

AFLP 분석을 통한 포공영 기원식물 민들레의 유전 다양성 분석

김육진 · 문병철 · 지윤의 · 이영미 · 김호경[†]

한국한의학연구원 한약연구본부 한약기초연구그룹

Genetic Diversity of the Original Plant for *Taraxaci Herba*, *Taraxacum* spp. by the Analysis of AFLP

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

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

ABSTRACT : Collected germplasms of five representative dandelion species (*Taraxacum ohwianum*, *T. platycarpum*, *T. platyepidum*, *T. officinale*, and *T. coreanum*) were 104 lines from different habitates in Korea and China. Their genetic diversity was analyzed by genomic fingerprinting method using amplified fragment length polymorphism (AFLP). AFLP results of 6 primer combinations were revealed 1,176 total DNA fragments and 523 polymorphic bands with a 44.4% ratio of polymorphism. On the basis of similarity coefficient analysis by unweight pair group method with arithmetic averages (UPGMA), 104 dandelion germplasm lines were ranged from 0.64 to 0.99 and clustered distinct five group depending on the species. Furthermore, a principal coordinate analysis (PCA) by the application of multi-variate analysis indicated significantly greater differences among species than geographical origins.

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

서 언

민들레는 국화과 (Compositae) 민들레속 (*Taraxacum*)에 속하는 다년생 초본 식물이다 (Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School, 2005). 민들레속 식물은 유성생식과 단위생식이 모두 가능한 번식력과 도로변 및 척박한 토양 환경 등에서 서식할 수 있는 강한 생존력을 지니고 있어 아시아, 유럽 및 미국 등 북반부를 중심으로 온대지역에서부터 한대지역에 걸쳐 광범위하게 서식하며 전 세계적으로 약 2,000여 종이 존재하는 것으로 알려져 있다 (Richards, 1973). 국내에는 민들레 (*T. platycarpum*), 좁민들레 (*T. hallaisanense*), 산민들레 (*T. ohwianum*), 흰민들레 (*T. coreanum*) 및 서양민들레 (*T. officinale*) 등 총 9종의 민들레가 서식하는 것으로 보고되어 있다 (Lee, 1993).

‘대한민국약전의한약(생약)규정집’에서는 민들레, 털민들레 (*T. mongolicum*), 서양민들레 그리고 흰민들레의 전초를 개화

기 전후인 봄과 여름에 지상부를 채취하여 건조 한 것을 포공영 (蒲公英)이라 정의하며 (Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School, 2005; Korea Food and Drug Administration, 2012), 이명으로 포공초, 지정, 백고정, 황화삼칠, 문들네, 앓은뱅이 등으로 불린다 (Chan and Kim, 2011). 한의학에서 포공영은 청열해독 (淸熱解毒), 소종산결 (消腫散結), 이뇨통림 (利尿通淋), 치정창종독 (治瘡腫毒) 및 유옹 (乳癰) 등 여러가지 질병에 대한 치료제로 유용하게 사용해 온 약용작물로 잘 알려져 있으며 (Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School, 2005), 국외에서는 염증, 빈혈, 습진, 이노 및 강장 등의 다양한 질병의 치료제로 사용해왔다는 보고가 있다 (Kisiel and Barszcz, 2000; Leu et al., 2005; Modaresi and Resalatpour, 2012; Zhang et al., 2012).

민들레의 전초에는 taraxasterol, cholin, insulin 및 pectin 성분 (Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School, 2005) 외에도 쌀 섭취시 영양학적으로 부족해질 수

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

Received 2013 April 8 / 1st Revised 2013 May 27 / 2nd Revised 2013 June 7 / 3rd Revised 2013 June 17 / Accepted 2013 Revised June 17

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.

있는 lysine과 leucine 등의 필수아미노산이 다량 함유되어 있으며, 민들레 잎에는 시금치보다 많은 비타민 C가 존재하는 것으로 알려져 있다 (Kang *et al.*, 2000; Ryu *et al.*, 2012; Shin, 1999). 이처럼 민들레는 약제 및 식품·영양학적으로도 그 가치가 우수하기 때문에 가공식품, 치료제, 화장품 첨가제 등으로 다양하게 활용이 가능하다 (Lee *et al.*, 2010; Shin, 1999). 그럼에도 불구하고 민들레 종 (species)의 차이에 따라 나타날 수 있는 약리 성분 및 질병치료 효과를 비교한 연구결과로는 흰민들레가 서양민들레 보다 항암 (Lee and Lee, 2008) 및 항염증 (Lee *et al.*, 2010) 작용이 뛰어나며 항산화 활성 (Lee and Lee, 2008) 및 미백효과 (Im and Lee, 2011)가 뛰어나 약리 및 산업적으로 활용가치가 높다는 보고 외에 거의 없다. 최근 들어 토종 민들레가 제초제와 공해 등의 열악한 환경 조건에 의해 자생지가 줄어드는 반면 공해에 내성이 강한 서양민들레가 토종 민들레의 서식지를 대체하고 있어 토종 민들레 유전자원의 보존, 증식 및 품종육성을 위한 보다 다각적인 연구가 시급한 실정이다 (Lee *et al.*, 2007).

식물의 유전적 다양성, 집단구조 및 계통간 유연관계를 명확히 평가하는 것은 작물육종에 있어서 우수형질의 계통 육성 및 발굴 그리고 교배조합 예측 등의 정보를 제공하기 때문에 중요한 요소이다 (Bretting and Widrechner, 1995; Kim *et al.*, 2012). 식물의 종 또는 계통간 유연관계를 분석하는 방법으로 지표물질의 성분함량 또는 형태적 형질특성 평가 등이 이용될 수 있으나, 두 가지 방법 모두 환경과 유전자형의 상호작용에 의해 영향을 받으며 특히 성분함량은 환경에 의해 그 결과 값이 크게 영향을 받는다는 점과 식물이 가지는 형질의 특성은 제한된 정보만을 제공하기 때문에 한계가 있다 (Kim *et al.*, 2010). 최근 들어 분자생물학의 발달로 이러한 문제점을 보완할 수 있는 amplified fragment length polymorphism (AFLP), simple sequence repeat (SSR), random amplified polymorphic DNA (RAPD), restriction fragment length polymorphism (RFLP) 등의 DNA 분석기법을 활용하여 유전적 다양성을 평가하는 방법이 제안되고 있다 (Vos and Kuiper, 1996). 이들 방법 중, AFLP DNA fingerprinting 기법은 단일염기 크기의 다형성까지 정밀하게 검출이 가능하며 유전체 정보 없이도 대립유전자의 특성을 명확하게 구분할 수 있는 특징이 있어 다양한 연구에 활용되고 있다 (Vos and Kuiper, 1996). AFLP를 이용한 중간 또는 지역별 유전적 유사도를 분석한 사례로는 배추속 2배체의 기본종들 간 교잡에 의해 생성된 중간 또는 속간 잡종 및 이질4배체를 대상으로 한 유전자원의 다양성평가 (Kwon *et al.*, 2007)와 국내·외 여러 지역에서 수집된 벼 재래종, 육성종 및 잡초형들 간의 유연관계분석 (Park *et al.*, 2012) 등이 있다. 민들레의 경우 한국에 서식하는 재래종 및 도입종간의 유전적 다양성과 유연관계를 밝히는 연구보고는 있었으나 (Ahn

et al., 2003; Ryu and Bae, 2012), 국내외에서 서식하는 민들레를 대상으로 한국의 강원지역, 남해안 및 제주 그리고 중국 흑룡강성 등의 광범위한 지역별 수집 및 AFLP 분석을 통해 정밀하게 연구한 사례는 없었다.

본 연구에서는 AFLP 분석을 통해 국내 및 중국에 서식하는 민들레, 산민들레, 흰민들레, 서양민들레 그리고 흰털민들레 (*T. platyepidum*) 5종 104점의 유연관계 및 주성분 분석 (PCA, principal component analysis)을 통해 유전 다양성을 평가하고 보다 우수한 한약 재료로 이용될 수 있는 민들레의 종 특성평가를 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 분석용으로 사용한 산민들레는 강원도 3개 지역 11개체, 민들레는 제주도와 경상남도 남해안 일대 13개 지역 19개체, 흰털민들레는 흑룡강성 1개 지역 7개체, 흰민들레는 강원도와 경상남도 남해안 일대 21개 지역 29개체 그리고 서양민들레는 제주도, 강원도 및 경상남도 남해안 일대 23개 지역 38개체를 직접 방문 채집하여 총 104개체의 유전자원 계통을 공시하였다 (Fig. 1, Table 1). 수집한 민들레 시료는 한국한의학연구원 분류동정자문회의 동정을 거쳐 그 종을 확정 지었으며, 각 종별 시료의 기원식물은 압착석엽표본을 제작하여 한국한의학연구원 표본관에 보관하였다. 또한 수집한 민들



Fig. 1. Population and locations of 104 *Taraxacum* accessions used in this study.

Table 1. Accessions of 104 *Taraxacum* germplasm lines used for AFLP analysis.

No	Sample name	Species	Collected region	No	Sample name	Species	Collected region	
1	Inje_1		Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	27	Jeju_2		Samyangilng, Jeju, Jeju	
2	Inje_2		Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	28	Jeju_3	<i>T.</i>	Jungmunng, Seogwipo, Jeju	
3	Inje_3		Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	29	Jeju_4	<i>platycarpum</i>	Jungmunng, Seogwipo, Jeju	
4	Inje_4		Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	30	Jeju_5		Yeraeng, Seogwipo, Jeju	
5	Inje_5	<i>T. ohwianum</i>	Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	31	China_1		Tieli, Heilongjiang, China	
6	Inje_6		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	32	China_2		Tieli, Heilongjiang, China	
7	Inje_7		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	33	China_3	<i>T. platycarpum</i>	Tieli, Heilongjiang, China	
8	Inje_8		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	34	China_4		Tieli, Heilongjiang, China	
9	Inje_9		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	35	China_5		Tieli, Heilongjiang, China	
10	Inje_10		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	36	China_6		Tieli, Heilongjiang, China	
11	Inje_11		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon	37	China_7		Tieli, Heilongjiang, China	
12	Geoje_1		Sodongri, Irun, Geoje, Gyeongsangnam	38	Yanggu_1		Gongri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
13	Geoje_2		Dagongri, Yeoncho, Geoje, Gyeongsangnam	39	Yanggu_2		Gongri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
14	Geoje_3		Oepori, Jangmok, Geoje, Gyeongsangnam	40	Yanggu_3		Gongri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
15	Geoje_4		Okpong, Geoje, Gyeongsangnam	41	Yanggu_4		Gongri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
16	Namhae_1		Songjeongri, Mijo, Namhae, Gyeongsangnam	42	Yanggu_5		Gongri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
17	Namhae_2		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	43	Yanggu_6		Suinri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
18	Namhae_3		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	44	Yanggu_7		Iri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
19	Namhae_4	<i>T. platycarpum</i>	Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	45	Yanggu_8	<i>T. coreanum</i>	Ungjinri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	
20	Namhae_5		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	46	Yanggu_9		Jukri, Nammyeon, Yanggu, Gangwon	
21	Namhae_6		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	47	Yanggu_10	Jukri, Nammyeon, Yanggu, Gangwon		
22	Namhae_7		Daegokri, Gohyeon, Namhae, Gyeongsangnam	48	Yanggu_11	Jukri, Nammyeon, Yanggu, Gangwon		
23	Namhae_8		Daegokri, Gohyeon, Namhae, Gyeongsangnam	49	Inje_1		Misanri, Sangnam, Inje, Gangwon	
24	Sacheon_1			Namyang, Sacheon, Gyeongsangnam	50	Inje_2		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon
25	Sacheon_2			Namyang, Sacheon, Gyeongsangnam	51	Inje_3		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon
26	Jeju_1			Jocheon, Jeju, Jeju	52	Inje_4		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon

(continued).

레 식물체의 잎을 깨끗이 씻어 액체질소에 급냉시켜 -80°C 초저온 냉동고에서 보관하였으며 이들을 genomic DNA 추출에 이용하였다.

2. DNA 추출 및 정량

-80°C에서 보관한 시료는 액체질소와 막자사발을 이용하여 분쇄하였으며, DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였고, 이를 0.8% agarose gel에서 전기영동하여 추출된 genomic DNA의 양과 질 등의 상태를 확인하였으며 농도를 NanoDrop 1000 spectrophotometer (NanoDrop, USA)를 이용하여 260 nm에서 정량하였다.

3. AFLP 분석

AFLP 분석은 AFLP Analysis System I과 AFLP Pre-Amp Primer Mix I kit (Invitrogen, USA)을 사용하여 사용자 지침에 따라 진행하였다. 250 ng의 genomic DNA에 제한효소 *EcoRI* 과 *MseI*을 처리하고 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 제한효소 처리 후 genomic DNA에 생긴 특이절편 말단에 adapter를 결합시키고 이를 1/10로 희석하여 pre-selective amplification을 진행하였다 (Table 2). PCR 증폭 조건은 94°C에서 30초, 56°C에서 1분, 72°C에서 1분을 총 20회 반복하도록 반응시켰으며, 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 결과를 확인하였다.

Selective PCR 증폭은 pre-selective amplification을 실시한

Table 1. Accessions of 104 *Taraxacum* germplasm lines used for AFLP analysis.

No	Sample name	Species	Collected region	No	Sample name	Species	Collected region
53	Geoje_1		Sanbangri, Dundook, Geoje, Gyeongsangnam	79	Geoje_1		Cujorari, Irun, Geoje, Gyeongsangnam
54	Geoje_2		Gujorari, Irun, Geoje, Gyeongsangnam	80	Geoje_2		Okpong, Geoje, Gyeongsangnam
55	Geoje_3		Okpong, Geoje, Gyeongsangnam	81	Geoje_3		Sodongri, Irun, Geoje, Gyeongsangnam
56	Geoje_4		Sodongri, Irun, Geoje, Gyeongsangnam	82	Geoje_4		Siljeonri, Hacheong, Geoje, Gyeongsangnam
57	Geoje_5		Daegokri, Hacheong, Geoje, Gyeongsangnam	83	Geoje_5		Sanbangri, Dundook, Geoje, Gyeongsangnam
58	Namhae_1		Dongdaeri, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	84	Geoje_6		Sanbangri, Dundook, Geoje, Gyeongsangnam
59	Namhae_2		Seokgyori, Nammyeon, Namhae, Gyeongsangnam	85	Namhae_1		Dongdaeri, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam
60	Namhae_3	<i>T. coreanum</i>	Yeongiiri, Samdong, Namhae, Gyeongsangnam	86	Namhae_2		Songjeongri, Mijo, Namhae, Gyeongsangnam
61	Namhae_4		Seosangri, Seomyeon, Namhae, Gyeongsangnam	87	Namhae_3		Songjeongri, Mijo, Namhae, Gyeongsangnam
62	Namhae_5		Songjeongri, Mijo, Namhae, Gyeongsangnam	88	Namhae_4		Jijokri, Samdong, Namhae, Gyeongsangnam
63	Namhae_6		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam	89	Namhae_5	<i>T. officinale</i>	Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam
64	Namhae_7		Hwagyeri, Idong, Namhae, Gyeongsangnam	90	Namhae_6		Yuldori, Changseon, Namhae, Gyeongsangnam
65	Namhae_8		Sinjeonri, Idong, Namhae, Gyeongsangnam	91	Sacheon_1		Jumunri, Yonghyeon, Sacheon, Gyeongsangnam
66	Sacheon_1		Jumunri, Yonghyeon, Sacheon, Gyeongsangnam	92	Jeju_1		Gyoraeri, Jocheon, Jeju, Jeju
67	Yanggu_1		Congri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	93	Jeju_2		Hadori, Gujwa, Jeju, Jeju
68	Yanggu_2		Congri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	94	Jeju_3		Myeongwolri, Hallim, Jeju, Jeju
69	Yanggu_3		Congri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	95	Jeju_4		Myeongwolri, Hallim, Jeju, Jeju
70	Yanggu_4		Congri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	96	Jeju_5		Myeongwolri, Hallim, Jeju, Jeju
71	Yanggu_5		Congri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	97	Jeju_6		Myeongwolri, Hallim, Jeju, Jeju
72	Yanggu_6	<i>T. officinale</i>	Ungjinri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	98	Jeju_7		Arailng, Jeju, Jeju
73	Yanggu_7		Ungjinri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	99	Jeju_8		Pyoseonri, Pyoseon, Seogwipo, Jeju
74	Yanggu_8		Iri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	100	Jeju_9		Namwonri, Namwon, Seogwipo, Jeju
75	Yanggu_9		Iri, Yanggu, Yanggu, Gangwon	101	Jeju_10		Namwonri, Namwon, Seogwipo, Jeju
76	Inje_1		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon	102	Jeju_11		Namwonri, Namwon, Seogwipo, Jeju
77	Inje_2		Hyeonri, Girin, Inje, Gangwon	103	Jeju_12		Yeraeng, Seogwipo, Jeju
78	Inje_3		Sangnamri, Sangnam, Inje, Gangwon	104	Jeju_13		Hwasunri, Andeok, Seogwipo, Jeju

반응액을 1/10로 희석하여 2 μ l를 주형 DNA로 사용하였으며, 2.5 μ M의 *Mse*I primer, 1 μ M의 *Eco*RI primer, 10 \times buffer, 8 mM의 dNTP 그리고 0.65 U의 TaKaRa Ex Taq (TaKaRa, Japan)이 포함된 10 μ l의 반응액에서 실시하였다. PCR 증폭 조건은 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 65 $^{\circ}$ C에서 30초 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 2분을 12회 반복하도록 반응시켰으며, annealing 온도는 1회 반복할 때마다 0.7 $^{\circ}$ C씩 낮아지도록 touch down PCR을 수행하였다. Touch down PCR 후에는 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 56 $^{\circ}$ C에서 30초 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 2분의 반응조건을 30회 반복하여 반응시켰다. 총 6조합의 *Eco*RI (+3) 과 *Mse*I (+3) primer를 이용하여 selective

PCR 증폭을 수행하였으며, *Eco*RI primer는 6-FAM과 VIC 형광 dye가 결합된 것을 사용하였다 (Table 2). Selective PCR된 시료들은 36 cm capillary가 장착된 ABI3130 XL (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 전기영동을 하였다.

4. Data 분석

Capillary electrophoresis system을 이용하여 나온 AFLP 마커에 대한 각 시료들의 DNA 정보는 Gene Mapper (Applied Biosystems, USA) 프로그램을 이용하여 DNA fingerprinting profile을 분석하였다. 각 시료의 DNA 절편의

Table 2. List of preselective and selective primer sequences used for AFLP analysis.

Step	Primer name	Sequence (5' → 3')
Pre-selective PCR	Msel-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

Table 3. Summary of results for PCR amplicons generated by AFLP analysis using six combinations of selective primer pairs in 104 *Taraxacum* germplasm lines.

Primer pair	TP [†]	MP [‡]	PP [§]	PR [¶]
M-CAA/E-ACG	208	123	85	40.9
M-CAA/E-ACC	174	124	50	28.7
M-CAA/E-AGC	173	106	67	38.7
M-CAA/E-ACT	204	105	99	48.5
M-CAA/E-AGG	194	92	102	52.6
M-CAA/E-AAG	223	103	120	53.8
Total	1,176	653	523	-
Mean	196	109	87	44.4

[†] TP; Number of total peaks, [‡] MP; Number of monomorphic peaks, [§] PP; Number of polymorphic peaks, [¶] PR; Polymorphism rate (%).

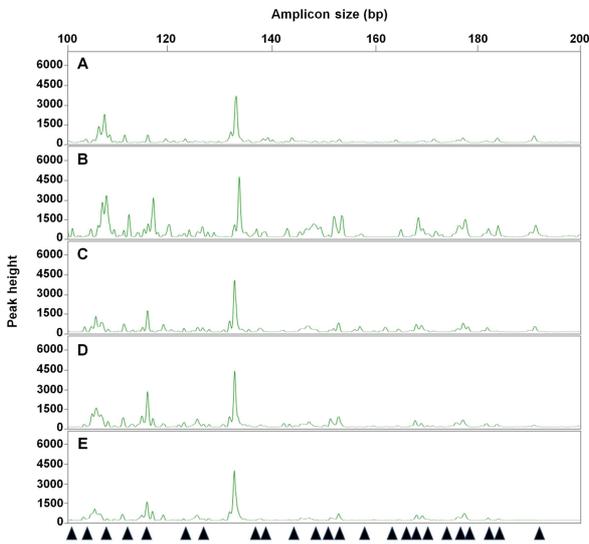


Fig. 2. AFLP patterns of 5 representative *Taraxacum* species analyzed M-CAA/E-AAG primer combination and capillary electrophoresis system. (A); *T. ohwianum* (Inje_6), (B); *T. platycarpum* (Jeju_3), (C); *T. platyepidum* (China_3), (D); *T. coreanum* (Geoje_3), (E); *T. officinale* (Jeju_4). The black triangles indicate polymorphic peak.

증폭여부는 전체 시료의 PCR 증폭 산물에서 noise peak를 제외하고 명확하게 PCR 증폭된 peak들만 분석에 이용하기 위해 형광 값 150을 기준으로 band의 유·무를 1 (유) 또는 0 (무)으로 점수를 부여하였으며, 유전적 유연관계와 주성분 분석은 NTSYSp version 2.2 (Exeter Software, USA) 프로그램의 비가중산술평균 (UPGMA, Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)과 Mini tab 16 (Minitab Inc., USA) 프로그램의 다변량 주성분 분석법을 각각 이용하여 작성하였다.

결과 및 고찰

1. 다형성 분석

국내·외 다양한 자생지에서 수집된 민들레 유전자원 5종

104점을 대상으로 AFLP 분석을 한 결과, 6쌍의 primer 조합에서 1,176개의 total peak가 확인되었고 그 중에서 523개가 polymorphic peak였다. Primer 조합당 평균 total peak 개수는 196개였으며, polymorphic peak는 평균 87개가 확인되었다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 M-CAA/E-AAG primer 조합의 AFLP 지문분석 패턴을 분석한 결과, 주로 peak가 분포한 범위는 100-200 bp였다. 전체 6쌍의 primer조합 가운데 M-CAA/E-AAG에서 가장 많은 223개의 total peak와 120개의 polymorphic peak가 확인되었으며, M-CAA/E-AGC에서 가장 적은 173개의 total peak와 67개의 polymorphic peak가 확인되었다 (Table 3). Polymorphism은 M-CAA/E-AAG에서 53.8%로 최대값을 보였고, 그 다음으로 M-CAA/E-AGG에서 52.6%의 높은 값을 보여 이들 두 조합이 민들레 유전자원들을 분류하는데 이용성이 높을 것이라 판단되며, M-CAA/E-ACC가 28.7%로서 가장 적은 polymorphism을 보였다. 6쌍의 primer 조합 전체의 polymorphism은 44.4%였는데, 이는 AFLP를 이용하여 민들레 서식지 3곳에서 채집한 189개체로부터 83%의 polymorphism을 얻은 결과 (Van Der Hulst *et al.*, 2000)와 Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)을 이용한 국내 서식하는 흰민들레와 서양민들레 2종의 수집유전자원 30점에서 96%의 polymorphism을 보였다는 이전의 보고 (Ryu and Bae, 2011) 그리고 연 (*Nelumbo mucifera* Gaertn.) 32계통을 대상으로 10개의 primer를 사용하였을 때 91.2%의 polymorphism을 보인 것 (Ryu *et al.*, 2010)과는 차이를 보였다. 반면 마늘 20품종을 대상으로 한 AFLP primer 3조합에서 43%의 polymorphism 결과와 (Morales *et al.*, 2013) 배추 종속간 유연관계 분석에서 배추와 순무간 7.8%, 배추와 무간 22.9%의 낮은 polymorphism을 보이는 결과도 보고되었는데 (Kwon *et al.*, 2007), 이러한 차이는 유연관계 분석에 이용한 마커종류와 식물종 차이에 따른 유전적 특성 때문이라고 사료된다.

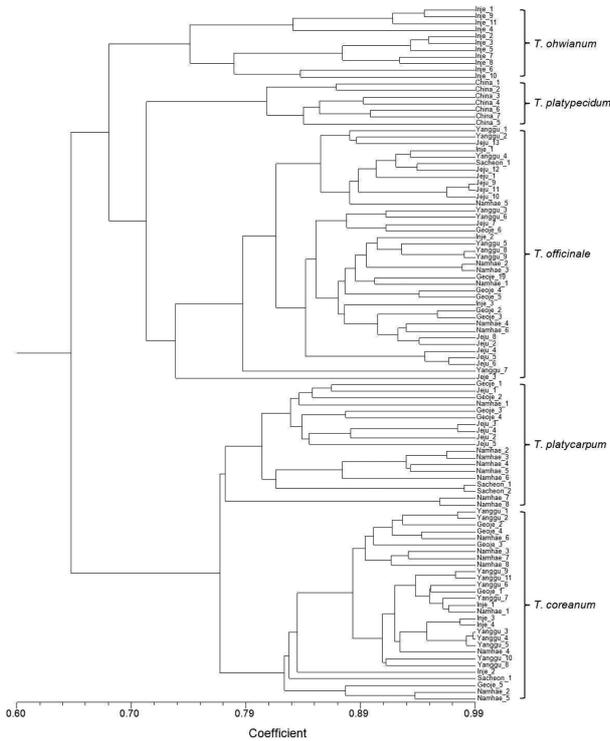


Fig. 3. Dendrogram of 104 *Taraxacum* accessions based on AFLP genome fingerprinting and UPGMA clustering analysis.

2. 유연관계 및 주성분분석

AFLP 분석을 통해 얻어진 523개의 다형성 peak들은 NTSYSpc program의 비가중 산술평균 분석 (UPGMA)을 이용하여 유사도 (similarity coefficient)를 확인한 결과, 그 범위는 0.64에서 0.99에 걸쳐 나타났다 (Fig. 3). 유사도 0.64를 기준으로 2개의 큰 group이 나뉘었는데 산민들레, 흰털민들레, 서양민들레가 group I에 속하였고 민들레와 흰민들레가 group II에 속하였다. 민들레 중 내에서의 유사도는 흰민들레가 0.82 값으로 가장 높았으며 그 다음으로 흰털민들레 0.81, 민들레 0.77, 산민들레 0.75 그리고 서양민들레 0.74 순으로 유전적 다양성을 보였다.

산지의 약간 습기가 있는 곳에서 자라는 습성이 있는 산민들레 (Lee, 1993)는 강원도 인제군 일대에서 수집한 시료만 분석하였는데 중국에 서식하는 흰털민들레, 유럽 원산으로 국내에 유입되어 토착·서식하는 서양민들레와 함께 group I에 속하였다. Ahn 등 (2003)은 민들레속 6종의 수집유전자원 9점을 이용하여 종간 형태적 특성을 분석한 결과 총포외편의 돌기가 민들레와 흰민들레에서만 나타나고 나머지 서양민들레와 산민들레 등에서는 나타나지 않음을 보고하였는데, 이것은 산민들레가 국내종임에도 불구하고 민들레와 흰민들레의 토종과는 형태 및 유전학적으로 차이가 있음을 보여준다. 흰털민들레는 중국 흑룡강성 철력시 일대에서 수집하였으며 분석에 이

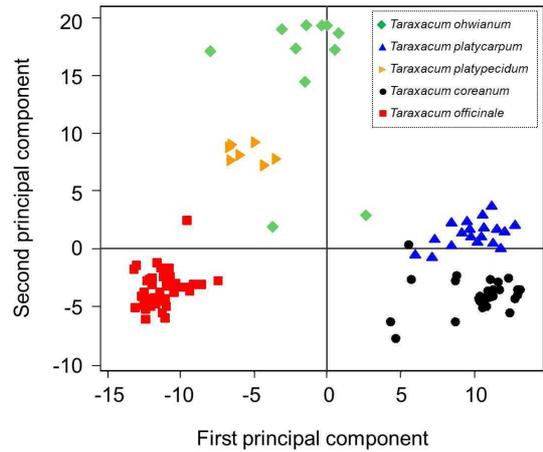


Fig. 4. The scatter plot of 104 *Taraxacum* accessions based on AFLP genome fingerprinting and PCA analysis.

용한 다른 민들레 4종에 비해 비교적 높은 유사도를 보였다. 서양민들레는 강원도, 경상남도 및 제주도 등지에서 채집하였고 유사도 0.81에서 2개의 sub-group을 형성하였다. 경상남도 남해군과 거제시에서 채집한 시료들은 유집되어 sub-group을 이뤘으나 강원도와 제주도에서 채집한 시료에서는 지역별 유집이 이뤄지진 않았다. 서양민들레에서 유전적 다양성이 높게 나타나는 것은 경쟁적인 환경조건에서의 적응력과 번식력이 다른 민들레 종들과 비교하여 월등하게 우월한 것과 관련이 있는 것으로 보여진다 (Ryu and Bae, 2011; Yang, 1995). 즉, 한 종류의 식물이 군락을 이루는 서식지에 외래 식물이 침입하여 세력 확장을 하기 위한 요소로 종자의 생산량과 분산력이 중요한 요소로 작용하는데 (Baker, 1974), 외래종인 서양민들레는 국내종보다 종자생산량과 분산력 그리고 번식적응도 등이 월등히 우수하여 생태적인 경쟁에서 우점하고 있는 것으로 판단된다 (Ahn *et al.*, 2003; Kang and Choi, 1998; Lee *et al.*, 2007).

Group II에는 국내 재래종인 민들레와 흰민들레가 포함되었다. 민들레는 경상남도와 제주도 일대에서 수집하였고 유사도 0.81에서 2개의 sub-group을 형성하였다. 민들레 sub-group I에는 경상남도 남해군과 사천시에서 수집한 시료들이 포함되었고, 민들레 sub-group II에는 제주도와 경상남도 거제시에서 수집한 것들이 유집을 이루었다. 흰민들레는 강원도와 경상남도 일대에서만 채집할 수 있었으며, 채집지역에 따라서 명확한 유집을 형성하지 못하였으나 유사도 0.88에서 2개의 sub-group으로 나누어짐을 확인하였다. 흰민들레 sub-group I에는 주로 경상남도 남해군과 거제시의 채집시료들이 포함되었고, 흰민들레 sub-group II에는 주로 강원도 양구군과 인제군의 채집시료가 포함되었다. Ahn 등 (2003)은 국내에 서식하는 민들레 6종을 대상으로 RAPD를 이용한 유연관계 분석에서 52%의 유사도를 기점으로 국내재래종 4점과 외래종 2점이 명확히

구분된다고 보고하였으며, Ryu과 Bae (2012)는 민들레 5종의 ISSR 분석을 통해 유사도 0.108 값에서 국내재래종 3점과 외래종 2점이 나뉘었다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다.

주성분분석을 통해 얻어진 민들레 5종 104점의 이차원상에서 분포도 분석결과는 first principal component '0'을 기준으로 산민들레가 분포하며 음의 값에는 국외종인 서양민들레와 흰털민들레가 분포하며 양의 값에는 국내종인 민들레와 흰민들레가 분포하는 등 민들레 5종이 중간 군집을 형성하는 것을 보여준다 (Fig. 4).

AFLP 분석을 통해 얻어진 유연관계와 주성분분석 결과를 종합하면 5종의 민들레 모두 유전 유사도에서 종별 구분이 이뤄졌음을 확인하였다. 또한 국내종인 민들레와 흰민들레 두 종간의 유전 유사도가 높아 하나의 그룹을 형성하였으며, 국외종인 서양민들레와 중국 수집종 흰털민들레 그리고 국내종이지만 형태적으로 토종 민들레와 차이가 있는 산민들레가 종간의 유전 유사도를 넓게 분포하며 하나의 그룹을 형성함을 확인하였다. 따라서 본 연구결과는 민들레 수집 유전자원들 간의 유전다양성 분석을 통해 민들레 품종육성을 위한 기초자료 및 종 판별 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 수행된 연구결과이며, 기원식물 수집과 분류동정에 도움을 주신 분류·동정 자문위원들께 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Ahn YH, Park DS and Chung KH.** (2003). Analysis of genetic relationship among native *Taraxacum* and naturalized *Taraxacum* species using RAPD. Korean Journal of Environment and Ecology. 17:169-176.
- Baker HG.** (1974). The evolution of weeds. Annual Review of Ecology and Systematics. 5:1-24.
- Bretting PK and Widrechner MP.** (1995). Genetic markers and horticultural germplasm management. Hort Science. 30:1349-1356.
- Chan GY and Kim HJ.** (2011). Antimicrobial effects of extracts of *Taraxacum officinale* H. on Acnes strains. International Journal of Complementary, Integrative and Alternative Medicine. 7:3-16.
- Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School.** (2005). Herbology(Boncho-hak). Younglimsa. Seoul, Korea. p.245-247.
- Im DY and Lee KI.** (2011). Nitric oxide production inhibitory and scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity of extracts from *Taraxacum officinale* and *Taraxacum coreanum*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:362-367.
- Kang HS and Choi YM.** (1998). Seasonal variation of reproductive characters in two introduced species of *Taraxacum*. Journal of Ecology and Field Biology. 21:475-486.
- Kang MJ, Seo YH, Kim JB, Shin SR and Kim KS.** (2000). The chemical composition of *Taraxacum officinale* consumed in Korea. Korean Journal of Food and Cookery Science. 16:182-187.
- 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 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.
- Kisiel W and Barszcz B.** (2000). Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. Fitoterapia. 71:269 - 273.
- Korea Food and Drug Administration(KFDA).** (2012). The Korean herbal pharmacopoeia. Korea Food and Drug Administration. Cheongwon, Korea. p.366-367.
- Kwon SJ, Lim KB, Lim MH, Park JY, Kim JA, Kim JS, Lee SS, Park BS and Jin YM.** (2007). Molecular genetics of *Brassicaceae* based on AFLP display. Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 25:75-81.
- Lee HH, Kim YS and Park HY.** (2007). Plant regeneration via organogenesis from leaf explant culture of *Taraxacum coreanum* Nakai. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 15:62-66.
- Lee HH and Lee SY.** (2008). Cytotoxic and antioxidant effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. and *T. officinale* WEB. extracts. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:79-85.
- Lee MH, Song SH, Ham IH, Bu YM, Kim HC and Choi HY.** (2010). Anti-inflammatory effect and contents from the aerial part and root of the various *Taraxacum* spp. distributed in Korea. Korean Journal of Herbology. 25:77-84.
- Lee TB.** (1993). Illustrated flora of Korea. Hyangmunsa Publishing Co. Seoul, Korea. p.783-784.
- Leu YL, Wang YL, Huang SC and Shi LS.** (2005) Chemical constituents from roots of *Taraxacum formosanum*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 53:853-855.
- Modaresi M and Resalatpour N.** (2012). The effect of *Taraxacum officinale* hydroalcoholic extract on blood cells in mice. Advances in Hematology. 2012:1-4.
- Morales RG, Resende JT, Resende FV, Delatorre CA, Figueiredo AS and Da-Silva PR.** (2013). Genetic divergence among Brazilian garlic cultivars based on morphological characters and AFLP markers. Genetics and Molecular Research. 12:270-281.
- Park SJ, Shin YH, Hwang SG, Lee YS, Lee JK and Jang CS.** (2012). Genetic diversity and relationship of rice accessions using AFLP analysis. Journal of Agricultural, Life and Environmental Sciences. 24:1-6.
- Richards AJ.** (1973). The origin of *Taraxacum* agamospecies. Botanical Journal of the Linnean Society. 66:189-211.
- Ryu JH and Bae CH.** (2011). Genetic diversity and relationship analysis of *Taraxacum officinale* Weber and *Taraxacum coreanum* Nakai accessions based on inter-simple sequence repeats(ISSR) markers. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:149-156.

- Ryu JH and Bae CH.** (2012). Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea. Korean Journal of Plant Resources. 25:329-338.
- Ryu JH, Choi GL, Lyu JI, Lee SC, Chun JU, Shin DY and Bae CH.** (2010). Genetic relationship analysis of genus *Nelumbo* accessions based on inter-simple sequence repeats (ISSR). Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:86-92.
- Ryu JH, Seo KS, Kuk YI, Moon JH, Ma KH, Choi SK, Rha ES, Lee SC and Bae CH.** (2012). Effects of LED(light-emitting diode) treatment on antioxidant activities and functional components in *Taraxacum officinale*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:165-170.
- Shin SR.** (1999). Studies on the nutritional components of dandelion(*Taraxacum officinale*). Korean Journal of Postharvest Science and Technology. 6:495-499.
- Van Der Hulst RGM, Mes THM, Den Nijs JCM and Bachmann K.** (2000). Amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers reveal that population structure of triploid dandelions(*Taraxacum officinale*) exhibits both clonality and recombination. Molecular Ecology. 9:1-8.
- 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.
- Yang HS.** (1995). Studies of environmental responses in interspecific competition of ecotypes of *Taraxacum officinale*. Korean Journal of Environmental Biology. 13:107-120.
- Zhang X, Xiong H and Liu L.** (2012). Effects of taraxasterol on inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. Journal of Ethnopharmacology. 141:206-211.