. Industrial Crops and Products. 24:105-112.
- Kang SK. (2007). Changes in proximate composition, free amino acid, free sugar and vitamin of *Curcuma longa* L. and *Curcuma aromatica* Salib according to picking time. Korean Journal of Food Preservation. 14:624-632.
- Kim BW, Sa KJ, Choi SH, Park KJ, Park JY and Lee JK. (2012). Analysis of the genetic relationship and population structure for colored maize lines using SSR markers. Korean Journal of Breeding Science. 44:301-311.
- Kim JY, Kweon K, Lee HK, Kim SH, Yoo JK, Bae KH and Seong YH. (2011). Protective effect of an ethanol extract mixture of *Curcuma longae* Radix, *Phellinus linteus*, and *Scutellariae* Radix on oxidative neuronal damage. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:31-37.
- Kim WJ, Kim DS, Kim SH, Kim JB, Goh EJ and Kang SY. (2010). Analysis of genetic similarity detected by AFLP and PCoA among genotypes of Kenaf(*Hibiscus cannabinus* L). Journal of Crop Science and Biotechnology. 13:243-249.
- Kim WJ, Moon BC, Ji Y, Lee YM and Kim HK. (2013). Genetic diversity of the original plant for Taraxaci Herba, *Taraxacum* spp. by the analysis of AFLP. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 21:247-254.
- Komatsu K, Sasaki Y, Tanaka K, Kuba Y, Fushimi H and Cai SQ. (2008). Morphological, genetic, and chemical polymorphism of *Curcuma kwangsiensis*. Journal of Natural Medicines. 62:413-422.
- Moon BC, Ji Y, Lee YM, Chun JM, Lee AY, Choo BK and Kim HK. (2011). Development of SCAR markers for the

- authentication of *Acori rhizoma* based on the analysis of RAPD and multiplex-PCR. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:162-169.
- Oh H, Park H, Ju MS, Jung SY and Oh MS.** (2010). Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between *Curcuma longae* Radix and *Curcuma longae* rhizoma. Korean Journal of Herbology. 25:83-91.
- Park KN, Park LY, Kim DG, Park GS and Lee SH.** (2007). Effect of turmeric(*Curcuma aromatica* Salab.) on shelf life of tofu. Korean Journal of Food Preservation. 14:136-141.
- Sigrist MS, Pinheiro JB, Azevedo-Filho JA, Colombo CA, Bajay MM, Lima PF, Camilo FR, Sandhu S, Souza AP and Zucchi MI.** (2010). Development and characterization of microsatellite markers for turmeric(*Curcuma longa*). Plant Breeding. 129:570-573.
- Sigrist MS, Pinheiro JB, Azevedo Filho JA and Zucchi MI.** (2011). Genetic diversity of tumeric germplasm(*Curcuma longa*; Zingiberaceae) identified by microsatellite markers. Genetics and Molecular Research. 10:419-428.
- Singh G, Kapoor IPS, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP and Catalan CAN.** (2010). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric(*Curcuma longa* Linn). Food and Chemical Toxicology. 48:1026-1031.
- Singh S, Panda MK and Nayak S.** (2012). Evaluation of genetic diversity in turmeric(*Curcuma longa* L). using RAPD and ISSR markers. Industrial Crops and Products. 37:284-291.
- Syamkumar S and Sasikumar B.** (2007). Molecular marker based genetic diversity analysis of *Curcuma* species from India. Scientia Horticulturae. 112:235-241.
- Vos P and Kuiper M.** (1996). AFLP analysis. In Caetano-Anolls G and Gresshoff PM (eds.). DNA markers: Protocols, applications, and overviews. Wiley-VCH. Weinheim, Germany. p.115-131.
- Wang XQ and Park YJ.** (2013). Comparison of genetic diversity among amaranth accessions from south and southeast Asia using SSR markers. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 21:220-228.
- Wilson B, Abraham G, Manju VS, Mathew M, Vimala B, Sundaresan S and Nambisan B.** (2005). Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. Journal of Ethnopharmacology. 99:147-151.